

**BIOINFORMATIČKA STIMULACIJA LUČENJA OKSITOCINA I NJEGOVA VEZA SA
STATUSOM KALCIJUMA, KALIJUMA, NATRIJUMA I PROIZVODNOM MLEKA**

**BIOINFORMATICS STIMULATION OF OXYTOCIN SECRETION AND ITS RELATIONSHIP
WITH CALCIUM, POTASSIUM AND SODIUM STATUS AND MILK PRODUCTION**

**Ljiljana Andjušić^{1*}, Zoran Milankov², Dušan M. Marić³, Božidar Milošević¹, Radojica Djoković⁴,
Goran Maksimović¹, Valentina Milanović¹, Aleksandar Čukić¹, Željko Savić¹**

¹Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lešak, University of Priština, Serbia,

²Dental Clinic, 'Tusk'; Novi Sad, Serbia,

³Institute for child and mother health of Vojvodina, Faculty of Medicine, Novi Sad, University of Novi Sad, Serbia,

⁴Department of Animal Science, Faculty of Agronomy Čačak, University of Kragujevac, Serbia,

*Corresponding author: Dr Ljiljana Andjušić ljiljana.andjusic@pr.ac.rs



Lj.A. <https://orcid.org/0000-0002-0054-1128>, Z.M. <https://orcid.org/0000-0001-8926-3445>, D.M.M. <https://orcid.org/0000-0002-3981-3215>,
B.M. <https://orcid.org/0000-0003-4381-0276>, R.Dj. <https://orcid.org/0000-0003-0900-3227>, G.M. <https://orcid.org/0000-0001-8159-2818>,
V.M. <https://orcid.org/0000-0002-7177-9643>, A.Č. <https://orcid.org/0000-0001-9063-3431>, Ž.S. <https://orcid.org/0009-0006-5932-3551>

SAŽETAK

Bioinformatika je nauka koja se bavi bioinformacionim procesima i pojavama u živim ćelijama pri informacionom delovanju svetlosti – elektromagnetnih talasa, jonizujućeg zračenja, bakterija i virusa, biološki aktivnih i materija hemijske prirode. Elektromagnetno polje (EMF) predstavlja protok energije u formi električnog i magnetnog polja koji zajedno čine EM talas. Ove dve komponente EM talasa osciluju u fazi normalno jedna na drugu i upravno na pravac prostiranja energije. U biološkim sistemima električni fenomeni su predstavljeni električnim i jonskim strujama, i njih izazivaju i prenose joni. U bioelektrične fenomene spadaju transmembranski potencijali i to mirovni membranski potencijal, akcioni potencijal i lokalni potencijali. Na ekscitabilnost ćelije utiču koncentracije K⁺ i Ca²⁺ u estracelularnoj tečnosti. Oslobođanje oksitocina (OT) je Ca²⁺ zavisan akt koji je normalno izazvan depolarizacijom sekretornih završetaka pod uticajem akcionog potencijala od magnocelularnih neurosekretornih neurona. Oslobođanje OT delimično nastaje zbog smanjene K⁺ provodljivosti, i povećanog priliva Ca²⁺ jona, ističu isti autori. Elektrofiziološki snimci pokazuju da, neposredno pre svakog istiskivanja mleka, čitava neurosekretorna OT populacija stvara sinhronizovanu eksploziju akcionih potencijala što dovodi do oslobođanja OT iz nervnih završetaka neurohipofize. Mlečnost krava može biti kontrolisana putem bioinformacionih signala odnosno povećanje mlečnosti može biti izazvano-stimulisano elektromagnetnim talasom – informacijom. Nakon bioinformatičke stimulacije mleko ne menja svoje biološke osobine. Pokazano je da varijacije u koncentraciji hormona i elektrolita pod dejstvom EMF mogu dovesti do fizioloških promena i uticati pozitivno na proizvodnju mleka. Razumevanje bioinformatičkih procesa i tehnologija može biti od velike važnosti u procesu povećanja proizvodnje mleka kod krava, posebno ovakve stimulacije ne bi trebale da imaju bilo kakve neželjene efekte.

Ključne reči: krave, biostruje, elektromagnetno polje, joni, oksitocin, proizvodnja mleka.

ABSTRACT

Bioinformatics is a science that deals with bio-informational processes and phenomena in living cells during the informational action of light - electromagnetic waves, ionizing radiation, bacteria and viruses, biologically active and chemical substances. Electromagnetic field (EMF) is a flow of energy in the form of

an electric and magnetic field that together make up an EM wave. These two components of the EM wave oscillate in phase normal to each other and perpendicular to the direction of energy propagation. In biological systems, electrical phenomena are represented by electrical and ionic currents, and they are caused and carried by ions. Bioelectrical phenomena include transmembrane potentials, i.e. resting membrane potential, action potential and local potentials. Cell excitability is influenced by the concentrations of K⁺ and Ca²⁺ in the extracellular fluid. Oxytocin (OT) release is a Ca²⁺ dependent act that is normally triggered by action potential depolarization of secretory terminals from magnocellular neurosecretory neurons. The release of OT is partly due to reduced K⁺ conductivity and increased influx of Ca²⁺ ions, the same authors point out. Electrophysiological recordings show that, immediately before each milk ejection, the entire neurosecretory OT population creates a synchronized explosion of action potentials, which leads to the release of OT from the nerve endings of the neurohypophysis. The milk production of cows can be controlled by means of bioinformational signals, that is, the increase in milk production can be induced-stimulated by an electromagnetic wave - information. After bioinformatic stimulation, milk does not change its biological properties. It has been shown that variations in the concentration of hormones and electrolytes under the influence of EMF can lead to physiological changes and have a positive effect on milk production. Understanding bioinformatics processes and technologies can be of great importance in the process of increasing milk production in cows, especially if stimulation of the cows should not have any side effects.

Key words: cows, biocurrents, electromagnetic field, ions, oxytocin, milk production

BIOINFORMATIKA I ELEKTROMAGNETNO POLJE

Bioinformatika (grč. *Bios* – život; engl. *Informatics*) je nauka koja se bavi bioinformacionim procesima i pojavama u živim ćelijama pri informacionom delovanju svetlosti – elektromagnetnih talasa, jonizujućeg zračenja, bakterija i virusa, biološki aktivnih i materija hemijske prirode. Prvi bioinformatički programi su bili razvijeni za DNK sekvencijalnu analizu. Poslednja naučna bioinformatička istraživanja usmerena su na ćeliju i međućelijske komunikacije. Više decenija unazad veoma aktivno se proučavaju principi delovanja bioloških materija na izolovane organe kod ljudi i životinja, sa posebnim naglaskom na informaciono stanje ćelija. Utvrđeno je da hemijski molekuli utiču na ćelijsku strukturu, kako neposrednim kontaktom, tako i indirektnim delovanjem. U svim eksperimentima, biološki efekat na ćelije je zavisio ne samo od doza postojećih materija i njihovih energija, već od kvaliteta informacije tj. informacione komponente. Ćelija je jasno reagovala na strukturu informacionog polja materije, pri čemu prenošenje signala nije zavisilo od količine (materijalne doze) hemijske supstance i energije.

Elektromagnetno polje (EMF) predstavlja protok energije u formi električnog i magnetnog polja koji zajedno čine EM talas. Ove dve komponente EM talasa osciluju u fazi normalno jedna na drugu i upravno na pravac prostiranja

energije. U svetlu moderne kvantne teorije, elektromagnetno zračenje se definiše kao protok fotona koji se kroz vakuumski prostor kreću brzinom svetlosti ($c=3 \times 10^8$ m/s). Svaki od fotona nosi određenu energiju koja se povećava srazmerno povećanju frekvencije (1). Sposobnost recepcije magnetnog polja (MF) Zemlje zauzima posebno mesto među mnoštvom mehanizama pomoću kojih živi organizmi nastoje da dobiju informaciju od sveta koji ih okružuje. Poznato je da geomagnetno polje (GMF) može uticati na migraciju životinja i njihovo ponovno vraćanje (2). Živa bića se rađaju i rastu u prisustvu više fizičkih polja, kao što su gravitacijsko i geomagnetno polje (3). Pored toga, istraživanja (4-6) pokazuju da, drugi celularni elementi poput mikrotubula, igraju važnu ulogu u interakciji između ćelije i EM polja. Mikrotubule su komponente citoskeleta i sastoje se od tubulina. To su cilindrični polimeri 25 nm u prečniku i 100 nm dužine. Mikrotubule imaju učešća u kretanju, rastu, obliku ćelija, kao i u organizaciji funkcija unutar ćelija (uključujući i neurone) (7). Tubulin proteini koje sadrže mikrotubule sastavljeni su od alfa i beta monomera, koji stvaraju dipole što dovodi do feroelektričnih svojstava (8). Zbog toga, mikrotubule su visoko polarne (električne) strukture koje omogućavaju proizvodnju EM polja (8,9). Dalje, izlaganje MF može indukovati efekte u mikrotubularnoj organizaciji (10). Veoma kratko izlaganje MF izazvalo je samoorganizovanje u mitohondrijama, koje su centrala mnogih funkcija u ćeliji. Sposobnost životinja u korišćenju informacija

GMF u orijentaciji i navigaciji je dobro dokumentovana, i poznata kao magnetorecepcija (11). Više laboratorijskih ogleda svedoče da, društveni insekti, kao što su pčele i mravi, mogu koristiti magnetno polje kao informaciju u svojoj orijentaciji (12).

BIOSTRUJE, JONI I NEUROENDOKRINI ODGOVOR OKSITOCINA

Poznato je da biostruje nastaju kao posledica električne aktivnosti ćelija, posebno mišićnih i nervnih. Električno aktivan deo ćelije, koji transformiše hemijsku energiju u električnu, je ćelijska membrana. Procesi, koji protiču u njoj, definišu sliku biomagnetskih polja, ili kako se kaže, biomagnetskih signala. Bioelektrični fenomeni su kontrolni sistemi koji sinhronizuju funkcije najvećeg broja ćelija. U biološkim sistemima električni fenomeni su predstavljeni električnim i jonskim strujama, i njih izazivaju i prenose joni. U bioelektrične fenomene spadaju transmembranski potencijali i to mirovni membranski potencijal, akcioni potencijal i lokalni potencijali. Na ekscitabilnost ćelije utiču koncentracije K^+ i Ca^{2+} u estracelularnoj tečnosti.

Treba istaći da joni kalcijuma (Ca^{2+}) veoma utiču na aktivaciju i deaktivaciju Na^+ - i K^+ -kanala, što se pokazalo delovanjem na mišićne i nervne ćelije. Smatra se da je i u osnovi ovog procesa promena konformacije lipoproteinskog kompleksa kanala pod uticajem jona Ca^{2+} (13). Aktivacija ćelijske membrane predstavlja otvaranje potencijal zavisnih, transmitter zavisnih i drugih jonskih kanala (14). Stimulacija ćelijske membrane može biti električne, toplotne, mehaničke, hemijske i druge prirode. Kada akson stimuliramo električnim stimulusom otvaraju se Na^+ kanali u Ranvijerovom čvoru, što omogućava difuziju Na^+ jona u ćeliju, dok joni K^+ izlaze iz ćelije tj. i jedni i drugi joni (Na^+ i K^+) kreću se iz sredine veće koncentracije u sredinu niže koncentracije (koncentracioni gradijent). Unutrašnja površina membrane na mestu nadražaja postaje pozitivna, a spoljašnja negativna, što dovodi do promene vrednosti membranskog potencijala (od $-70mV$ prema 0). Taj proces se naziva *depolarizacija membrane*. Kod aksona se vrednost menja od $-85mV$ ka $+30mV$. Izlučivanje mleka iz mlečne žlezde je urođeni refleks koji se javlja kao odgovor na taktilnu stimulaciju mlečnih žlezda kroz neuroendokrini refleksni luk (15). Istiskivanje mleka je aktivni transport alveolarnog mleka u odeljak

cisterne (16). Stimulacijom receptora na papilama, impulsi se prenose aferentnim vlaknima preko kičmene moždine do mozga, tačnije do paraventrikularnog i supraoptičkog jezgra hipotalamusa, u kojima je sintetizovan oksitocin. OT se potom transportuje do zadnjeg režnja hipofize (neurohipofize), odakle se oslobađa u cirkulaciju (17). Putem krvi oksitocin dospeva do oksitocin-receptora na mioepitelnim ćelijama koje okružuju mlečne alveole i smeštene su duž mlečnih kanalića. Ova interakcija hormon-receptor izaziva kontrakciju mioepitelnih ćelija, koje potiskuju mleko iz alveola i kanalića u cisternu mlečne žlezde (18), odnosno, povećava se pritisak po okviru mlečne žlezde i nastaje ejakcija mleka (19). Unutar hipotalamusnih jezgara, isti neuroni koji proizvode OT primaju ekscitatorne signale holinergičkih neurona za prenos signala do hipofize. Ova sekvenca predstavlja eferentnu komponentu neuroendokrinog refleksa. Oslobađanje OT je Ca^{2+} zavisni akt koji je normalno izazvan depolarizacijom sekretornih završetaka pod uticajem akcionog potencijala od magnocelularnih neurosekretornih neurona. Oslobađanje OT delimično nastaje zbog smanjene K^+ provodljivosti, i povećanog priliva Ca^{2+} jona, ističu isti autori. Elektrofiziološki snimci pokazuju da, neposredno pre svakog istiskivanja mleka, čitava neurosekretorna OT populacija stvara sinhronizovanu eksploziju akcionih potencijala što dovodi do oslobađanja OT iz nervnih završetaka neurohipofize (15,16).

KONTROLA MLEČNOSTI POMOĆU BIOINFORMACIONIH SIGNALA I UTICAJA NA KONCENTRACIJU OKSITOCINA, Na, K I Ca

Mlečnost krava može biti kontrolisana putem bioinformatičkih signala odnosno povećanje mlečnosti može biti *izazvano-stimulisano elektromagnetnim talasom – informacijom*. Nakon bioinformatičke stimulacije mleko ne menja svoje biološke osobine. Razumno je pretpostaviti da, eventualne varijacije u koncentraciji ispitivanih parametara (hormona i elektrolita) mogu dovesti do fizioloških promena.

DNK je biološki internet. Biološki prenosioci informacija nisu samo materijalne prirode, već su to i energetski prenosioci. Ti energetski signalni mehanizmi, kao npr. elektromagnetne frekvence, mogu biti stotinu puta efikasniji u prenošenju

podataka iz okoline u odnosu na hemijske signale, kao što su hormoni, neurotransmiteri, faktori rasta i sl. OT, hormon zadnjeg režnja hipofize, poseduje nekoliko fizioloških tj. biohemijskih aktivacionih efekata, tokom kojih izaziva kontrakciju mioepitala mišićnih ćelija oko mlečnih kanalića, izazivajući ispuštanje mleka. Aferentno, neurobiofeedback-om se posle nekog vremena opet izaziva ispuštanje OT i tako ukруг, sve dok su zadovoljeni prirodni fiziološki principi u tom smislu. Aktivacija hipofizalnog OT zavisi od aferentnih nervnih impulsa, koji se generišu akcionim potencijalom generisanim u ćelijama. Akcioni potencijal je unutarćelijski doprinos fizioloških radnji ćelije. Te fiziološke radnje se dešavaju pri aktivaciji ćelijskih receptora. Ćelijski receptori se stvaraju tokom diferencijacije ćelije. Diferencijacija ćelija zavisi od ekspresije gena, tj. aktivnosti DNK. Aktivnost nervnih ćelija je s toga, filogenetski determinisana. Aktivacija receptora se dešava uz pomoć neurotransmitera. Svaka aktivacija putem neurotransmitera ostavlja elektromagnetski efekat. Aktivacija navedenog ćelijskog DNK se vrši preko biofeedback (bfb) sistema. Pri biofeedback aktivnostima emituju se fotoni koji imaju određena svojstva koja se mogu snimiti određenim načinom i sačuvati u bazi podataka (20). Pošto su ćelijski receptori u biofeedback sprezi, oni reaguju na specifičnu elektromagnetnu ekscitaciju, te automatski aktiviraju biofeedback, koji aferentno ekscitira hipofizu. Elektromagnetski efekat se detektuje u samoj ćeliji, kada se prepozna aktivacioni signal koji tako pokreće efekat akcionog potencijala, a koji se poznatim tokom prenosi aferentno do neurohipofize. Takav aferentni signal dovodi do aktivacije ćelija koje luče oksitocin. Upotrebom EM stimulatora aktiviraju se specifični receptori specifičnih tkiva, koji EM stimulacijom posredno aktiviraju DNK ćelije, a dalji tok stimulacije hipofize i lučenja oksitocina ide svojim prirodnim tokom. U prvoj fazi se na specifičan način vrši snimanje nervnih impulsa i čuvanje istih u bazi podataka. Oblik sačuvanih snimaka može biti digitalni i analogni. Taj postupak je predmet posebnog patenta. Svi nervni signali su u prirodi digitalni. Uređaj koji se koristi u prirodi je digitalni elektromagnetni stimulator specifičnih ćelijskih receptora. Koristi se Delta Sigma (DS) modulacioni princip aktivacije. DS modulator snimljeni analogni signal prevodi u digitalni oblik. Takav digitalni signal u takvom modulatoru dovodi do elektromagnetskog oscilovanja na frekvenciji od

oko 400 kHz. Tako ta frekvencija postaje noseći talas snimljene digitalne biofeedback informacije.

DS modulator šalje signal koji se dovodi na *trigger* kola 555, što dovodi do pobude izlaznog stimulišućeg kola 555. Kolo je spojeno sa antenskim kalemom 0,39 mH. Takav kalem, delujući kao antena, šalje elektromagnetni signal u prostor, kružno oko 10 m. Kalem, ili više njih, se postavlja kod ciljane životinje.

Ukoliko se u okolini nalazi više životinja, koristi se efekat interferentnog elektromagnetskog polja, gde se fenomen enterferencije koristi da se pokrije sve veći prostor elektromagnetskim poljem navedenih karakteristika.

Već duži niz godina se ispituje mehanizam interakcije između ekstremno niske frekvencije EMF i ćelijske membrane i bioloških sistema uopšte (21-24).

Tajmerom se reguliše doza EM zračenja, koja podrazumeva periode zračenja i periode pauze. Na ulaz DS modulatora se dovodi ekcizacioni signal koji u sebi sadrži modulisanu digitalnu informaciju, ranije snimljenu u prvoj fazi, prethodno i u knjizi navedenim postupkom (20). Na životinje se primenjuje jedinstven protokol bioinformatičke stimulacije u trajanju od 30 dana, sledećom dinamikom : 15 minuta stimulacija, 8 sati pauza. Uporedo sa EM stimulacijom čuje se muzika Baha i Mocarta. Takav ciklus stimulacije traje do kraja ogleada. Prvobitno, tj. prva šest dana su stimulatori bili postavljeni (15 uređaja) naizmenično po jedan dan (30 ekperimentalnih životinja) u predelu glave životinja.



Slika 1. Postavljanje elektromagnetnog stimulatora i sakupljača talasa na životinje i u objektu

Nakon ovog perioda, uređaji su pričvršćeni za poprečnu metalnu šipku, postavljeni iznad glave životinja, na visini od oko 1m odstojanja. S obzirom da se u ogleđnoj grupi nalazi 30 životinja, koje se slobodno kreću u okviru objekta, uređaji su postavljeni tako da dovode do interferentnog pojačavanja emitovanog signala. Iskorišćeni su uslovi faznog pojačanja, tako da svi ćelijski receptori dobijaju dovoljan prag elektromagnetnog talasa, ali na informaciju reaguju samo oni receptori koji prepoznaju i demodulišu ulazni, ranije snimljeni, kodirani elektromagnetski emitovani interferentni talas.

Trend povećanja koncentracije oksitocina se uočava u toku trajanja ogleđnog perioda i nastavlja se sve do kraja i nakon perioda elektromagnetne stimulacije i to na nivou statističke značajnosti od 1%. 17-og dana ogleđda, merenja su izvršena kod 30 grla u ogleđnoj i 30 grla u kontrolnoj grupi

životinja, pa imamo drugačije tablične vrednosti oksitocina. Dobijena razlika od 52,9 pg/ml u korist ogleđne grupe je statistički vrlo značajna, sa zabeleženom maksimalnom vrednošću oksitocina 483,9 pg/ml u ogleđnoj grupi. Razlika u odnosu na period pre tretmana iznosi 49,1 pg/ml. Srednja vrednost oksitocina u ogleđnoj grupi životinja je iznosila 251,72 pg/ml, što je više za 61,71 pg/ml u odnosu na nivo oksitocina pre početka ogleđda (190,01 pg/ml). Statistički veoma značajna razlika (164,9^{**}) se javlja i 26 – dana ogleđnog perioda sa zabeleženom maksimalnom vrednošću oksitocina u ogleđnoj grupi od 595,0 pg/ml. Srednja vrednost oksitocina u ogleđnoj grupi iznosi 361,92, pri čemu je izračunata razlika u sadržaju oksitocina u odnosu na period pre stimulacije 171,1 pg/ml. Dva dana nakon perioda stimulacije nastavlja se trend povećanja koncentracije oksitocina u ogleđnoj grupi životinja, pri čemu je zabeležena maksimalna vrednost oksitocina od 596,7 pg/ml u ogleđnoj grupi i statistički vrlo značajna razlika između grupa na nivou od 1% (143,4^{**}). Razlika u sadržaju oksitocina u odnosu na period pre ogleđda iznosi 192,16 pg/ml. Nadalje, sve razlike koje se javljaju, u sadržaju oksitocina između ogleđne i kontrolne grupe, su vrlo značajne, na nivou od 1% i to kod sva tri modela obračuna testa koji su korišćeni. Nakon završetka stimulacije (12 dana) trend povećanja sadržaja oksitocina nastavlja svoj rast, sa zabeleženom maksimalnom vrednošću u ogleđnoj grupi od 589,2 pg/ml i maksimalnom srednjom vrednošću od početka ogleđda 383,98, što je za 193,97 pg/ml više u odnosu na period pre stimulacije. Dakle, elektromagnetnom stimulacijom, ne samo da je izvršena aktivacija hipofizalnog oksitocina, koji izaziva kontrakciju mioepitelnih mišićnih ćelija oko mlečnih kanalića, izazivajući ispuštanje mleka, već je i stvoren uslovni refleks, čime se i objašnjava povećanje koncentracije ovog hormona i nakon završetka ogleđnog perioda. Zabeležene su znatno veće vrednosti kod sva tri modela obračuna testa statističke značajnosti. Tendencija porasta nivoa oksitocina utvrđena u ovom ogleđdu, takođe je zabeležena u radu Lefcourt i saradnika (25), pri povremenoj stimulaciji, sa zabeleženim maksimalnim vrednostima kod većine tretiranih životinja od 350 pg/ml.

Tabela 1. Koncentracija oksitocina (OT, pg/mL) na početku i na kraju ogleda

Nedelja	Grupa	Grla	Mean±SE	SD	CV%	min.-maks.	Razlik a
Pre tretmana	<i>ogled.</i>	60	190,01 12,6	65,7	34,7	67,6-323,8	3,8 ^{NS}
	<i>kontr.</i>	60	193,81 12,2	67,3	34,8	66,3-337,1	
UKUPNO	<i>ogled.</i>	180	293,30 17,8	99,4	33,9	61,2-596,7	84,2**
	<i>kontr.</i>	180	209,11 14,51	75,9	36,3	66,3-477,0	

Na⁺ i K⁺ imaju tendenciju porasta tokom čitavog perioda stimulacije kod gotovo svih oglednih životinja, i to na nivou statistički vrlo značajnih razlika (p<0,01) u odnosu na period pre tretmana. Razlika u sadržaju Na⁺ pre i u toku ogleda od 18,4 mmol/l je statistički vrlo značajna. Zabeležene maksimalne vrednosti Na⁺ pre ogleda iznose 135 mmol/l i nalaze se na donjoj fiziološkoj granici, dok su vrednosti Na⁺ u toku perioda stimulacije bile veće (140 mmol/l) i u granicama referentnih vrednosti i dosežu vrednosti gornje fiziološke granice (26-28). Minimalne vrednosti Na⁺ su daleko ispod nivoa referentnih vrednosti. Prosečna koncentracija Na⁺ u toku stimulacije (131,3 mmol/l) je bila veća u odnosu na vrednosti pre ogleda (112,9 mmol/l). Mala je razlika u sadržaju K⁺ pre i u toku ogleda od 0,57 mmol/l, ali statistički vrlo značajna. Prosečna vrednost K⁺ pre ogleda (3,52 mmol/l) se nalazi ispod donje fiziološke granice (26-28) dok je u periodu stimulacije nešto veća (4,09 mmol/l) i nalazi se na donjoj fiziološkoj granici. Zabeležene maksimalne vrednosti K⁺ pre ogleda (4,8 mmol/l) se nalaze u granicama referentnih vrednosti, dok se u toku stimulacije (5,8 mmol/l) nalaze na gornjoj fiziološkoj granici (26-28).

Kod svih životinja u ogledu zabeleženo je statistički vrlo značajno povećanje nivoa Ca²⁺ u krvnom serumu krava u toku perioda stimulacije, što se nesumnjivo može pripisati uticaju EM stimulacije. To se poklapa sa rezultatima dobijenim u radu (29), kod Holštajn nebremenitih junica, gde su zabeležene gotovo isto veće vrednosti nivoa Ca²⁺, ne samo u krvnoj plazmi, već i cerebrospinalnoj tečnosti u toku, i posle perioda tretmana. Evidentno

je razlog tome uticaj EMF, ističu isti autori. Tendencija povećanja nivoa Ca²⁺ se javlja i u CSF, pri čemu krvno moždana barijera može biti izmenjena tokom perioda ekspozicije, omogućavajući veći priliv kalcijuma u CSF, kao što je prikazano u ogledima sa pacovima (30). Nakon izlaganja hipofize pacova magnetnom polju 50 Hz u trajanju od 30 min. zabeležen je povećan nivo Ca²⁺ jona (31). I u radu (32), takođe je uočeno povećanje nivoa Ca²⁺ u serumu izloženih pacova.

Na osnovu dobijenih vrednosti Ca²⁺ prikazanih u tabeli male su razlike u sadržaju Ca²⁺ pre i u toku ogleda od 0,34 mmol/l, ali statistički vrlo značajne. Prosečne vrednosti Ca²⁺ pre ogleda (1,77 mmol/l) se nalaze ispod donje fiziološke granice, dok se prosečne vrednosti Ca²⁺ u toku stimulacije (2,11 mmol/l) nalaze na donjoj granici fizioloških vrednosti (26-28). Maksimalne vrednosti Ca²⁺ pre ogleda (2,65 mmol/l) dosežu gornju fiziološku granicu, a u toku stimulacije (2,92 mmol/l) nivo Ca²⁺ premašuje gornje referentne vrednosti (26-28).

Na osnovu iznetih rezultata gore pomenutih ispitivanja, može se zaključiti da joni Ca²⁺, Na⁺ i K⁺ igraju ključnu ulogu u odgovoru životinja na EM stimulaciju ELF, jer se promene dešavaju i na nivou jonskih kanala, što ima za posledicu aktivaciju Na⁺/K⁺ -ATPaze koja teži da uspostavi jonsku homeostazu i samim tim dodatnu potrošnju ATP-a (33). Imajući u vidu jonsku osnovu akcionog potencijala, koji se odvija preko aktivnosti voltažno zavisnih jonskih kanala za Na⁺ i K⁺, možemo pretpostaviti da je efekat primenjene EM stimulacije ostvaren na nivou ćelije.

Tabela 2. Koncentracija Na⁺, K⁺ i Ca²⁺ pre i tokom oglada

	Faza oglada	Grla	X±Sx	SD	CV%	min.-maks.	Razlika
Na (mmol/l)	Pre	60	112,9±2,23	16,1	14,2	73-135	18,4**
	U toku	60	131,3±1,69	12,2	9,3	76-140	
K (mmol/l)	Pre	60	3,52±0,07	0,55	15,8	2,3-4,8	0,57**
	U toku	60	4,09±0,08	0,56	13,8	2,5-5,8	
Ca (mmol/l)	Pre	60	1,77±0,04	0,28	16,1	1,29-2,65	0,34**
	U toku	60	2,11±0,04	0,29	13,9	1,32-2,92	

Ustanovljena je i linearna korelativna povezanost između koncentracije oksitocina i ostalih elektrolita u krvi ispitivanih životinja, a rezultati sa regresionim jednačinama prikazani u tabeli 3. Može se iz podataka videti da su svi koeficijenti korelativne povezanosti ili negativni do pozitivno jako slabi, osim za povezanost između oksitocina i

magnezijuma, gde praktično nema korelacije (-0,60) i bez statističke značajnosti. Koeficijenti korelativne povezanosti između ostalih elemenata su statistički značajni. Ako posmatramo koeficijent korelativne povezanosti između oksitocina (sa jedne strane), kalijuma i kalcijuma, sa druge, možemo uočiti da je statistički vrlo značajan.

Tabela 3. Koeficijenti korelativne povezanosti i regresione jednačine između koncentracije oksitocina i elektrolita u krvi ispitivanih krava Holštajn frizijske rase

Elektrolit	Koeficijent korelacije R	Greška korelacije	t-vrednost	p-vrednost	Regresiona jednačina
Na ⁺	0,150*	0,012	1,534	0,03	Na=0,313 x Oxitocin
K ⁺	0,243**	0,09	2,535	0,01	K=0,01 x Oxitocin
Ca ²⁺	0,200**	0,01	2,060	0,01	Ca=0,005 x Oxitocin

Zbirnim obračunom za oglednu (1.260) i kontrolnu (1.260) grupu životinja, možemo ustanoviti da je povećanje prinosa mleka u oglednoj grupi, u odnosu na kontrolnu grupu životinja, statički vrlo značajno (2,09**). Na osnovu podataka Glavne odgajivačke organizacije za AP Vojvodinu (2015) proizvodnja mleka na farmama AP Vojvodine, gde je 80% zastupljena holštajn frizijska rasa goveda, proizvodnja mleka je bila niža (20,32 kg) u odnosu na prosečne rezultate (31,10 kg) dobijene u ovom ogledu. Izloženost EM polja (60

Hz) imalo je uticaja na povećanje prinosa mleka od 18,7 do 19,2 kg/dan odn. 0,5 kg (34), što je niže u odnosu na povećanje dobijeno u ovom istraživanju. Naši rezultati su takođe veći u odnosu na rezultate (35,36) gde je zabeleženo neznatno povećanje prinosa mleka (0,1-0,5 kg). Dok u radovima (37,38) nije bilo značajnijih promena u proizvodnji mleka izloženih krava, u ispitivanjima (39,40) prinos mleka je bio neznatno smanjen (za 0,16 kg) u toku perioda izloženosti naizmjenične struje od 4 mA (60 Hz), ali ne i statistički značajno (p>0,05).

Tabela 4. Proizvodnja mleka kod krava u oglednoj i kontrolnoj grupi

Nedelja	Grupa	Grla	$\bar{x} \pm \bar{Sx}$	SD	CV%	min.- maks.	Razlika
Priprema	ogled.	210	31,50	0,32	4,63	15,5-43,4	0,67 ^{NS}
	kontr.	210	30,83	0,31	4,43	20,2-43,6	
UKUPNO	ogled.	1.260	31,10	0,29	4,77	14,7-59,0	2,09**
	kontr.	1.260	29,01	0,31	4,99	11,3-43,6	

PREDNOSTI ELEKTROMAGNETNE STIMULACIJE I NJENE INTERAKCIJE SA BIOSTRUJAMA U PROIZVODNJI MLEKA

Na osnovu svega navedenog, integrišući fiziološka znanja i znanja dobijena iz eksperimenata zaključujemo da postoje određene prednosti ovakvog vida stimulacije. Metod je konforan i ne remeti dnevni ritam životinja, praktično izostaju neprijatnosti. Naprotiv, uz muziku Baha i Mocarta, uočeno je da su životinje opuštenije, ležernije i u većoj međusobnoj harmoniji. Za razliku od ogledne grupe, životinje u kontrolnoj grupi su bile

nekompatne i uznemirenije, posebno u večernjim satima. Postupak je neinvazivan i bezbolan, moguća je primenljivost u farmskim uslovima držanja životinja, pri čemu nije ugrožena niti umanjena njihova produktivna sposobnost, a uz adekvatne uslove ishrane i nege. Postiže se veći ekonomski efekat, jer uz isti utrošak hrane, dobija se veći prinos mleka po grlu. Dobijeni rezultati u ovom radu, nedvosmisleno potvrđuju značaj biofizičkog delovanja na organizam životinja. Primenom EM stimulacije proizvodnja mleka se može značajno povećati, bez narušavanja prirodnog balansa, pri čemu hemijski sastav mleka ostaje nepromenjen.

REFERENCE

1. Jokela K. Ionisoimaton säteily ja sähkömagneettiset kentät. In: Sähkömagneettiset kentät. Nyberg H, Jokela K (eds.) Säteily- ja ydinturvallisuus - sarja, osa 6. Karisto, Hämeenlinna pp. 11-25, 2006.
2. Wiltschko R., Wiltschko W. Magnetoreception. *BioEssays* 2006, 28, 2, 157-168.
3. Belova N., Avalos-Acosta D. The effect extremely low frequency alternating Magnetic fields on the behaviour of animals in the presence of the Geomagnetic fields. *Journal of biophysics* 2015, 2015, 423838.
4. Cifra M., Fields J.Z., Farhadi A. Electromagnetic cellular interaction. *Prog.Biophys.Mol.Biol.* 2011, 105, 223-246, doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2010.07.003.
5. Havelka D., Cifra M. Calculation of the electromagnetic fields around a mitochondria. *Acta Polytechnia* 2009, 49, 58-63.
6. Havelka D., Cifra M., Kučera O., Pokorný J., Vrba J. High-frequency electric fields and radiation characteristics of cellular microtubule network. *J.Theor.Biol.* 2011, 286, 31-40.
7. Gu J., Firestein B.L., Zheng J.Q. Microtubules in dendritic spine development. *J.Neurosci.* 2008, 28, 12120-12124.
8. Tuszynski J.A., Hameroff S., Satarics M.V., Trpisove B., Nip L.A. Ferroelectric behavior in microtubule dipole lattices: implications for information processing, signalling and assembly/disassembly. *J.Theor.Biol.* 1995, 174, 371-380.
9. Hideg E., Kobayashi M., Inaba H. Spontaneous ultraweak light emission from respiring spinach leaf mitochondria. *Biochemi. Biophys.Acta (BBA)- Bioenerg.*, 1991,1098, 27-31.
10. Glade N., Tibony J. Brief exposure to high magnetic fields determines microtubules self-organisation by reaction-diffusion processes. *Biophys.Chem.* 2005, 115, 29-35.
11. Wiltschko R., Wiltschko W. Magnetic orientation of animals. Springer, Berlin, str. 27-41, 19995.
12. Wiltschko W., Wiltschko R. Magnetic orientation in birds, *Journal of experimental Biology* 1996, 199, 1, 29-38.
13. Raković D. Osnovi biofizike, IASC & IEFPG Beograd, str.244, 2008.
14. Tenforde T.S., Kaune W.T. Interaction of extremely low frequency electric and magnetic fields with humans. *Health. Phys.* 1987, 53(6): 585-606.
15. Crowley W.R. Neuroendocrine regulation of lactation and milk production, *Compl. Physiol.* 2015, 5(1), 255-291.
16. Bruckmaier R.M. Normal and disturbed milk ejection in dairy cows, *Domestic Animal Endocrinology* 2005, 29: 268-273.
17. Svennersten S.K., Olsson K. Endocrinology of milk production, *Domestic Animal endocrinology* 2005, 29 (2): 241-258.
18. Reece O.W., Erickson H.H., Golf P.J., Vemura E.E. *Duke's Physiology Domestic Animals*, 13th edition, by John Wiley&Sons,Inc, 2015.
19. Đoković R., Cincović M., Belić B. Fiziologija i patofiziologija metabolizma krava u peripartalnom periodu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, str. 25-28, 2014.
20. Milankov Z. Efekat aure, Novi Sad, str. 7-10, 2015.
21. Baureus K.C.L., Sommarin M., Persson B.R., Salford L.G., Eberhardt J.L. Interaction between weak low frequency magnetic fields and cell membranes, *Bioelectromagnetics* 2003, 24(6): 395-402.
22. Foster K.R. Mechanism of interaction of extremely low frequency electric fields and biological systems, *Radiat.Prot.Dosimetry* 2003,106(4): 301-310.

23. Lucietta B., Grazia T., Fabio F., Michela Z., Pietro M., Maurizio B., Francesco B. Weak static and extremely low frequency magnetic fields affect in vitro pollen germination, *The Scientific World Journal* 2011, 11-875-890.
24. Panagopoulos D.J., Karabarounis A., Margaritis L.H. Mechanism for action of electromagnetic fields on cells, *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 2002, 298(1): 95-102.
25. Lefcourt A., Akers R.M. Endocrine responses of cows subjected to controlled voltages during milking. *J. Dairy Sci.* 1982, 65:2125-2130.
26. Kaneko J.J., Harvey W.J., Bruss L.M. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Body fluid compartments*, Six edition, Academic Press, str.531, 1989.
27. Jazbec I. *Kliničko laboratorijska dijagnostika*, Veterinarska fakulteta, Ljubljana, 1990.
28. Jovanović M. *Fiziologija domaćih životinja*, Beograd-Zagreb, 1988.
29. Burchard J.F., Nguyen D.H., Block E. Macro and trace element concentrations in blood plasma and cerebrospinal fluid of dairy cows exposed to electric and magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1999b, 20:358–364.
30. Shivers R.R., Kavaliers M., Teskey G.C., Prato F.S., Pelletier R.M. Magnetic resonance imaging temporarily alters blood barrier permeability in the rat. *Neurosci. Lett.* 1987, 776:21-31.
31. Barbier E., Dufy B., Veyret B. Stimulation of Ca²⁺ influx in rat pituitary cells under exposure to a 50 Hz magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 1996, 17(4):303- 311.
32. Li K., Ma S., Ren D., Li Y., Ding G., Liu J., Guo Y., Gio G. Effect of Electromagnetic Pulse in Serum element levels in rat, *Biological trace Element Research* 2014, 158, 1, 81-86.
33. Bernardini C., Zannoni A., Turba M.E., Bacci M.L., Forni M., Mesirca P., Remondini D., Castellani G., Bersani F. Effect of 50 Hz sinusoidal magnetic fields on Hsp27, Hsp70, Hsp90 expression in porcine aortic endothelial cells (PAEC). *Bioelectromagnetics* 2007, 28(3): 231-237.
34. Rodriguez M., Petitclerc D., Burchard J., Nguyen D.H., Block E. Blood melatonin and prolactin concentrations in dairy cows exposed to 60 Hz electric and magnetic fields during 8 h photoperiod. *Bioelectromagnetics* 2004, 25:508–515.
35. Aneshansley D.J., Gorewit R.C., Price L.R. Cow sensitivity to electricity during milking. *J.Dairy Sci.* 1992, 75(10): 2733-2741.
36. Aneshansley D.J., Price L.R. Effect of voltages on cows over a complete lactation: 1. Milk yield and composition. *J.Dairy Sci.* 1992, 75(10): 2719-2725
37. Reinemann D.J., Stetson L.E., Laughlin N.K. Water, feed, and milk production response of dairy cattle exposed to transient currents. ASAE, *Annual International Meeting Technical Paper no. 95-3276*, 1996.
38. Reinemann D.J., Stetson L.E., Laughlin N.K. Water, feed, and milk production response of dairy cattle exposed to transient currents. *Trans. ASABE* 2005, 48(1): 385-392.
39. Gorewit R.C., Aneshansley D.J., Price L.R. Effect of voltages on cows over a complete lactation: 2. Health and reproduction. *J. Dairy Sci.* 1992, 75(10): 2726- 2732.
40. Gorewit R.C., Scott N.R., Czarniecki C.S. Response of dairy cows to alternating electrical current administered semi randomly in a non-avoidance environment. *J.Dairy Sci.* 1985, 68(3): 718-725.