

IZVEŠTAJ O OCENI ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

I PODACI O KOMISIJI:

1. Datum i naziv organa koji je imenovao komisiju:

29. jun 2016. godine, 169. sednica Nastavno-naučnog veća Fakulteta veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

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

- prof. dr Miloš Pavlović, vanredni profesor, Porodiljstvo, sterilitet i v.o., 2010. godina, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
- prof. dr Danijela Kirovski, vanredni profesor, Fiziologija, 2011. godina, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
- doc. dr Ivan Vujanac, docent, Bolesti papkara, 2012. godina, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
- doc. dr Vladimir Magaš, docent, Porodiljstvo, sterilitet i v.o., 2013. godina, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
- prof. dr Mirjana Šumarac Dumanović, redovni profesor, Endokrinologija, 2015. godina, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

II PODACI O KANDIDATU:

1. Ime, ime jednog roditelja, prezime:

Miloje Miomir Đurić

2. Datum rođenja, opština, Republika:

02.02.1980., Bihać, Bosna i Hercegovina

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

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

III NASLOV DOKTORSKE DISERTACIJE: Uporedni prikaz metaboličkih, endokrinih i reproduktivnih parametara visokomlečnih i autohtonih rasa krava

IV PREGLED DOKTORSKE DISERTACIJE (navesti broja strana poglavlja, slika, šema, grafikona i sl.): Doktorska disertacija kandidata Miloja Đurića napisana je na 114 strana i sadrži sledeća poglavlja: Uvod (3 strane), Pregled literature (27 strana), Cilj i zadaci istraživanja (1 strana), Materijal i metode rada (9 strana), Rezultati istraživanja (49 strana), Diskusija (11 strana), Zaključci (1 strana), Literatura (10 strana). Poslednje 3 strane su biografija i izjave. U disertaciji se nalazi 36 tabela (1 tabela u poglavlju Materijal i metode i 35 tabela u poglavlju Rezultati), i 2 slike (2 slike u poglavlju Materijal i metode). Sadržaj disertacije, zahvalnica i kratak sadržaj na srpskom i engleskom jeziku nalazi se u prvim 3 strane disertacije.

V VREDNOVANJE POJEDINIH DELOVA DOKTORSKE DISERTACIJE (dati kratak opis svakog poglavlja disertacije: uvoda, pregleda literature, cilja i zadataka istraživanja, materijala i metoda, rezultata, diskusije, spiska referenci):

U Uvodu kandidat navodi da je selekcija na visoku proizvodnju mleka dovela do sve učestalije pojave metaboličkih, endokrinih i reproduktivnih oboljenja kod visokomlečnih rasa krava. Dodatno se naglašava da je peripartalni period (period od 3 nedelje pre do 3 nedelje posle teljenja) najkritičniji u proizvodno-reproduktivnom ciklusu jedinki, zbog smanjene sposobnosti organizma da održi metaboličku ravnotežu. Često se metabolički disbalans ne

manifestuje kroz kliničke poremećaje, već jedino kroz smanjenu proizvodnju mleka tokom laktacije i poremećaje u reprodukciji. Međutim, i pored značajnog broj radova u kojima se dokazuje smanjeni reproduktivni potencijal visokomlečnih krava kod kojih je narušen metabolički i endokrini status, biološki mehanizam koji povezuje proizvodnu sposobnost krava i njen eventualni uticaj na plodnost još nije utvrđen. U skladu sa tim veliki je broj naučnih radova skorijeg datuma u kojima se ispituje korelacija između mlečnosti krava i učestalosti pojave reproduktivnih postpartalnih poremećaja. U uvodu se takođe navodi da, za razliku od visokomlečnih rasa, mali je broj radova u kojima se ispituje korelacija između proizvodnih i reproduktivnih sposobnosti, kao i biološki mehanizmi koji ih povezuju. Utvrđivanjem ovih mehanizama kod dve rase koje imaju različitu genetsku predispoziciju za proizvodnju mleka, moguće je, na osnovu njihove razlike, utvrditi one mehanizme koji su promenjeni sa selekcijom na visoku proizvodnju mleka.

Pregled literature je podeljen u sedam podpoglavlja. U prvom podpoglavlju kandidat opisuje specifičnosti energetskog i mineralnog metabolizma krava u peripartalnom periodu, posebno naglašavajući razlike između niskoproizvodnih i visokoproizvodnih rasa krava. U drugom podpoglavlju kandidat ukazuje na značaj pojedinih biohemijskih parametara krvi u proceni metaboličkog statusa, sa posebnim osvrtom na značaj glukoze, neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA), betahidroksibuterne kiseline (BHBA), uree i telesne kondicije. Prikazom podataka iz literature, navodi opseg graničnih vrednosti pojedinih parametara u okviru kojih se ostvaruje optimalna proizvodnja uz optimalnu reproduktivnu aktivnost kako kod krava rase holštajn, tako i kod krava rase buša. U trećem podpoglavlju kandidat opisuje uticaj endokrinog sistema na metabolički status krava. U četvrtom podpoglavlju opisuje reproduktivni status krava, polni ciklus, sezonalnost ciklusa, početak puberteta i rast i razvoj folikula, sa posebnim osvrtom na razlike koje se javljaju između rasa krava različitih proizvodnih sposobnosti. U petom podpoglavlju kandidat opisuje neurohormonalnu regulaciju polnog ciklusa, dok u šestom i sedmom podpoglavlju opisuje do sada poznate biološke mehanizme koji povezuju metaboličku aktivnost jedinke i njen reproduktivni status. U okviru ovih podpoglavlja, kandidat kroz prikaz podataka iz literature jasno ukazuje na nedostatak podataka koji se odnose na one biološke mehanizme koji u uslovima visoke proizvodnje mleka menjaju reproduktivnu aktivnost krava. S obzirom na prikaz velikog broja radova u kojima se porede biološki mehanizmi različitih rasa, kandidat smatra da će u okviru ove disertacije komparativnim prikazom metaboličkog i reproduktivnog statusa dve rase krava koje se razlikuju po proizvodnji mleka i reproduktivnoj aktivnosti doći do objašnjenja toga koji su to biološki mehanizmi koji kod visokoproizvodnih životinja narušavaju reproduktivnu aktivnost u uslovima visoke proizvodnje mleka.

Cilj istraživanja u okviru ove doktorske disertacije bio je da se, ispitivanjem mehanizama koji povezuju metaboličke procese i reproduktivnu aktivnost krava dve rase različitog genetskog potencijala u odnosu na proizvodnju mleka, utvrde adaptivne promene u metabolizmu koje su dovele do visoke proizvodnje mleka, a mogle su imati negativan uticaj na reproduktivnu aktivnost životinja. Da bi se ispunio zadati cilj postavljeni su sledeći **zadaci**: (1) odrediti koncentracije metaboličkih parametara u krvi dve rase goveda. (2) odrediti koncentracije hormona značajnih za kontrolu metaboličkih i reproduktivnih parametara. (3) utvrditi reproduktivni status dve rase goveda. (4) odrediti stepen korelacije između metaboličkih, endokrinih i reproduktivnih karakteristika dve rase krava. (5) analizirati razliku u metaboličkom i reproduktivnom statusu kojima bi se mogli objasniti adaptivni mehanizmi koji dovode do visoke mlečnosti, a imaju posledice na reproduktivni status.

Materijal i metode rada su detaljno opisani u posebnom poglavlju. Za ispitivanje je odabrano 8 krava visokomlečne holštajn rase i 8 krava niskomlečne autohtone rase buša. Sve krave u ogledu su bile uzrasta 4. do 6 godina i odabrane su za ispitivanja kada su bile u poslednjoj fazi graviditeta. Krave rase holštajn držane su na farmama komercijalno-industrijskog tipa, dok su krave rase buša držane u ekstenzivnom uzgoju na paši po sistemu majka-tele. Sastav i količina obroka kojima su životinje hranjene bio je usklađen sa potrebama za datu proizvodno reproduktivnu fazu kod krava holštajn rase, a kod krava rase buša u skladu sa mogućnostima ekstenzivnog držanja u periodu zima-proleće kada je ogled vršen. Od svih jedinki u ogledu uzorci krvi su uzimani punkcijom jugularne vene 10 do 14 dana pre teljenja, kao i 14., 30. i 50. dana nakon teljenja. Uzorci su uzimani u sterilne epruvete bez antikoagulansa. Nakon uzimanja, uzorci krvi su ostavljani tokom 30 minuta da bi se izvršila spontana koagulacija, a zatim centrifugirani na 3000 obrtaja u minuti tokom 10 minuta. Izdvojeni uzorci krvnog seruma su zamrzavani na -20°C do izvođenja analiza. U uzorcima krvnog seruma određivana je koncentracija glukoze, beta-hidroksi buterne kiseline

(BHBA-Beta hydroxy butiric acid), neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA-Non esterified fatty acid), ukupnih proteina, albumina, uree, ukupnog bilirubina, kalcijuma, fosfora, magnezijuma, holesterola, triglicerida, aktivnost aspartat aminotransferaze (AST-Aspartate aminotransferase) i gama glutamil transferaze (GGT-Gamma glytamil transferase). Koncentracije glukoze i BHBA su takođe određivane u punoj krvi odmah nakon uzimanja, na aparatu „Precision Xceed“ (Abbott, SAD), upotrebom komercijalno dostupnih traka istog proizvođača. U uzorcima krvnog seruma su određivane i koncentracije insulina, trijodtironina (T_3) i tiroksina (T_4), estradiola i insulinu sličnog faktora rasta I (IGF I-Insulin like growth factor I). Određena je i relativna zastupljenost IGF vezujućih proteina (IGFBP-2 i IGFBP-3) imunoblot metodom, pri čemu je relativni intenzitet zatamnjenja traka na očekivanim pozicijama za IGF vezujuće proteine izražen u ADU (Arbitrary Densitometric Units).

Kod svih krava u ogledu su, radi ispitivanja insulinske rezistencije, vršeni testovi intravenskog opterećenja glukozom (IVGTT-Intravenous glucose tolerance test) i to antepartalno (10 do 14 dana pre teljenja) i postpartalno (14 dana posle teljenja). Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeni su parametri kinetike glukoze: bazalna koncentracija glukoze (T_0), stopa smanjenja glukoze (K), poluvreme eliminacije glukoze ($T_{1/2}$) i površina ispod krive glukoze (AUC_{glu}), kao i parametri kinetike insulina: bazalna koncentracija insulina (T_0), najviša koncentracija insulina (Ins_{peak}), porast insulina (ΔMAX_{ins}) i površina ispod krive insulina (AUC_{ins}). Pored toga, primenom odgovarajućih matematičkih formula, izračunati su pokazatelji insulinske rezistencije: RQUICKI (Revised Quantitative Insulin Sensitivity Check Index), QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index) i HOMA (Homeostasis Model Assessment). Niža vrednost RQUICKI i QUICKI, kao i viša vrednost HOMA ukazuje na sklonost krava ka insulinskoj rezistenciji.

Uzorci tkiva jetre, mišićnog i masnog tkiva uzeti su perkutanom biopsijom 14 do 10 dana pre kao i 14 dana nakon teljenja. U svim uzorcima tkiva određivana je zastupljenost insulinskih receptora, dok je u uzorcima mišićnog i masnog tkiva određivana i zastupljenost transportnih proteina za glukozu (GLUT-4). Nivo ekspresije proteina insulinskih receptora i GLUT-4 molekula određivan je u ukupnim ćelijskim lizatima, metodom SDS-elektroforeze na poliakrilamidnom gelu (SDS polyacrylamide gel electrophoresis) i Western blot metodom.

Procena reproduktivne aktivnosti vršena je observacijom spoljašnjih genitalnih organa (adspekcija *labia vulvae*, pregled sluzokoža *vestibulum-a* i *vagina propriae* golim okom i pomoću vaginoskopa), transrektalnom palpacijom i ultrasonografskim pregledom materice i jajnika portabl ultrazvučnim aparatom (*pie medical*), sa multifrekventnom endorektalnom sondom frekvenci od 5 do 7 MHz, 30. dana nakon teljenja. Observacijom i vaginoskopskim pregledom utvrđivano je prisustvo povreda i iscetka u području vulve i vagine. Ultrazvučnim pregledom materice pratila se dužina i debljina materičnih rogova i prisustvo sadržaja u lumenu materice, dok se ultrazvučnim pregledom jajnika pratila veličina i aktivnost jajnika. Parametri reproduktivnog statusa krava u postpartalnom periodu su opisivani po kriterijumima predloženim od strane *Sumiyoishi* i saradnika (2014), što znači da su uočeni simptomi po regionima reproduktivnog trakta (vulva i vagina, materica i jajnici) bodovani od 0 do 2, pri čemu je viša dobijena vrednost ukazivala na optimalniji reproduktivni status jedinke.

Informacije o rezultatima istraživanja date su tabelarno preko osnovnih pokazatelja deskriptivne statistike: aritmetičke sredine, medijane, ekstremnih vrednosti, interkvartilne razlike i koeficijenta varijacije. S obzirom da su posmatrana obeležja u većini uzoraka bila distribuirana po modelu normalne raspodele, testiranje razlika prosečnih vrednosti sprovedeno je parametrijskim t testom. Za statističku obradu podataka korišćen je paket Statistica v. 6. i paket SPSS v. 16.

Rezultati su prikazani odvojeno za pojedine biohemijske parametre, hormone krvi, testove opterećenja i reproduktivne pokazatelje.

Koncentracija BHBA je u krvi krava holštajn rase bila značajno viša nego u krvi rase buša 30. dana ($0,86 \pm 0,11$ mmol/l i $0,56 \pm 0,04$ mmol/l, $p < 0,05$), dok je 50. dana posle teljenja bila značajno niža ($p < 0,05$) u krvi krava rase holštajn ($0,52 \pm 0,05$ mmol/l) u odnosu na vrednost kod krava rase buša ($0,76 \pm 0,08$ mmol/l). Nije bilo značajne razlike u koncentraciji BHBA između dve grupe 14. dana posle ($1,14 \pm 0,15$ mmol/l kod krava rase holštajn i $0,82 \pm 0,08$ mmol/l kod krava rase buša) i 14. do 10. dana pre teljenja ($0,85 \pm 0,09$ mmol/l kod krava rase holštajn i $0,63 \pm 0,07$ mmol/l kod krava rase buša), iako je kod holštajn krava koncentracija bila numerički veća.

Koncentracija ukupnog bilirubina u krvi krava rase holštajn bila je značajno niža nego u krvi krava rase buša i to 30. dana ($6,02 \pm 0,41$ μ mol/l i $9,58 \pm 0,75$ μ mol/l, $p < 0,001$) i 50. dana posle teljenja ($6,23 \pm 0,43$ μ mol/l i $8,34 \pm 0,21$ μ mol/l, $p < 0,001$), dok je 14. dana posle teljenja

bila značajno viša ($p<0,01$) u krvi krava rase holštajn ($6,87\pm0,26 \mu\text{mol/l}$) u odnosu na krave rase buša ($5,81\pm0,07 \mu\text{mol/l}$). Nije bilo značajne razlike u vrednosti ukupnog bilirubina između krava rase holštajn ($5,18\pm0,19 \mu\text{mol/l}$) i buša ($5,16\pm0,18 \mu\text{mol/l}$) 14. do 10. dana pre teljenja.

Koncentracija proteina u krvi krava rase holštajn bila je značajno viša nego u krvi krava rase buša 14. dana pre teljenja ($80,92\pm1,82 \text{ g/l}$ i $75,12\pm1,42 \text{ g/l}$, $p<0,05$), 14. dana posle teljenja ($84,51\pm2,02 \text{ g/l}$ i $79,24\pm1,39 \text{ g/l}$, $p<0,05$) i 30. dana postpartalno ($92,43\pm4,72 \text{ g/l}$ i $80,65\pm1,39 \text{ g/l}$, $p<0,01$), a značajno manja nego u krvi krava rase buša 50. dana posle teljenja ($83,99\pm6,15 \text{ g/l}$ i $93,70\pm1,38 \text{ g/l}$, $p<0,001$).

Koncentracija albumina u krvi krava rase holštajn bila je značajno niža nego u krvi krava rase buša 14. do 10. dana prepartalno ($26,05\pm1,11 \text{ g/l}$ i $30,81\pm0,86 \text{ g/l}$, $p<0,01$), 14. dana posle teljenja ($29,17\pm0,78 \text{ g/l}$ i $34,49\pm0,87 \text{ g/l}$, $p<0,001$) i 30. dana postpartalno ($30,17\pm1,42 \text{ g/l}$ i $38,39\pm0,61 \text{ g/l}$, $p<0,001$), dok 50. dana posle teljenja nije bilo značajne razlike u albuminemiji između dve rase krava ($35,52\pm0,95 \text{ g/l}$ kod holštajn i $37,83\pm0,75 \text{ g/l}$ kod krava rase buša).

Koncentracija uree u krvi krava rase holštajn bila je značajno viša nego u krvi krava rase buša 30. dana posle teljenja ($6,06\pm0,35 \text{ mmol/l}$ i $4,91\pm0,32 \text{ mmol/l}$, $p<0,05$) i 50. dana postpartalno ($7,06\pm0,46 \text{ mmol/l}$ i $5,36\pm0,21 \text{ mmol/l}$, $p<0,01$). U ostalim periodima ispitivanja, nije utvrđena značajna razlika u uremiji između dve rase krava ($5,63\pm0,55 \text{ mmol/l}$ kod holštajn rase i $5,67\pm0,35 \text{ mmol/l}$ kod buša rase 14. dana posle teljenja i $4,96\pm0,45 \text{ mmol/l}$ kod holštajn, odnosno $4,99\pm0,55 \text{ mmol/l}$ kod buša rase 14. dana pre teljenja).

Koncentracija kalcijuma u krvi krava rase holštajn bila je značajno niža nego u krvi krava rase buša 14. dana postpartalno ($2,20\pm0,02 \text{ mmol/l}$ i $2,43\pm0,06 \text{ mmol/l}$, $p<0,05$) i 50. dana posle teljenja ($2,30\pm0,03 \text{ mmol/l}$ i $2,60\pm0,11 \text{ mmol/l}$, $p<0,05$). U ostalim periodima ispitivanja 10. do 14. dana prepartalno ($2,48\pm0,06 \text{ mmol/l}$ kod holštajn i $2,59\pm0,08 \text{ mmol/l}$ kod buša rase) i 30. dana postpartalno ($2,26\pm0,03 \text{ mmol/l}$ kod holštajn i $2,37\pm0,07 \text{ mmol/l}$ kod buša rase) nije utvrđena značajna razlika u kalcemiji između dve rase krava.

Koncentracija fosfora u krvi krava rase holštajn bila je značajno viša nego u krvi krava rase buša 10. do 14. dana prepartalno ($2,31\pm0,08 \text{ mmol/l}$ kod holštajn i $1,65\pm0,08 \text{ mmol/l}$ kod buša rase, $p<0,001$), kao i 30. dana postpartalno ($1,48\pm0,12 \text{ mmol/l}$ kod holštajn i $1,11\pm0,06 \text{ mmol/l}$ kod buša rase, $p<0,05$) i 50. dana postpartalno ($1,74\pm0,09 \text{ mmol/l}$ kod holštajn i $1,17\pm0,05 \text{ mmol/l}$ kod buša rase, $p<0,001$), dok 14 dana posle teljenja nije utvrđena značajna razlika u fosfatemiji između dve rase krava ($1,59\pm0,11 \text{ mmol/l}$ kod holštajn i $1,39\pm0,09 \text{ mmol/l}$ kod buša rase).

Koncentracija magnezijuma bila je značajno viša u krvi krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša 30. dana posle teljenja ($1,02\pm0,02 \text{ mmol/l}$ i $0,84\pm0,04 \text{ mmol/l}$, $p<0,001$), a značajno niža 50. dana nakon teljenja ($1,09\pm0,02 \text{ mmol/l}$ i $1,24\pm0,04 \text{ mmol/l}$, $p<0,01$). U periodima ispitivanja urađenim 14. dana pre ($1,43\pm0,08 \text{ mmol/l}$ kod holštajn i $1,25\pm0,06 \text{ mmol/l}$ kod buša rase) i 14. dana posle teljenja ($1,07\pm0,04 \text{ mmol/l}$ kod holštajn i $1,04\pm0,05 \text{ mmol/l}$ kod buša rase) nije utvrđena razlika u magnezijemiji između dve rase krava.

Koncentracija holesterola bila je značajno niža u krvi krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša 14. dana pre teljenja ($2,03\pm0,14 \text{ mmol/l}$ i $2,71\pm0,14 \text{ mmol/l}$, $p<0,01$) i 14. dana posle teljenja ($2,20\pm0,22 \text{ mmol/l}$ i $2,94\pm0,16 \text{ mmol/l}$, $p<0,05$), dok je 50. dana nakon teljenja bila značajno viša ($p<0,001$) kod krava rase holštajn ($4,32\pm0,19 \text{ mmol/l}$) u odnosu na krave rase buša ($3,19\pm0,12 \text{ mmol/l}$). Mesec dana posle teljenja nije utvrđena značajna razlika u koncentraciji holesterola između dve rase iako je ona kod krava rase holštajn ($3,77\pm0,26 \text{ mmol/l}$) bila numerički viša u odnosu na krave rase buša ($3,61\pm0,17 \text{ mmol/l}$).

Koncentracija triglicerida bila je značajno niža ($p<0,001$) u krvi krava rase holštajn ($0,19\pm0,01 \text{ mmol/l}$) u odnosu na krave rase buša ($0,42\pm0,04 \text{ mmol/l}$) 30. dana posle teljenja, dok 14. dana pre teljenja ($0,36\pm0,09 \text{ mmol/l}$ kod holštajn i $0,36\pm0,04 \text{ mmol/l}$ kod buša rase), 14. dana posle teljenja ($0,16\pm0,01 \text{ mmol/l}$ kod holštajn i $0,22\pm0,02 \text{ mmol/l}$ kod buša rase) i 50. dana postpartalno ($0,19\pm0,01 \text{ mmol/l}$ kod holštajn i $0,28\pm0,07 \text{ mmol/l}$ kod buša rase) nije utvrđena statistička značajnost razlike u koncentraciji triglicerida u krvi između dve rase krava.

Aktivnost AST bila je značajno viša u krvi krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša 14. dana posle teljenja ($105,31\pm4,09 \text{ IJ/l}$ i $91,09\pm3,47 \text{ IJ/l}$, $p<0,05$) i 50. dana posle teljenja ($104,26\pm10,34 \text{ IJ/l}$ i $79,01\pm2,00 \text{ IJ/l}$, $p<0,05$), dok 14. dana pre teljenja ($88,97\pm4,19 \text{ IJ/l}$ i $78,38\pm3,68 \text{ IJ/l}$) i 30. dana posle teljenja ($68,58\pm5,34 \text{ IJ/l}$ i $80,12\pm3,12 \text{ IJ/l}$) nije utvrđena statistička značajnost.

Aktivnost GGT bila je značajno viša u krvi krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša 14. dana prepartalno ($20,85\pm1,42 \text{ IJ/l}$ i $7,85\pm0,85 \text{ IJ/l}$, $p<0,001$), kao i 14. dana posle

teljenja ($24,51 \pm 2,44$ IJ/l i $10,46 \pm 0,89$ IJ/l, $p < 0,001$), 30. dana posle teljenja ($36,18 \pm 9,83$ IJ/l i $13,72 \pm 1,58$ IJ/l, $p < 0,05$) i 50. dana posle teljenja ($32,78 \pm 4,78$ IJ/l i $3,65 \pm 0,92$ IJ/l, $p < 0,001$).

Koncentracija T_4 se nije značajno razlikovala između dve ispitivane rase krava niti u jednom ispitivanom terminu ($55,14 \pm 4,64$ nmol/l kod holštajn i $53,93 \pm 6,06$ nmol/l kod buša rase 14. dana pre teljenja; $42,79 \pm 2,19$ nmol/l kod holštajn i $41,64 \pm 1,65$ nmol/l kod buša rase 14. dana posle teljenja; $44,50 \pm 1,91$ nmol/l kod holštajn i $41,93 \pm 1,09$ nmol/l kod buša rase 30. dana posle teljenja; $48,97 \pm 2,74$ nmol/l kod holštajn i $45,27 \pm 1,64$ nmol/l kod buša rase 50. dana posle teljenja), dok je koncentracija T_3 bila značajno viša u krvi krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša i to značajno 30. dana posle teljenja ($2,34 \pm 0,14$ nmol/l i $1,85 \pm 0,17$ nmol/l, $p < 0,05$) i 50. dana posle teljenja ($2,42 \pm 0,09$ nmol/l i $1,96 \pm 0,17$ nmol/l, $p < 0,05$), dok se vrednosti nisu značajno razlikovale između dve rase 14. dana pre teljenja ($2,72 \pm 0,29$ nmol/l kod holštajn i $2,20 \pm 0,32$ nmol/l kod buša rase krava) i 14. dana posle teljenja ($1,81 \pm 0,10$ nmol/l kod holštajn i $1,72 \pm 0,18$ nmol/l kod buša rase krava).

Kod krava holštajn rase koncentracija IGF-I je bila značajno viša nego u krvi krava rase buša i to 14. dana pre teljenja ($36,52 \pm 2,11$ nmol/l i $17,82 \pm 0,69$ nmol/l, $p < 0,001$) kao i 14., 30. dana posle teljenja ($19,22 \pm 1,74$ nmol/l i $12,55 \pm 0,52$ nmol/l, $p < 0,01$), 30. dana posle teljenja ($21,01 \pm 1,15$ nmol/l i $16,09 \pm 0,53$ nmol/l, $p < 0,01$) i 50. dana posle teljenja ($32,55 \pm 2,36$ nmol/l i $16,01 \pm 0,523$ nmol/l, $p < 0,001$). U svim ispitivanim terminima zastupljenost IGFBP-2 je bila statistički značajno veća kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša, odnosno 14. dana pre teljenja je iznosila kod holštajn rase $12,44 \pm 0,16$ ADU/ml a buša rase $8,08 \pm 0,20$ ADU/ml ($p < 0,001$), dok je 14. dana posle teljenja bila $14,31 \pm 0,16$ ADU/ml kod holštajn a $7,55 \pm 0,53$ ADU/ml kod buša rase krava ($p < 0,001$). Mesec dana posle teljenja zastupljenost ovog vezujućeg proteina kod holštajn rase je bila $14,86 \pm 0,34$ ADU/ml kod holštajn rase krava i $8,27 \pm 0,13$ ADU/ml kod buše ($p < 0,001$), a 50. dana $11,71 \pm 0,28$ ADU/ml kod holštajn i $10,42 \pm 0,39$ ADU/ml kod krava rase buša ($p < 0,001$). Zastupljenost IGFBP-3 je bila statistički značajno veća kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša 14. dana pre teljenja ($8,50 \pm 0,22$ ADU/ml i $7,40 \pm 0,18$ ADU/ml, $p < 0,01$) kao i 30. dana posle teljenja ($8,61 \pm 0,17$ ADU/ml i $7,87 \pm 0,13$ ADU/ml, $p < 0,01$) i 50. dana posle teljenja ($13,53 \pm 0,30$ ADU/ml i $10,44 \pm 0,39$ ADU/ml, $p < 0,001$), dok 14. dana posle teljenja nije utvrđena razlika u zastupljenosti ovog vezujućeg proteina između krava rase ($6,59 \pm 0,32$ ADU/ml) i krava rase buša ($5,85 \pm 0,28$ ADU/ml).

Koncentracija estradiola u krvi krava holštajn rase ($7,00 \pm 0,84$ pg/ml) bila je značajno viša ($p < 0,001$) nego u krvi krava rase buša ($1,75 \pm 0,71$ pg/ml) 30. dana posle teljenja, kada je i vršeno merenje koncentracije ovog hormona u krvi.

Rezultati IVGTT izvedenog antepartalno su pokazali da je tokom testa koncentracija glukoze bila značajno niža u krvi krava rase holštajn nego u krvi krava rase buša i to 30., 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,05$, pojedinačno), kao i da je koncentracija insulina bila značajno viša u krvi krava rase holštajn nego u krvi krava rase buša i to 0., 15., 30., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,05$ i $p < 0,01$, pojedinačno). Koncentracija NEFA bila je, u krvi krava holštajn rase u odnosu na rasu buša, značajno niža 15. minuta testa ($p < 0,05$) i značajno viša 180. minuta testa ($p < 0,05$).

Rezultati IVGTT izvedenog postpartalno su pokazali da je tokom testa koncentracija glukoze bila značajno niža u krvi krava rase holštajn nego u krvi krava rase buša i to 15. 30., 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,001$ i $p < 0,01$, pojedinačno), kao i da je koncentracija insulina bila značajno viša u krvi krava rase holštajn nego u krvi krava rase buša i to 0., 15., 60., 90., 120. i 180. minuta testa ($p < 0,001$, $p < 0,05$, $p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,01$ i $p < 0,001$, pojedinačno). Koncentracija NEFA bila je, u krvi krava holštajn rase u odnosu na rasu buša, značajno niža 0. ($p < 0,001$), 15. ($p < 0,05$), 30. ($p < 0,05$) i 90. minuta testa ($p < 0,05$).

Izračunato je da je k vrednost za glukozu bila značajno veća ($p < 0,001$), a $T_{1/2}$ i $AUC_{glucosa}$ značajno niža ($p < 0,001$, pojedinačno) kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša 14. dana posle teljenja, dok se ove vrednosti pre teljenja nisu značajno razlikovale između rasa. Takođe je izračunato je da je ΔMax_{ins} bila značajno veća kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša kako u testu izvedenom prepartalno i postpartalno ($p < 0,05$, pojedinačno), dok je $AUC_{insulina}$ bila značajno niža ($p < 0,001$) kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša jedino u testu izvedenom postpartalno. AUC_{NEFA} je bila značajno niža ($p < 0,05$) u testu izvedenom postpartalno kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša.

HOMA indeks je bio značajno niži kod krava holštajn rase u odnosu na krave buša rase kako prepartalno ($1,41 \pm 0,25$ i $5,38 \pm 0,56$, $p < 0,001$), tako i postpartalno ($1,15 \pm 0,14$ i

1 4,74±0,75, p<0,001), dok je RQUICKI bio viši kod krava holštajn rase u odnosu na krave buša
2 rase, ali je ova razlika bila statistički značajna jedino prepartalno (0,95±0,06 i 0,56±0,03,
3 p<0,001). QUICKI je bio značajno viši kod krava holštajn rase u odnosu na krave buša rase
4 kako pre teljenja (0,70±0,04 i 0,49±0,02, p<0,001), tako i posle teljenja (0,73±0,03 i
5 0,51±0,03, p<0,001).

6 Zastupljenost insulinskih receptora u jetri krava holštajn rase bila je viša nego kod
7 krava rase buša, ali razlika nije bila statistički značajna. Zastupljenost insulinskih receptora,
8 kao i GLUT 4 u mišićnom tkivu krava holštajn rase bila je niža nego kod krava rase buša i
9 razlika je bila statistički značajna (p<0,01, pojedinačno). Zastupljenost GLUT 4 u masnom
10 tkivu krava holštajn rase bila je viša nego kod krava rase buša, ali razlika nije bila statistički
11 značajna. Nije bilo statistički značajne razlike u zastupljenosti insulinskih receptora u masnom
12 tkivu između dve ispitivane rase krava.

13 Reproductivni pokazatelji dobijeni observacijom spoljašnjih genitalnih organa i
14 tranrektalnim ultrazvučnim pregledom jajnika i materice su pokazali da je kod krava rase
15 holštajn u odnosu na krave rase buša bila statistički značajno viša aktivnost jajnika (1,75±0,16
16 i 1,25±0,16, p<0,05), kao i zbirna vrednost aktivnosti i veličine jajnika (1,37±0,08 i 0,94±0,15,
17 p<0,05). Nije bilo značajne razlike u parametrima procene stanja materice i vulve i vagine.
18 Međutim, izračunati prosek zbira vrednosti svih ispitivanih reproduktivnih parametara je bio
19 statistički značajno viši (p<0,05) kod krava holštajn (1,26±0,08) u odnosu na krave rase buša
20 0,91±0,09), što ukazuje na povoljniji reproduktivni status krava holštajn rase 30. dana posle
21 teljenja, odnosno kada je vršeno ispitivanje.

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

VI ZAKLJUČCI ISTRAŽIVANJA (navesti zaključke koji su prikazani u doktorskoj disertaciji):

1. Statistički značajno više vrednosti pokazatelja funkcionalne sposobnosti jetre (ukupni bilirubin, aktivnost AST i GGT) kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša ukazuju na pojačanu metaboličku aktivnost kod visokoproizvodnih rasa tokom peripartalnog perioda. Pored toga, statistički značajno viša koncentracija trijodtironina utvrđena kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša, ukazuje da su energetske zahteve značajno povećani kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša.
2. Na osnovu rezultata za koncentraciju glukoze, insulina i NEFA dobijenih topkom izvođenja IVGTT, kao i na osnovu vrednosti HOMA, RQICKI I QUICKI utvrđeno je da je insulinska rezistencija izraženija kod krava rase buša u odnosu na krave rase holštajn kako prepartalno tako i postpartalno. Ovaj rezultat može da ukaže da u uslovima nutritivne deficijencije kojoj su izložene krave rase buša u ekstenzivnoj proizvodnji, insulinska rezistencija predstavlja adaptivni mehanizam kojim se omogućava pravilan razvoj ploda tokom kasnog graviditeta, odnosno proizvodnja mleka tokom rane laktacije.
3. Ispitivanja izvršena na perifernim tkivima su pokazala da je zastupljenost insulinskih receptora i GLUT 4 značajno niža u mišićnom tkivu kod krava rase holštajn ukazujući na mogućnost fiziološke adaptacije krava na visoku proizvodnju kroz prestrojavanje nutrijenata ka mlečnoj žlezdi.
4. Uporednom analizom pokazatelja reproduktivnog statusa krava holštajn rase i krava rase buša utvrđeno je da aktivnost jajnika 30. dana posle teljenja statistički značajno izraženija kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša. Pojačana aktivnost jajnika kod krava rase holštajn bila je udružena sa statistički značajno višom koncentracijom estradiola kod krava rase holštajn u odnosu na krave rase buša, 30. dana posle teljenja. Ovaj rezultat je, najverovatnije, posledica statistički značajno više koncentracije IGF-I koja je utvrđena kod krava holštajn rase u odnosu na krave rase buša u svim periodima ispitivanja, odnosno 14. dana pre, kao i 14., 30. i 50. dana posle teljenja.
5. Tridesetog dana posle teljenja, koncentracije BHBA, uree i holesterola, kao biohemijskih parametara, za koje je dokazano da u povišenim koncentracijama mogu da poremete proces ovulacije i ranu implantaciju embriona, su bile statistički značajno više kod krava holštajn u odnosu na krave rase buša. Ovaj rezultat ukazuje da su krave rase holštajn, i pored izraženije postpartalne aktivnosti jajnika, sklonije mogućnosti pojave poremećaja ovulacije u odnosu na krave rase buša.

VII OCENA NAČINA PRIKAZA I TUMAČENJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA (navesti da li su dobijeni rezultati u skladu sa postavljenim ciljem i zadacima istraživanja, kao i da li zaključci proizilaze iz dobijenih rezultata):

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

VIII KONAČNA OCENA DOKTORSKE DISERTACIJE:

1. **Da li je disertacija napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme?**
Doktorska disertacija kandidata Miloja Đurića pod naslovom „Uporedni prikaz metaboličkih, endokrinih i reproduktivnih parametara visokomlečnih i autohtonih rasa krava“ je napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme.
2. **Da li disertacija sadrži sve elemente propisane za završenu doktorsku disertaciju?**
Doktorska disertacija kandidata Miloja Đurića pod naslovom „Uporedni prikaz metaboličkih, endokrinih i reproduktivnih parametara visokomlečnih i autohtonih rasa krava“ sadrži sve bitne elemente u skladu sa zahtevima za završenu doktorsku disertaciju.

1
2 **3. Po čemu je disertacija originalan doprinos nauci?**

3 U okviru ove doktorske disertacije izvršeno je sveobuhvatno poređenje metaboličkog i
4 reproduktivnog statusa krava visokoselekcionisanih i autohtonih rasa goveda, gajenih u
5 različitim sistemima. Rezultati su ukazali na one metaboličke parametre i fiziološke procese
6 koji su značajno promenjeni tokom selekcije na visoku proizvodnju mleka otvarajući, na taj
7 način, mogućnost identifikovanja faktora rizika koji u uslovima visoke proizvodnje mogu
8 dovesti do ugrožavanja reproduktivnog statusa jedinke.
9

10 **IX PREDLOG:**

11 **Na osnovu ukupne ocene disertacije, komisija predlaže (odabrati jednu od tri**
12 **ponuđenih mogućnosti):**

13 **- da se doktorska disertacija prihvati a kandidatu odobri odbrana**

14 - da se doktorska disertacija vrati kandidatu na doradu

15 - da se doktorska disertacija odbije
16

17 DATUM

18 22.8.2016. godine
19

POTPISI ČLANOVA KOMISIJE

20 -----
21 dr Miloš Pavlović, vanredni profesor,

22 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
23

24 -----
25
26 dr Danijela Kirovski, vanredni profesor,

27 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
28

29 -----
30
31 dr Ivan Vujanac, docent,

32 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
33

34 -----
35
36 dr Vladimir Magaš, docent,

37 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
38

39 -----
40
41 dr Mirjana Šumarac Dumanović, redovni profesor,

42 Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu