

Stres, volné radikály a plodnost dojnic

doc. Ing. Jiří Bezdíček, Ph.D.

UPOl Olomouc

ČZU v Praze, 27.11.2024

s podporou projektu NAZV QK22010270

Stres, volné radikály a plodnost dojnic

- jak vznikají a co to jsou volné radikály?
- jak se projevují zvýšené volné radikály v *in vitro* podmínkách
- jak se projevují zvýšené volné radikály v *in vivo* podmínkách

Volné radikály:

- jsou velmi reaktivní molekuly, které mají alespoň jeden nespárovaný elektron
- jsou zapojeny do řady fyziologických a patofyziologických procesů
- typickými příklady jsou:

superoxid $O_2^{\cdot-}$

hydroxylový HO^{\cdot}

oxid dusnatý NO^{\cdot}

oxid dusičitý NO_2^{\cdot}

Volné radikály:

Příklad vzniku volných radikálů:

základním energetickým zdrojem je v živočišné říši

ATP (adenosintrifosfát) - energeticky bohatá forma

↓
buněčná práce

ADP (adenosindifosfát) – méně energeticky bohatá forma

↓
dobití energií z potravy

ATP (adenosintrifosfát) - energeticky bohatá forma

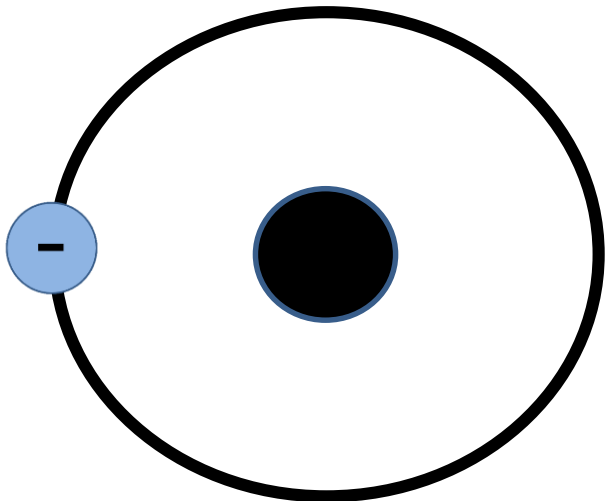
ATP → ADP → ATP → ADP → ATP → ADP

Zdrojem energie pro výrobu ATP jsou organické molekuly, např.:

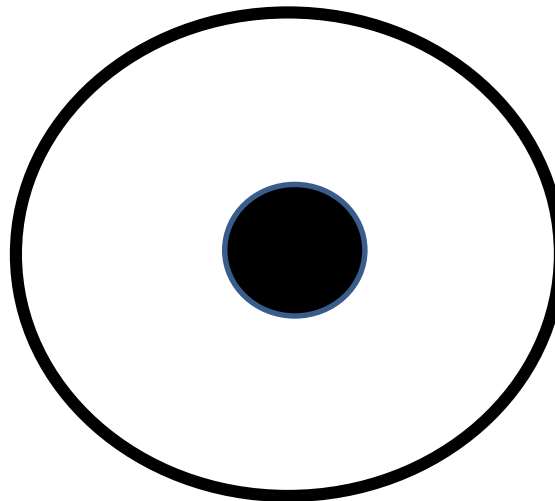
glukosa $C_6H_{12}O_6$

tuky $C_{52}H_{104}O_6$

H



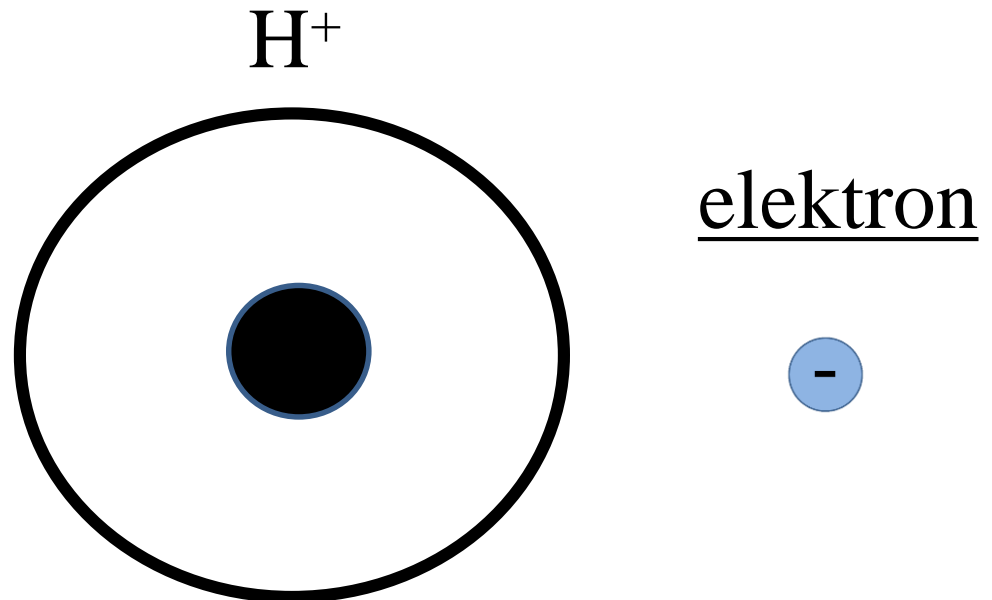
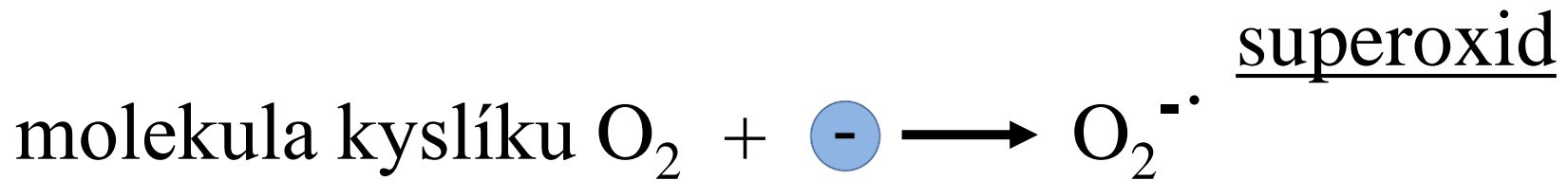
H⁺



elektron

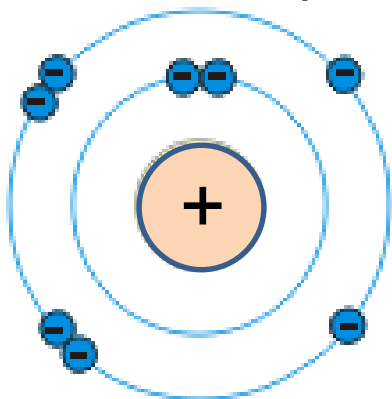


Příklad vzniku volného radikálu
(reaktivní formy kyslíku nebo dusíku):

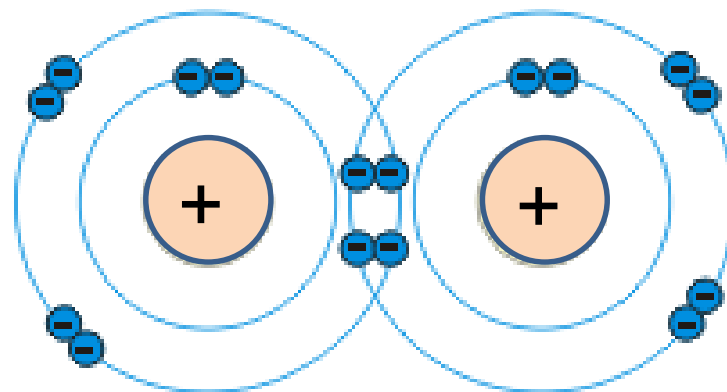


Volný radikál = částice, která má jeden nebo více nepárových elektronů

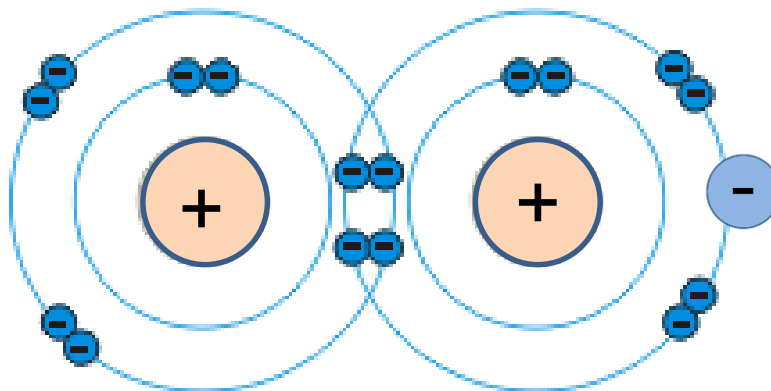
atom kyslíku O



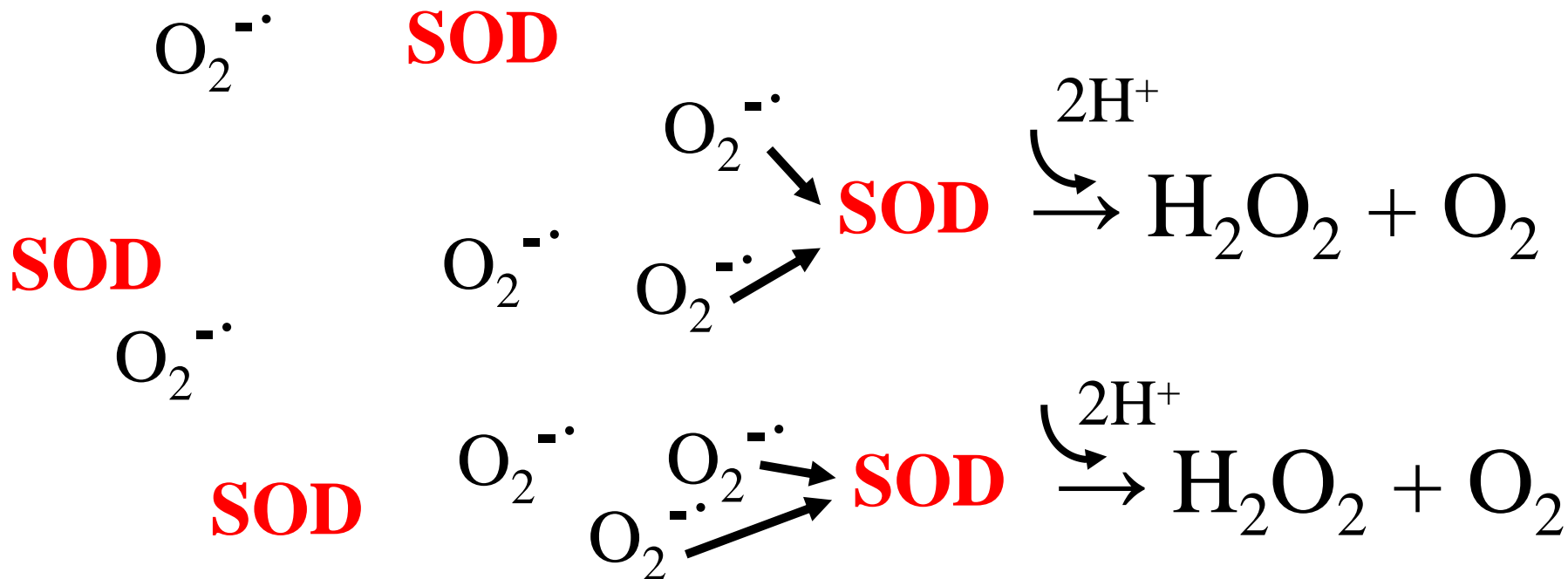
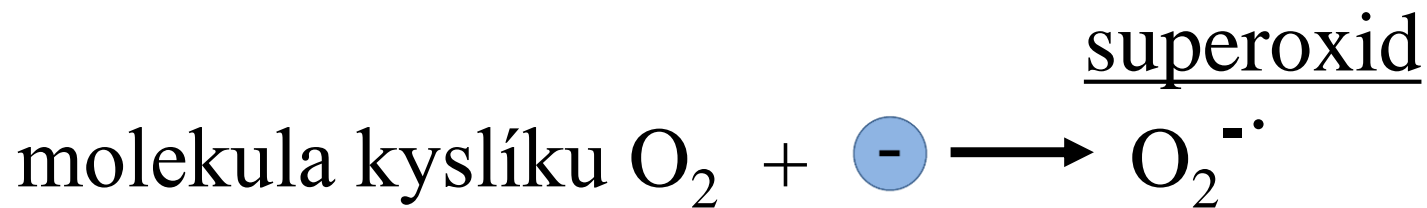
molekula kyslíku O₂



kyslíkový radikál - superoxid



Příklad vzniku volného radikálu (reaktivní formy kyslíku):



Shrnutí vzniku a významu volných radikálů (VR):

- VR neustále vznikají náhodným únikem elektronů
- obranou jsou SOD enzymy a antioxidanty
- VR poškozují DNA, membrány atd.

Proč evoluce neodstranila úniky elektronů?????

- VR jsou součástí řady fyziologických procesů
- VR jsou zbraň lymfocytů proti patogenům

Závěr:

- volné radikály musí být neustále pod kontrolou, neboť jejich vysoké i nízké množství je pro buňku nebezpečné.

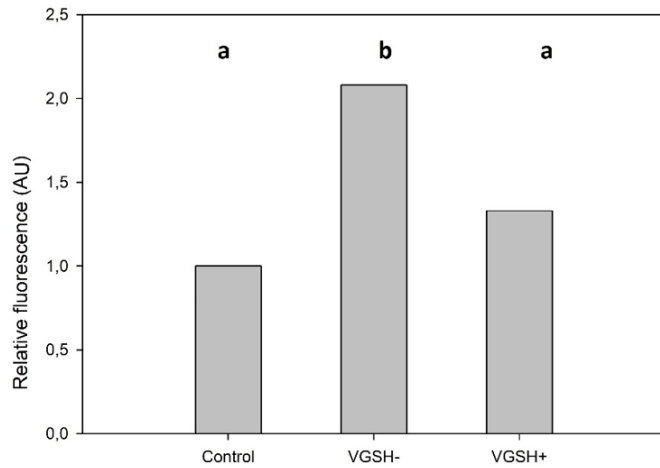
Glutathione during post-thaw recovery culture can mitigate deleterious impact of vitrification on bovine oocytes. *Antioxidants*, 2023, 12, 35.

•Olexiková L.¹, Dujíčková L.¹, Makarevich A. V.¹, Bezdíček, J.², Sekaninová, J.², Nesvadbova A.², Chrenek P.¹

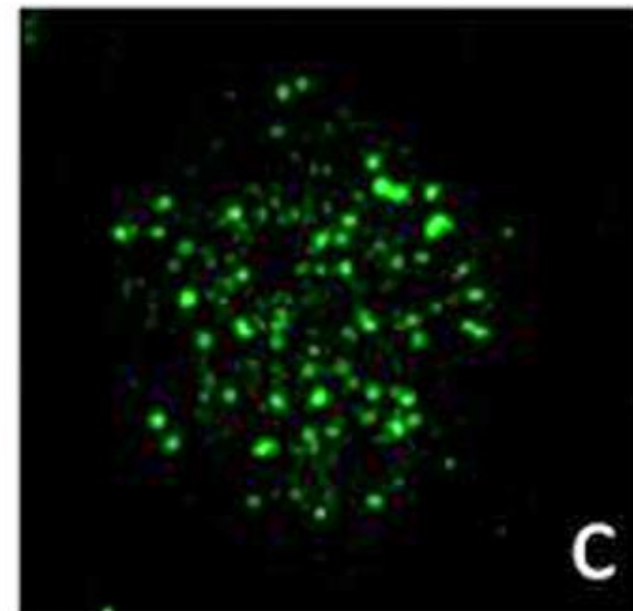
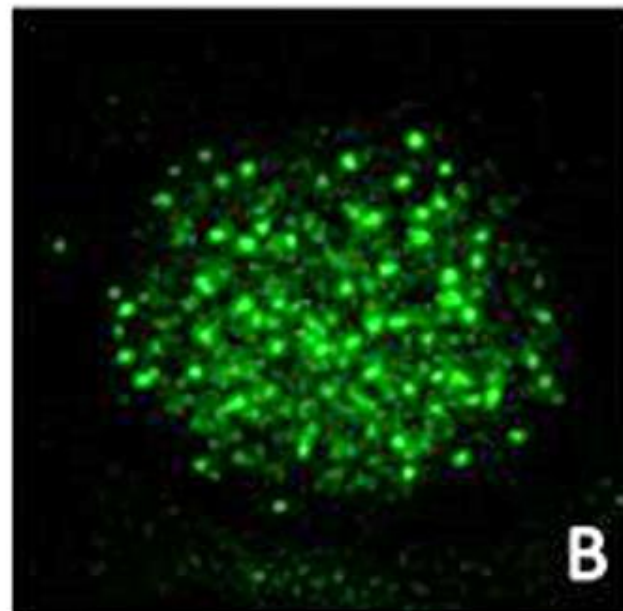
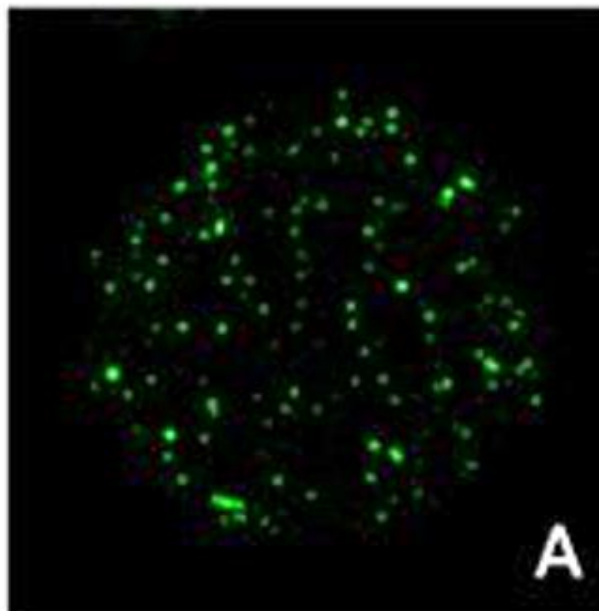
•¹ Výzkumný ústav živočišnej výroby, Nitra, Slovensko

•² Univerzita Palackého v Olomouci

Podíl ROS v oocytech: čerstvých; vitrifikovaných bez a s glutathionem



barvení: CellROX Green (Invitrogen, Massachusetts, USA).

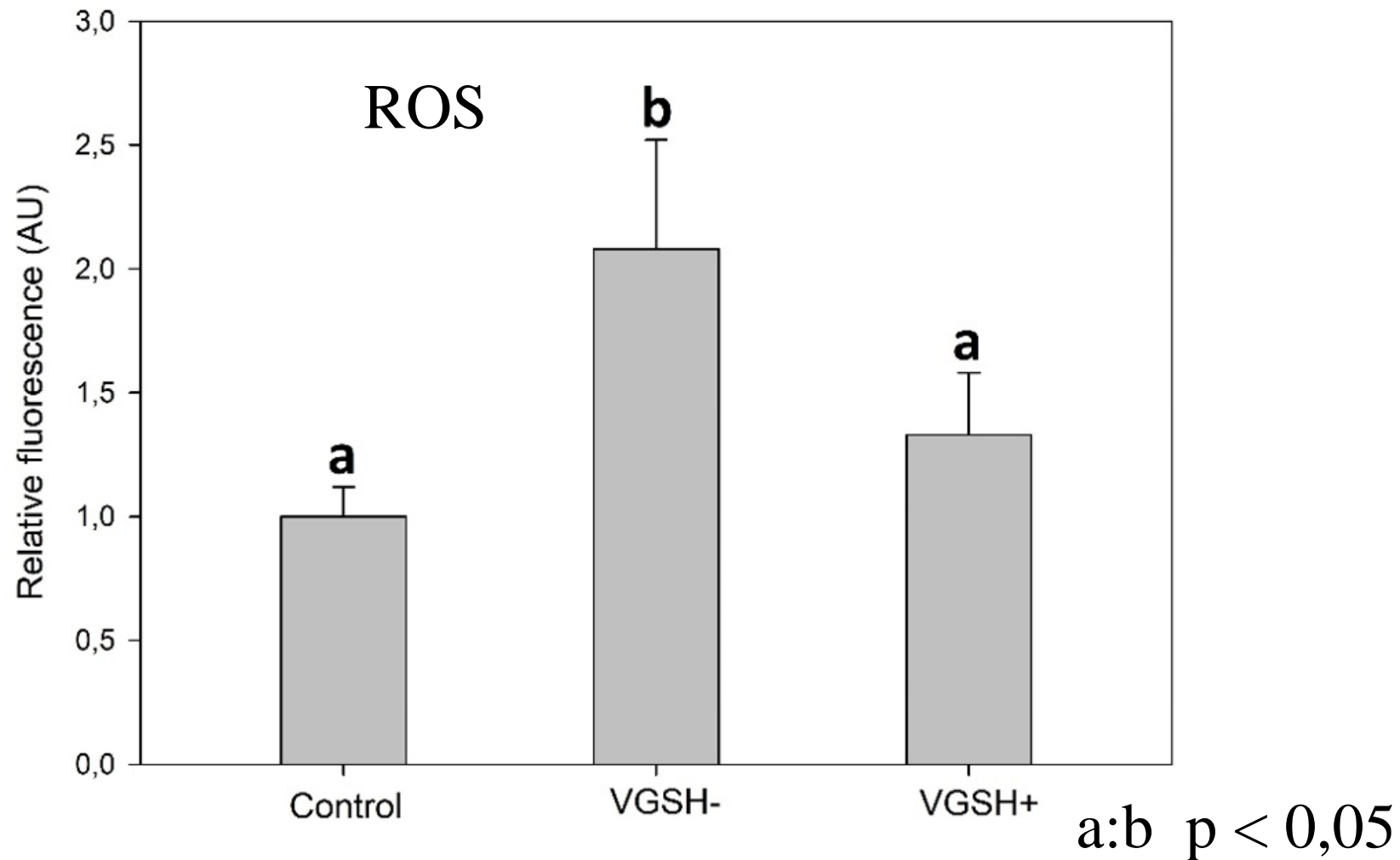


čerstvé (kontrola)

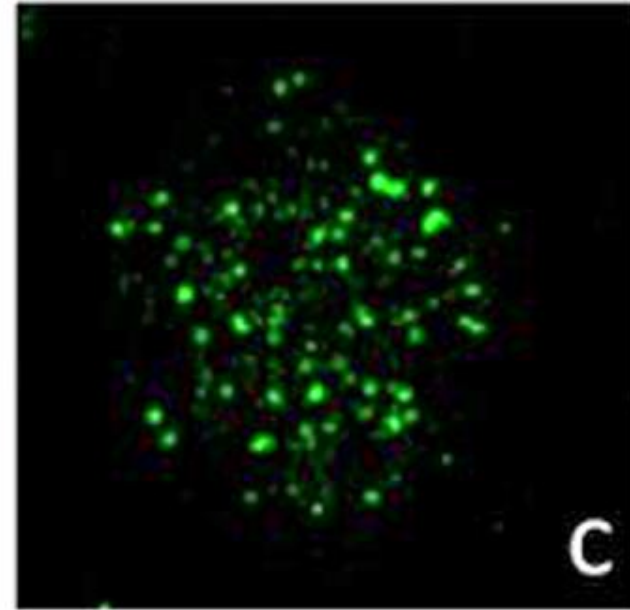
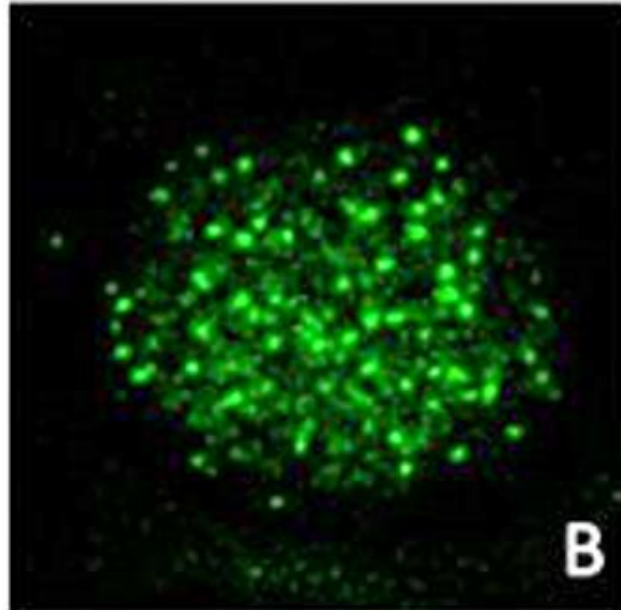
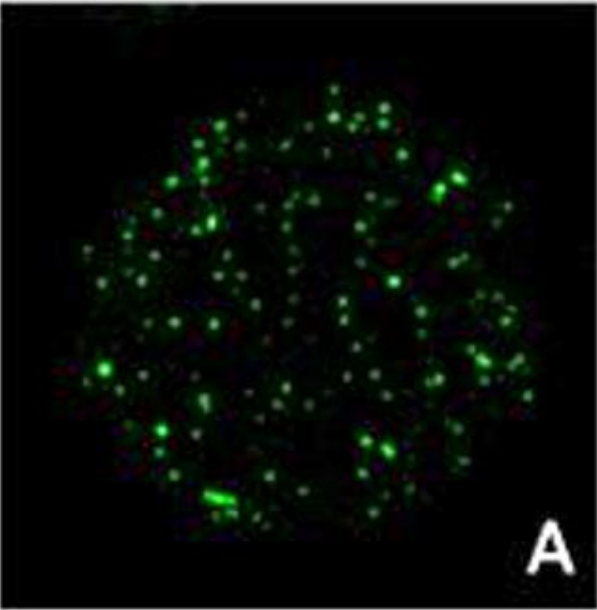
vitrifik. bez GSH

vitrifik. s GSH

Podíl ROS v oocytech: čerstvých; vitrifikovaných bez a s glutathionem



Podíl ROS v oocytech: čerstvých; vitrifikovaných bez a s glutathionem



čerstvé (kontrola)

vitrifik. bez GSH

vitrifik. s GSH

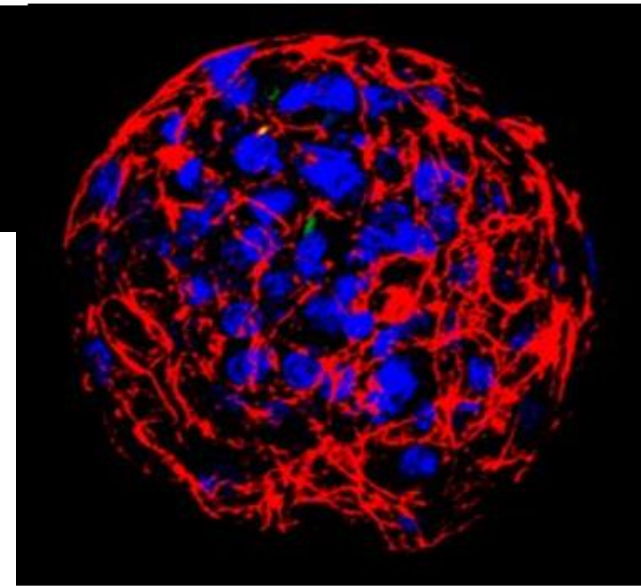
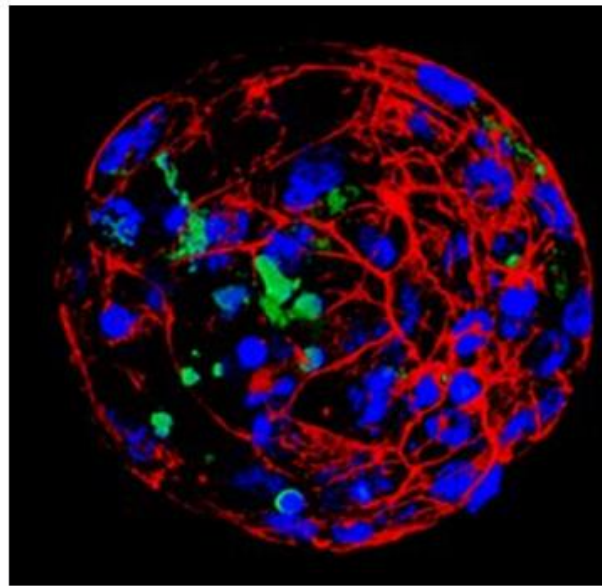
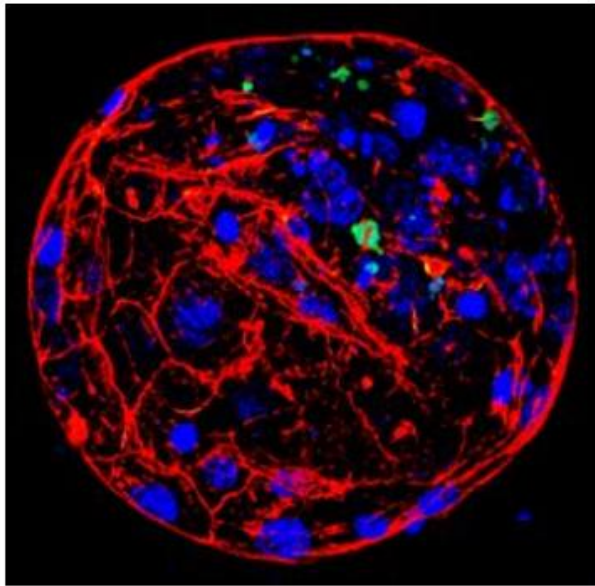
podíl blastocyst

74,45 %

55,00 %

71,79 %

Podíl špatné kvality cytoskeletu u blastocyst



čerstvé (kontrola)

vitřifik. bez GSH

vitřifik. s GSH

podíl apoptózy blastocyst

11,17 %

10,68 %

8,18 %

Závěr:

- vlivem zmražování oocyty (vitrifikace) vznikají volné radikály
- jako výhodné se ukazuje doplnit rozmrazovací media o 5 mmol glutathionu, po dobu 30 minut

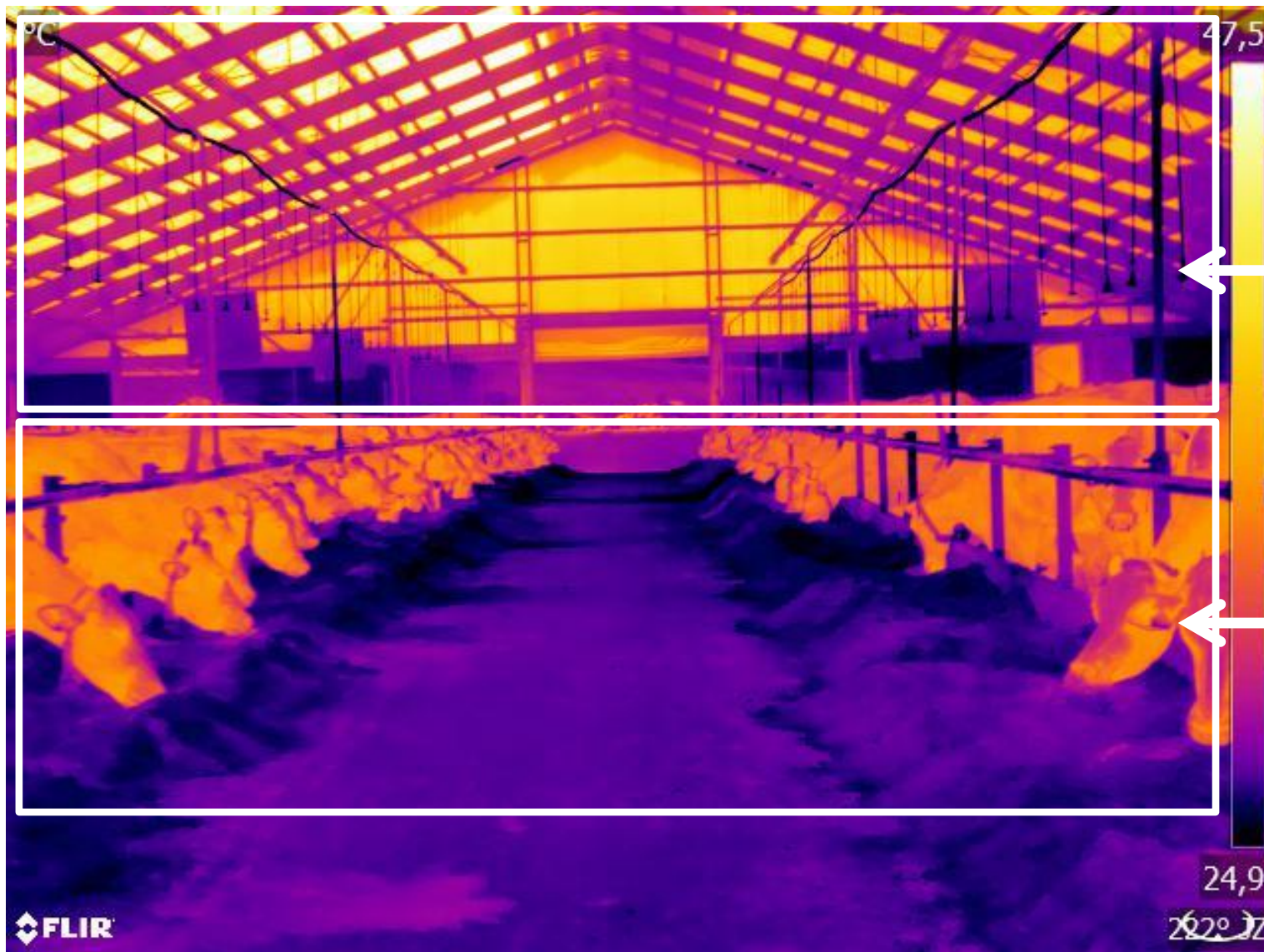
Je otázka:

- jak vyhodnotit stres u krav v *in vivo* podmínkách?
(dají se využít volné radikály?)
- jak stres ovlivňuje produkci a reprodukci dojnic?

Je otázka:

- Jak detekovat stres v *in vivo* podmínkách?

Venkovní teplota 31°C

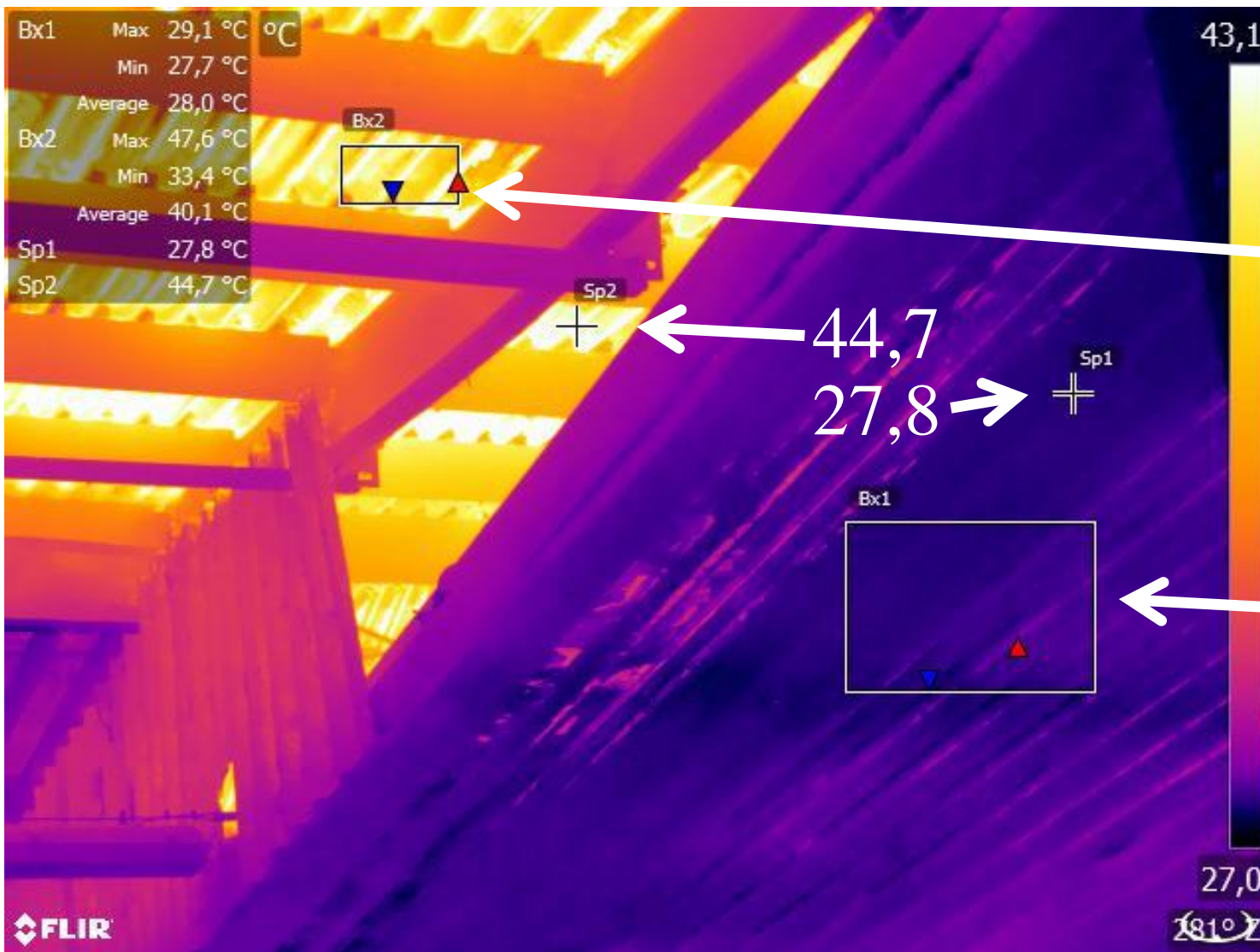


°C
min: 20,3
max: 49,8
prům: 32,8

min: 24,5
max: 38,5
prům: 28,9

(foto Bezdíček)

Venkovní teplota 31°C



°C
min: 28,0
max: 47,6
prům: 33,4

min: 27,7
max: 29,1
prům: 28,0

(foto Bezdíček)

Venkovní teplota 31°C



(foto Bezdíček)

Holštýnský skot; ČR; délka servis periody (SP)

Měsíc otelení	Průměr THI*	SP (LSM)	N
červen – červenec	75,9	133,8 ^a	105
září – květen	53,1	114,7 ^a	105
září – prosinec	39,6	113,6	58
leden – duben	53,2	119,4	58

P < 0,05 (a)

(Bezdíček a kol., 2020)

* THI 30 dnů po otelení

Holštýnský skot; ČR; první nádoj mléka v kg

Měsíc otelení	Průměr THI*	SP (LSM)	N
červen – srpen	76,46	23,48 \	32
září – květen	50,96	25,50 / 2,02	32

(Bezdíček a kol., 2022)

Vliv zvýšených teplot na zisk oocytů v průběhu jejich aspirace

	chladné období		teplé období	
	září	únor	červen	červenec
Počet vaječníků	18	15	29	30
Průměrný počet folikulů na vaječniku	16,5	12,9	11,8	9,0
Průměrný počet aspirovaných oocytů z jednoho vaječniku	7,8	9,1	8,4	6,0

(Bezdiček a kol., 2016)

Vliv zvýšených teplot na ovariální aktivitu

období / THI	LSM počtu žlutých tělísek* / N	LSM vhodných embryí / N
léto / 75,7	6,05 / 17	1,9 ^a / 17
podzim; jaro / 65,9	8,15 / 18	2,4 / 18
zima / 45,6	8,19 / 18	3,7 ^a / 16

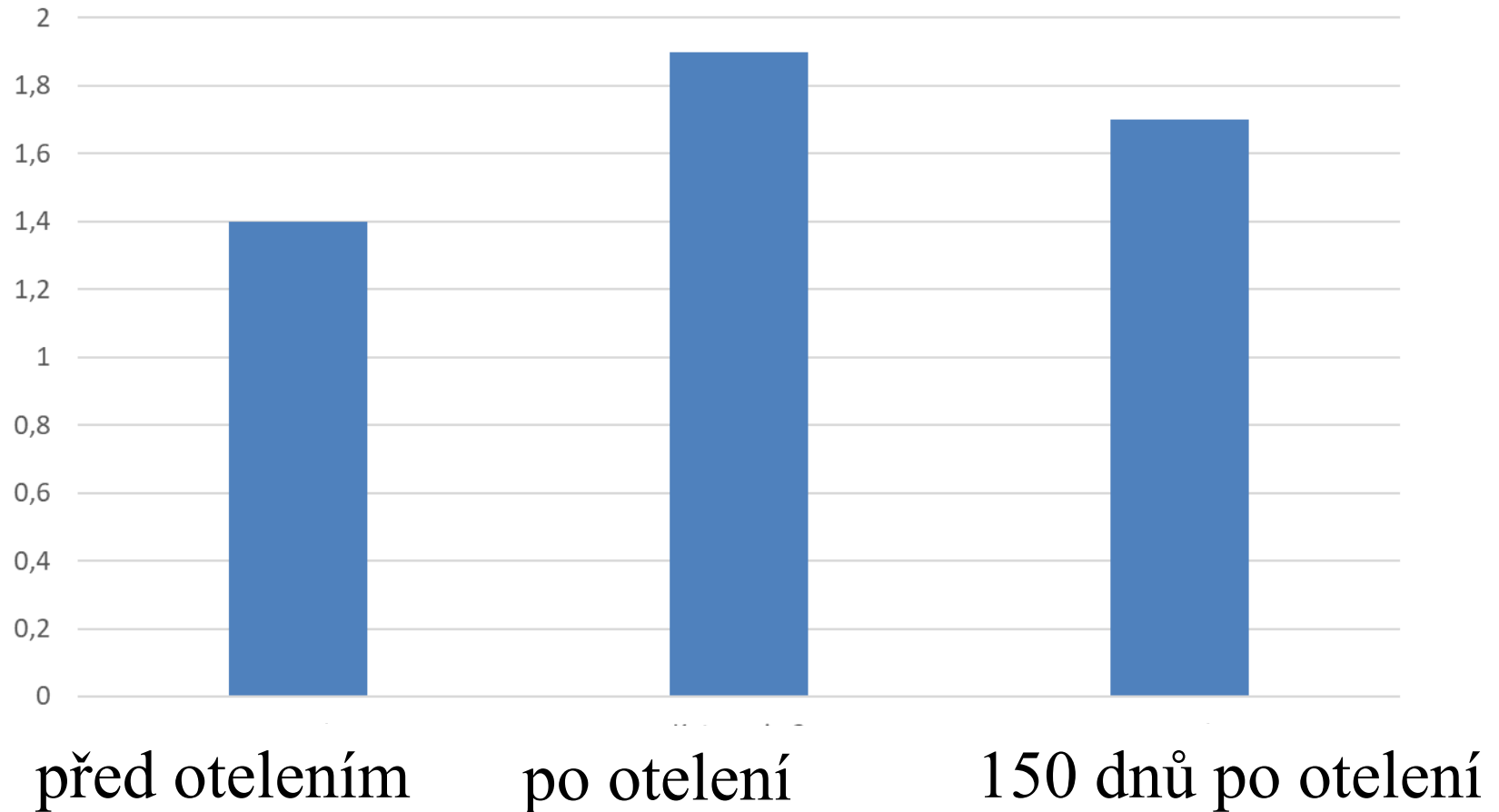
(Bezdíček a kol., 2019)

$P < 0,05$ (a)

* vyšetření sonografem

Aktivita antioxidantních enzymů

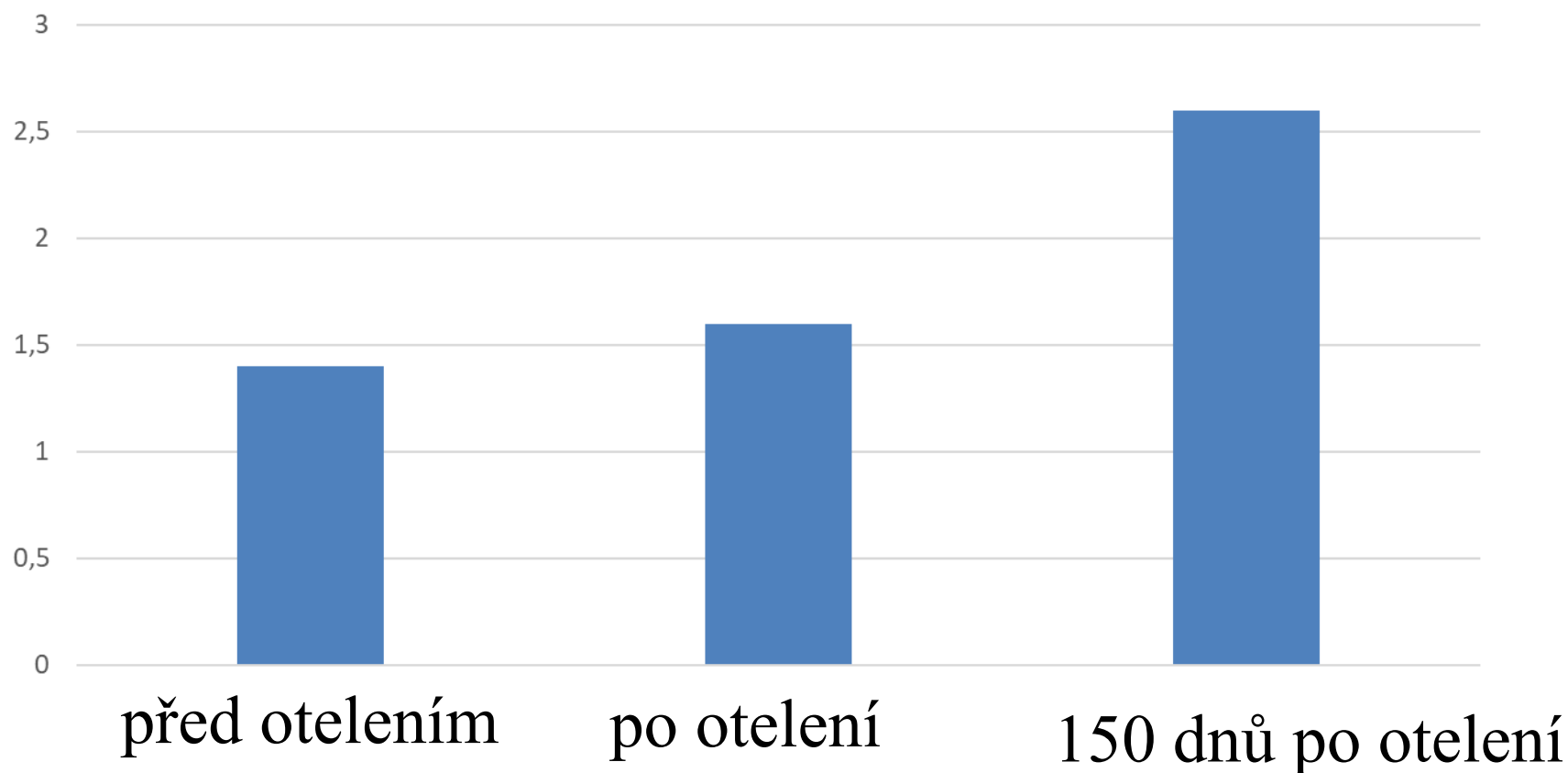
Aktivita katalázy



(Sekaninová a kol., 2024)

Aktivita antioxidantních enzymů

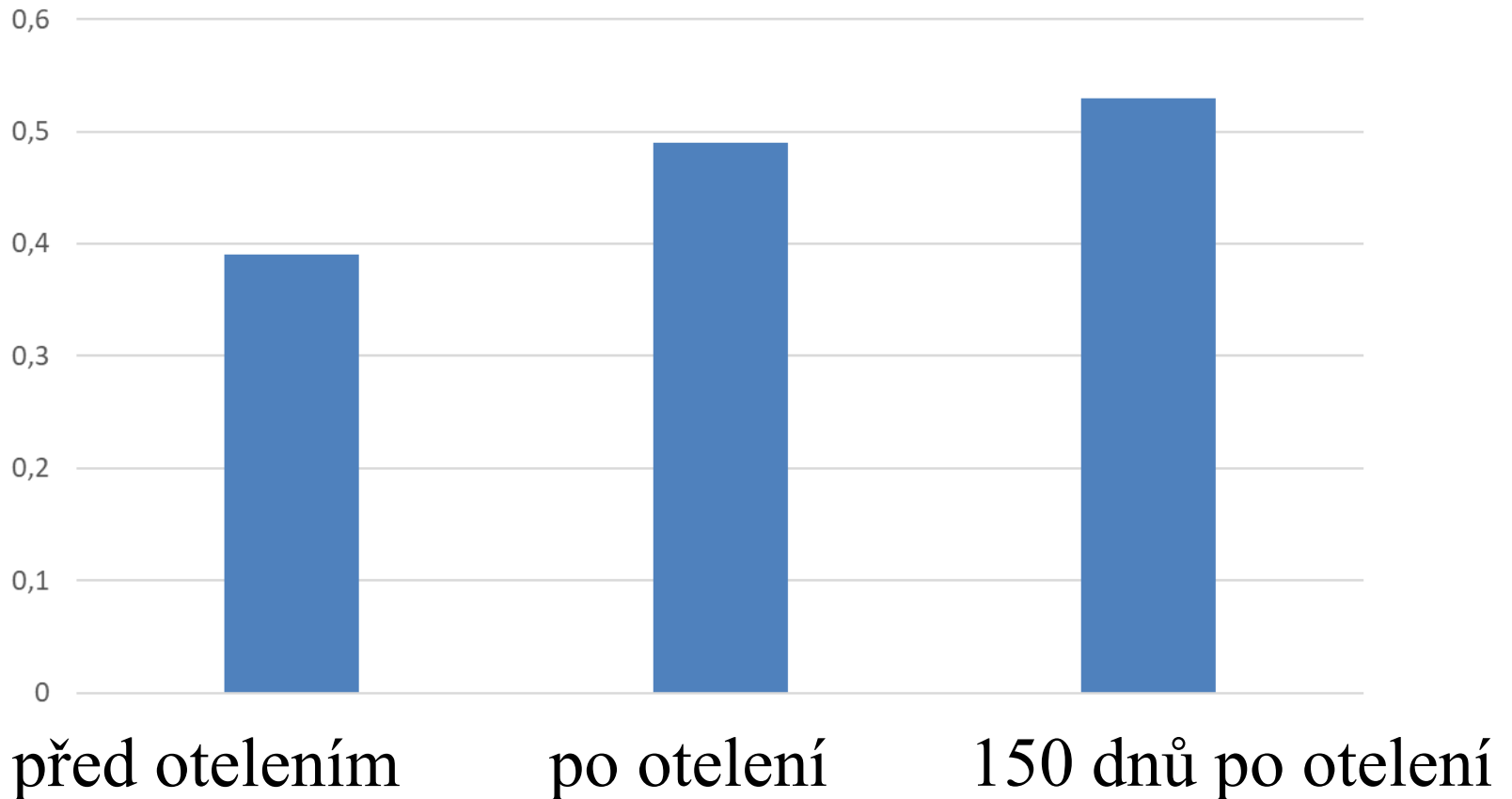
Celkový antioxidantní statut



(Sekaninová a kol., 2024)

Aktivita antioxidantních enzymů

Aktivita SOD



SOD – superoxiddismutasa

(Sekaninová a kol., 2024)

Závěr:

- zvýšené volné radikály jsou dobrým indikátorem stresu zvířat (oxidačního stresu) v *in vitro* i *in vivo* podmínkách
- zvýšené volné radikály jsou dobrým indikátorem vnitřního prostředí buňky nebo organismu zvířete

Literatura:

Bezdíček, J., Nesvadbová, A., Stádník, L., Louda, F. Influence of heat stress on milk production in fraternal twins, *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 2022, Vol. 70 (6), 365 – 372, doi.org/10.11118/actaun.2022.027

Bezdíček, J., Nesvadbová, A., Louda, F. The effect of high summer temperatures on reproduction in Holstein and Czech Fleckvieh, *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 2020; 68(1); 9–16. doi.org/10.11118/actaun202068010009.

Bezdíček, J., Makarevič, A., Olexikova L., Kubovičová, E., Vránová, Z.: Vliv ročního období na ovariální aktivitu a zisk oocytů u skotu, *Slovenský veterinársky časopis*, 2016, č. 3-4, 41, s. 173 - 174.

Olexiková, L.; Dujíčková, L.; Makarevich, A.V.; Bezdíček, J.; Sekaninová, J.; Nesvadbová, A.; Chrenek, P. Glutathione during Post-Thaw Recovery Culture Can Mitigate Deleterious Impact of Vitrification on Bovine Oocytes. *Antioxidants* 2023, 12, 35

Sekaninová J., Janků M., Luhová L., Petřivalský M., Bezdíček J., Ducháček J., Stádník L. Effects of oxidative stress on reproduction of dairy cattle. Poster presented at: The 75th EAAP Annual Meeting, September 1-5, 2024, Florence, Italy. Book of abstracts EAAP – 75th Annual Meeting, p. 513, session 41, poster 10.