

Vrijednost koncentracije glukoze u krava ovisno o geografskom području Bosne i Hercegovine i sezoni uzorkovanja

Nejra Hadžimusic i Amina Hrković-Porobija*



Uvod

Tijekom posljednjih desetljeća došlo je do znatnog poboljšanja genetskog potencijala visokomlijičnih krava, što se očitovalo uvozom Holstein-friesian pasmine goveda. Holstein pasmina predstavlja jednu od najmljičnijih pasmina goveda. Nastala je u Americi od frizijskih goveda koje su nizozemski doseljenici 1620. godine uvezli na američki kontinent (Savić i Jovanović, 2007.). Intenzivnim seleksijskim radom usmjerenim k povećanju mlijecnosti, od frizijske pasmine kombiniranih svojstava s dobrim mlijecnim karakteristikama, dobivena je izrazito mlijeca Holstein-friesian pasmina. Holstein-friesian pasmina ima veliki potencijal za visoku mlijecnost koja se može postići samo u adekvatnim uvjetima uzgoja. Mlijecnost krava se ovisno o kvaliteti stada kreće od oko 8 000 kg mlijeka, pri čemu bikovske majke daju preko 11 000 kg mlijeka tijekom laktacijskog razdoblja od 305 dana (Savić i Jovanović, 2007.).

Metabolizam visoko mlijecnih krava je često opterećen, s obzirom na genetsku predispoziciju za visoku proizvodnju mlijeka, a i reproduktivne zahtjeve. Povećane energetske potrebe

za vrijeme gravidnosti i laktacije često ne prati adekvatan energetski unos te se kao posljedicajavla poremećaj funkcionarnog stanja pojedinih organa, najčešće jetre. Poremećena funkcija jetre povezana je s povećanom pojavnosću metaboličkih poremećaja, smanjenjem plodnosti i imunosupresijom, što životinje čini podložnim reproduktivnim poremećajima i zaraznim bolestima (Heuer i sur., 1999.). Opterećenost metabolizma krava je najviše izražena u peripartalnom, tranzicijskom periodu. U periodu laktacije su naročito izražene potrebe za metabolitima koji se kao prekursori koriste u mlijecnoj žlijezdi za sintezu laktoze, proteina i mlijecne masti (Bell, 1995.). Ukoliko nisu osigurani, životinja ulazi u stanje negativnog energetskog statusa sa svim posljedicama koje takvo stanje izaziva.

Na vrijednosti biokemijskih parametara utječu mnogi čimbenici, poput vrste, pasmine, spola, nutritivnog i zdravstvenog statusa, sezonalnih i fizioloških varijacija, gravidnosti i laktacije (Alonso 2000., Garcia i sur., 2000., Yokus i sur., 2004., Yokus i sur., 2006.). Navedeni čimbenici mogu utjecati na

Dr. sc. Nejra HADŽIMUSIC*, dr. med. vet., docentica (dopisni autor, email: nejra.hadzimusic@vfs.unsa.ba), mr. sc. Amina HRKOVIĆ-POROBIJA, dr. med. vet., viša asistentica, Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu, BiH

klinički "normalne" jedinke u referentnoj populaciji te prouzročiti signifikantne varijacije u referentnim vrijednostima (Henry i Reed, 1974.). S obzirom da je nemoguće uspostaviti pouzdane referentne vrijednosti za svaku jedinku pa čak ni za svaki laboratorij, od velikog su značenja „standardizirane“ referentne vrijednosti koje se odnose na referentne vrijednosti bazirane na populaciji. Prvi korak u uspostavljanju referentnog raspona je određivanje srednje vrijednosti koncentracije ispitivanog parametra i standardne devijacije. Potom se srednja vrijednost korigira u okviru od dvije standardne devijacije ($\bar{X} \pm SD$) te dobivena vrijednost predstavlja mogući referentni interval (Kaneko, 1997.). Za određivanje referentnih intervala potrebno je najmanje 60 klinički zdravih životinja (Stockham i Scott, 2002.). Vrijednosti objavljene od strane mnogih autora međusobno znatno variraju (Duncan i sur., 1994., Merck Veterinary manual, 2003.). Također, većina objavljenih referentnih intervala za goveda ima ustanovljene podjednake vrijednosti za goveda, bez razlika ovisno o starosti i spolu životinje te neovisno o fiziološkom statusu životinje.

Glukoza spada među najvažnije ugljikohidrate. Premalo glukoze vodi gladovanju, dok je suvišna količina toksična (Ramasamy i sur., 2006.). Glukoza je monosaharid, krajnji proizvod metabolizma ugljikohidrata, a iskorištava se kao energetski supstrat u mišićima, jetri, crijevima, bubrežima, eritrocitima i stanicama središnjeg živčanog sustava (engl. CNS). Iako većina tkiva pri nedostatku glukoze može prijeći na iskorištanje masti i proteina za dobivanje energije, glukoza je jedina hranjiva tvar koju mozak, mrežnica i zametni epitel gonada normalno mogu iskorištavati u dovoljnoj količini za optimalno zadovoljenje energetskih potreba. Glukoza je neophodna za rad CNS-a; naime, glukoza "izgara" u neuronima CNS-a trošeći tako 20% - 30% energije cijelog organizma (Jović i Vorko-Jović, 2008.).

Naročito značenje glukoza ima u laktaciji. Poznato je da je opskrba mlijecne žlijezde glukozom esencijalna za kontinuiranu laktaciju. U studiji koju su proveli Hardwick i suradnici (1963.) dokazano je da perfuzija tekućine bez glukoze kroz izoliranu mlijecnu žlijezdu dovodi do brzog izostanka sekrecije mlijeka. Slično i hipoglikemija u krava, izazvana aplikacijom inzulina, dovodi do smanjenja proizvodnje mlijeka (Rook i Hopwood, 1970.). Uloga glukoze u produkciji mlijecnog šećera, lakoze, je značajna. Naime, glukoza plazme je glavni prekurzor za lakozu mlijeka (Barry, 1964.).

Procijenjeno je da mlijecno tkivo krave *in vitro* iskoristi 62% glukoze za produkciju lakoze (Wood i sur., 1965.). Glavna metabolička razlika između preživača i nepreživača je nemogućnost ugljika glukoze da učestvuje u sintezi masnih kiselina u tkivu preživača, uključujući i mlijecnu žlijezdu. Dokazano je da manje od 0,5% masnih kiselina mlijeka vode podrijetlo iz glukoze (Hardwick i sur., 1963.).

Kralježnjaci nisu u mogućnosti probaviti celulozu iz biljnog materijala kojim se hrane vlastitim enzimima. Razlog tome je što je celuloza polimer glukoze gdje su pojedine jedinice glukoze međusobno povezane β -glikozidnim vezama, a enzimski sustav kralježnjaka može razoriti jedino α -glikozidne veze. U cilju probave celuloze koju unose, preživači su razvili simbolički odnos s bakterijama i protozoama koje žive u buragu i retikulumu, a koje su u stanju raskinuti β -glikozidne veze. Na taj način, mikroorganizmi koji žive u predželudcima probavljaju celulozu koju životinje unose hranom. Krajnji produkti fermentacije celuloze su niže masne kiseline: octena, propionska i maslačna. Ove masne kiseline se apsorbiraju direktno iz buraga i služe kao glavni izvor energije za preživače. Propionska kiselina je glavni prekurzor za sintezu ugljikohidrata kod odraslih preživača.

Zabilježeni referentni intervali za vrijednosti glukoze u krvi preživača su niži od onih kod monogastričnih životinja, a niži su i kod odraslih životinja u odnosu na telad (Kaneko i sur., 1997.). Vrijednosti glukoze se razlikuju ovisno o autorima, tako se prema navodima Radostits i suradnika (2000.) vrijednosti kreću od 2,49–4,16 mmol/L, prema navodima Merck Veterinary manual (2003.) vrijednosti su u rasponu od 2,3–4,1 mmol/L, a prema Kaneku i suradnicima (2008.) vrijednosti glukoze iznose 2,5–4,2 mmol/L.

Centralna uloga u održavanju normoglikemije pripada jetri, gdje se glukoza skladišti u obliku glikogena. Osim jetre, rezerve glukoze se nalaze i u skeletnim mišićima. U organizmu postoje endogeni izvori glukoze koji organizam snabdijevaju glukozom i onda kada se hranom ne unose dovoljne količine glukoze ili njenih polimera. Endogene izvore glukoze čine male količine endogene galaktoze, manoze i pentoza koje se pod određenim uvjetima mogu prevoditi u glukozu. Najveći endogeni izvor glukoze je jetrin glikogen. Razlaganje glikogena na glukozu naziva se glikogenoliza. Glikogen iz mišića se ne može direktno prevoditi u krvnu glukozu, ali se mlijeca kiselina, nastala razgradnjom mišićnog glikogena, može u jetri prevoditi u glukozu i glikogen.

Sinteza glukoze iz neugljikohidratnih izvora naziva se glukoneogeneza. Ovim mehanizmima (glikogenolizom i glukoneogenezom) održava se normalna koncentracija glukoze u krvi. Bitnu ulogu u održanju normoglikemije imaju i hormoni inzulin, glukagon, adrenalin, kortizol, hormon rasta i tiroksin. Homeostaza glukoze se primarno regulira antagonističkim djelovanjem glukagona i inzulina, hormona koje izlučuju α - i β -stanice Langerhansovih otočića pankreasa (Bansal i Wang, 2008.). Inzulin omogućava ulazak glukoze u stanice, on signalizira drugim tkivima organizma (mišićnim stanicama i

adipoznom tkivu) preuzimanje glukoze i njezino korištenje kao energenta (mišićne stanice) ili njezino pohranjivanje (adipozno tkivo). Rezultat je smanjenje koncentracije glukoze u krvi do razine koja nije štetna. Kada je razina glukoze u krvi niska, α -stanice Langerhansovih otočića pankreasa izlučuju hormon glukagon. Ovaj hormon ujetri djeluje tako da prouzroči razgradnju pohranjenog glikogena u glukozu koja se otpušta u cirkulaciju te na taj način povećava koncentraciju glukoze u krvi.

Hormon srži nadbubrežne žlijezde, adrenalin, prouzroči povećanje koncentracije glukoze u krvi stimulirajući glikogenolizu. Kortizol, glukokortikoidni hormon *zona fasciculatae* nadbubrežne žlijezde, inhibira glikolizu, povećava sintezu glikogena u fazi gladovanja te intenzivira glukoneogenezu u jetri. Hormon adenohipofize, hormon rasta (somatotropin), smanjuje korištenje i razgradnju glukoze. Podtice i odlaganje glikogena u stanicama, povećava sekreciju inzulina, ali smanjuje osjetljivost stanica na inzulin. Poremećaj izlučivanja somatotropina može izazvati neke forme dijabetesa (dijabetogeno djelovanje). Tiroksin, hormon tireoideje, posjepšuje apsorpciju glukoze iz probavnog trakta i povećava razgradnju glukoze u stanicama.

Narušavanje homeostaze glukoze može biti u pravcu hipo- i hiperglikemije. Hipoglikemija se javlja u slučajevima gladovanja, pojačane tjelesne aktivnosti, poremećaja rada bubrega (gubitak veće količine glukoze urinom), endokrinih poremećaja, poremećaja funkcije jetre, limfocitne leukemije, limfoma, hepatocelularnog karcinoma, karcinoma mlijecne žlijezde, pulmonarnog karcinoma, hemangiosarkoma, hepatoma, tumora plazma stanica, malignog melanoma i adenokarcinoma žlijezda slinovnica (Thrall i sur., 2004.). Hipoglikemija može biti popratna pojava ketoze kod mlijecičnih krava, mada su kao popratne pojave takvih stanja uočene i

hiperglikemije (Roussel i sur., 1997.). Isto tako, hipoglikemija se može uočiti kod graviditetne toksemije krava.

Hiperglikemija se javlja kod hiperadrenokorticizma, stresa, pankreatitisa, tumora koji dovode do povećanja izlučivanja hormona rasta, glukagona, hipertireodizma, kod primjene lijekova (glukokortikoidi, progesteron, ksilazin, ketamin, morfin, fenotijazin, intravenozne tekućine koja sadrži glukozu), kod goveda naročito prilikom mlijecne groznice, proksimalne duodenalne opstrukcije, kod dislokacije sirišta, zapletaja sirišta te neurološke bolesti (Thrall i sur., 2004.). Ksilazin prouzroči hiperglikemiju (ovisnu o dozi) koja traje preko šest sati (Raptopoulos i Weaver, 1988.). Izražena hiperglikemija (u rasponu od 13,75 – 55,0 mmol/L) je zabilježena kod proksimalne duodenalne opstrukcije goveda (Lassen, 2004.). Hiperglikemija je zabilježena i kod bolesti goveda virusna dijareja/bolest sluznica (*mucosal disease*) (Lorenz, 2000.). Kod goveda i ovaca je veoma rijetko zabilježen *diabetes mellitus*, kada dolazi do perzistirajuće hiperglikemije i glukozurije, ukoliko izostane terapija. Za razliku od drugih vrsta, postprandijalna hiperglikemija je minimalna ili se uopće ne javlja kod odraslih preživača radi mikrobne fermentacije ugljikohidrata hrane u buragu (Evans i Duncan, 2003.).

Razdoblje visoke gravidnosti karakterizira pozitivan energetski status. Životinje u ovom razdoblju unose veću količinu energije nego što su njihove stvarne potrebe, dolazi do odlaganja energije te se kao rezultat javlja povećanje tjelesne mase. Kada pozitivan energetski status potraje duže, kao što je to slučaj u slabo plodnih krava s dugim servis periodom, posljedica pozitivnog energetskog statusa je pretilost. Ovisno o genetskoj predispoziciji i načinu hranidbe, visoko gravidne krave postižu manje ili veće promjene u tjelesnoj kondiciji. Poželjno je da krave odlažu dovoljne količine masti u tjelesnim

depoima energije, ali ne i suvišak masnog tkiva kao pretjeranu rezervu energije koju će trošiti tijekom rane laktacije. Suficit u energiji na kraju laktacije i u zasušenju je osnovni razlog za izraženiji pozitivan energetski status, što ima za posljedicu tovnu kondiciju životinja. Također, prekomjerno odlagana energija u tjelesnim depoima zbog prekomjerne i nekontrolirane lipomobilizacije predstavlja jedan od osnovnih razloga pojave subkliničkih i kliničkih poremećaja metabolizma.

U metabolizmu visokoproduktivnih krava najkritičniji period predstavlja prijelaz iz perioda suhostaja u fazu rane laktacije. To je period u trajanju od tri tjedna prije do tri tjedna poslije partusa i označava se kao "tranzicijski period" (Grummer, 1993.). Ovaj period je fiziološki i nutritivno stresan za životinju. Karakteriziraju ga metaboličke i endokrine adaptacije partusu i laktaciji (Bauman i Currie, 1980.). U tranzicijskom (prijelaznom) razdoblju se metabolički procesi prilagođavaju u cilju osiguravanja energije i hranljivih tvari za sintezu sastojaka mlijeka (Overton i Waldron, 2004.).

Glavne promjene peripartalnog razdoblja čine: brzi rast ploda, kraj gravidnosti, aktivacija mlijecne žljezde i involucija uterusa. Ove promjene utječu na nutritivni (Grummer i sur., 2004., Hayirli i Grummer, 2004.) i imunosni status mlijecnih krava (Kehrli i Harp, 2001.). Prijelazak iz gravidnosti u laktaciju predstavlja stres za peripartalne mlijecne krave, djelomično i uslijed pojave negativnog energetskog statusa koji vodi hepatičnoj lipidozi i ketozi. Osim toga, krave s ovakvim metaboličkim poremećajima su podložnje obolijevanju od zaraznih bolesti, što je rezultat zatajivanja imunosnih odbrambenih mehanizama.

Prva faza laktacije, koja traje do tri mjeseca poslije partusa, je isto tako veoma kritična u proizvodnom ciklusu. Uspostavljanjem laktacije organizam

visoko mlijecnih krava je opterećen do krajnjih fizioloških granica. Naime, 40% do 60% ukupne proizvodnje mlijeka proizvode se u prvih 120 dana laktacije. Za ovu je fazu laktacije isto tako karakteristično da krave unoše manju količinu hrane, zatim se unošenje hrane postupno povećava i dostiže optimalan unos između drugog i trećeg mjeseca. To znači da u prvim tjednima laktacije postoji negativan energetski staus, jer su ukupne energetske potrebe daleko veće, nego što se mogu osigurati alimentarnim izvorima (Hayirli i sur., 2002., Hayirli i sur., 2003.). Procijenjeno je da trećina energije koja se gubi laktacijom u prvom mjesecu laktacije potječe iz tjelesnih rezervi organizma. Pri tome treba imati u vidu da se nakon partusa, kada počinje proizvodnja mlijeka, povećava promet energije za oko 100% u roku od samo nekoliko dana. Ustanovljeno je da je ukupan promet energije krava u ranoj laktaciji 175 MJ ME, od čega se na sastojke mlijeka, koji djelimično potječu i iz glukogenoplastičnih spojeva, utroši prosječno 78 MJ (McNamara, 1989.).

Tijekom kasne gravidnosti i rane laktacije prioritet u distribuciji hranjivih tvari su plod i mlijecno tkivo (Baird, 1981.). Iz tih razloga, laktogenezu prate pojačana lipoliza i smanjenje lipogeneze u adipoznom tkivu, smanjenje glikogeneze i povećanje glukoneogeneze i glikogenolize u jetri, smanjenje iskorištavanja glukoze i povećano korištenje lipida kao izvora energije u tkivima (Reynolds i sur., 2003.).

Metabolički profil za vrijeme rane laktacije karakteriziraju niske koncentracije serumskog inzulina, glukoze plazme i jetrinog glikogena, kao i visoke koncentracije serumskog glukagona, adrenalina i hormona rasta, plazma β -oksimaslačne kiselina, neesterificiranih masnih kiselina i triglicerida jetre (Vazquez-Anon i sur., 1994.). Dakle, u razdoblju oko partusa nastaju nagle promjene u energetskom statusu i s početkom laktacije deficit

u energiji naglo raste. Zahvaljujući kompenzatornim mehanizmima organizam nastoji umanjiti energetski disbalans procesom mobilizacije masti iz tjelesnih depoa, što predstavlja naročito opterećenje za jetru. Kao rezultat, lipomobilizacija intenzivira ketogenezu i lipogenezu u jetri (Sevinc i sur., 2003.), što istovremeno predstavlja veliku mogućnost za narušavanje metaboličke ravnoteže i nastajanje masne infiltracije i degeneracije stanica jetre.

Masna jetra je metabolička bolest visoko produktivnih krava koja negativno utječe na produkciju mlijeka, rezistenciju prema bolestima i reproduktivne mogućnosti (Bobo i sur., 2004.). Iako većina istraživača smatra da je masna jetra uvod u ketozu, ipak se ne može sa sigurnošću tvrditi koji se poremećaj javlja prvi (Kehrli i sur., 2006.). Visoke koncentracije neesterificiranih masnih kiselina koje pristižu u jetru visoko mlijecnih krava u fazi rane laktacije dovode do infiltracije hepatocita trigliceridima (masna jetra).

Ketoza je metabolički poremećaj koji se javlja u ranoj fazi laktacije. Karakterizira se hipoglikemijom i hiperketonemijom. Uzrok ketoze je nedovoljna koncentracija glukoze u krvi za potrebe metaboličkih procesa koje iziskuje laktacija po partusu, kada unos hrane ne zadovoljava potrebe organizma. Nedostatak glukoze prouzroči pad koncentracije inzulina u krvi te povećanje mobilizacije masti iz adipoznog tkiva i povećanje hepaticne ketogeneze. Povećanje mobilizacije masnih kiselina vodi masnoj infiltraciji jetre. Ova akumulacija masti u jetri prouzroči pojavu kliničke ketoze. Smatra se da prevencija razvoja masne jetre ima pozitivan učinak na smanjenje pojavnosti kliničke ketoze. Terapija glukagonom učinkovito mobilizira glikogen jetre i smanjuje vrijednost triglicerida jetre, kao i neesterificirane masne kiseline u krvi i koncentraciju β -oksimaslačne kiselina (Hippen, 2000.).

Materijali i metode

Istraživanjem je obuhvaćeno ukupno 480 krava Holstein-friesijske pasmine, starosti između 2 i 9 godina, s tim da je najveći broj krava bio starosti 3–5 godina. Krave su bile različitog broja laktacije (1–8), a najveći je broj krava bio u drugoj, trećoj i četvrtoj laktaciji. Istraživanje je obavljeno na dva različita geografska područja, odnosno na sjevernom području – farma T (n=240) i južnom dijelu Bosne i Hercegovine – farma V (n=240). Uzorkovanje je provedeno u dva termina: ljeto 2008. godine (n=240) te u zimskom periodu 2008./09. godine (n=240). Ispitivane životinje su bile krave u visokoj laktaciji (n=240), krave do 15 dana nakon partusa (n=120) i krave u suhostaju (n=120).

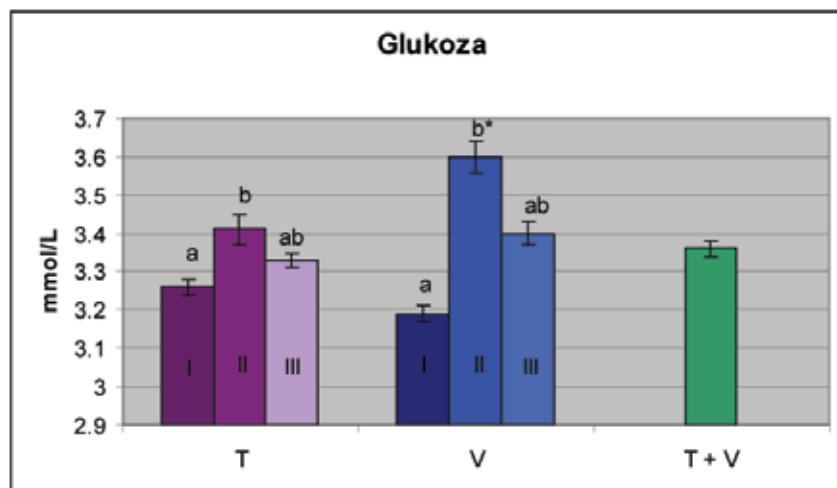
Ispitivane životinje sa sjevernog područja su držane na suvremenoj farmi, što predstavlja glavni čimbenik u proizvodnji i dobrotivi životinja. Za zdravlje i proizvodnju je veoma važno da između životinja i okoliša postoji dinamička ravnoteža između biotičkih i abiotičkih faktora (Vučemilo, 2003.). Na

lokalitetu T je korištena tehnologija *Radio Frequency ID (RFID)*, gdje svaka životinja posjeduje čip, koji prati aktivnost životinje te bilježi aktivnosti vezane za reprodukciju, laktaciju i povijest bolesti. Životinje s farme V su držane u uvjetima koji nisu pratili suvremene trendove držanja poput farme T. Međutim, životinje su držane u jednakim zootehničkim uvjetima.

Program hranidbe na obje farme se pridržavao sljedećih pravila:

U zimskom periodu, životinje su hranjene ovisno o fiziološkom statusu pa su tako visokomuzne krave hranjene s 30 kg silaže, 15 kg sjenaže, 10 kg koncentratne smjese koja je sadržavala 18-20% proteina. Krave u suhostaju su hranjene s 20 kg silaže, 10 kg sjenaže i 3-4 kg koncentrata s 18-20% proteina. Kravama postpartalno obrok je činila silaža *ad libitum*, 2 kg koncentratne smjese, sijena 3 kg te sojine sačme 0,05 kg. Sve kategorije su dobivale stočnu sol i stočnu kredu po 0,05 kg.

Tijekom ljetnog perioda, životinje su hranjene kako slijedi: visokomuzne krave su dobivale 20 kg kukuruzne silaže, 15



Grafikon 1. Koncentracija glukoze (mmol/L) u krvi krava po lokalitetu i sezoni. Sve vrijednosti predstavljaju $\bar{X} \pm S\bar{X}$. Oznake T i V se odnose na lokalite: T = sjeverni dio BiH, V = južni dio BiH. Oznake I, II, III predstavljaju različite sezone, gdje je: I = ljetni period, II = zimski period, III = I + II. a, b = vrijednosti unutar jednog lokaliteta koje imaju različito slovo su statistički značajne ($p < 0,05$). * = statistički značajna razlika ($p < 0,05$) između istih perioda uzorkovanja različitih lokaliteta.

kg sjenaže, 2,5 kg sijena, koncentratne smjese 6 kg i pivskog tropa 6 kg. Hrani su dodavani stočna sol (0,05 kg) i stočna kreda (0,05 kg) te mineralno-vitaminski dodaci (0,15 kg). Krave su u suhostaju hranjene s 25 kg kukuruzne silaže, 1 kg sojine sačme, mekinja 2 kg, 2 kg koncentratne smjese te stočne soli i stočne krede po 0,05 kg. Kravama postpartalno obrok je činila silaža *ad libitum*, 2 kg koncentratne smjese, sijena 3 kg te sojine sačme, stočne soli i stočne krede po 0,05 kg.

Uzorci krvi su uzeti punkcijom *vene coccigaeae* u heparinizirane vakutanere á 5 mL. Neposredno po uzorkovanju određena je koncentracija glukoze u krvi zbog brze glikolize. Za određivanje koncentracije glukoze koristio se ACCU-CHEK EASY (ACE) – humani monitoring sistem, koji se koristi za monitoring glukoze kod goveda (Rumsey i sur., 1999.).

Statistička obrada podataka učinjena je korištenjem softverskog programa SPSS 10,00. Određeni su:

- \bar{X} = srednja vrijednost
- $S\bar{x}$ = standardna grješka srednje vrijednosti
- SD = standardna devijacija
- minimum = najniža vrijednost određenog parametra
- maksimum = najviša vrijednost određenog parametra
- $\bar{X} \pm 2SD$ = mogući fiziološki (referentni) interval parametra ukoliko se 95% i više ispitanoj uzorku nalazio unutar ovog intervala (Kaneko, 1997.).

Srednje vrijednosti koncentracije glukoze između različitih sezona unutar jedne farme te između dvije farme su upoređivane korištenjem Studentskog t-testa. Razlike su smatrane statistički signifikantnim na razini $p<0,05$.

Rezultati

Pojedinačne vrijednosti glukoze ukupnog uzorka ($n=480$) su se kretale

u rasponu od 1,7–4,6 mmol/L (Tab. 1.). Mogući referentni interval za koncentraciju glukoze iznosi 2,56–4,16 mmol/L, što pokazuje nešto veću donju vrijednost referentnog intervala nego što nalazimo u literaturnim podatcima, gdje se referentne vrijednosti za glukozu u krava kreću u rasponu od 2,5–4,2 (Kaneko i sur., 1997.), 2,49–4,16 mmol/L (Radostits i sur., 2000.) i 2,3–4,1 mmol/L (Merck Veterinary manual, 2003.). Studija provedena s 13 krava u laktaciji od strane Sako i suradnika (2007.) ustvrdila je raspon vrijednosti glukoze ($\bar{X} \pm 2SD$) 2,2–4,6 mmol/L. Istraživanjem provedenim od strane Krnić i sur. (2003.) u krava u laktaciji ustanovljena je srednja vrijednost glukoze $2,37 \pm 0,10$ mmol/L. Doković i suradnici (2007.) su u 20 krava Holstein-friesian pasmine odredili srednju vrijednost glukoze od $2,71 \pm 0,35$ mmol/L.

Srednja vrijednost koncentracije glukoze u uzorcima krvi krava na obje farme i tijekom obje sezone (480 krava) iznosila je $3,36 \pm 0,02$ mmol/L. Pojedinačno po farmama i u ljetnom i u zimskom uzorkovanju ne postoje značajnija odstupanja u odnosu na cjelokupan uzorak (Tab. 1.). Ovako nešto veće vrijednosti nego što su ih prezentirali prethodni autori moguće su uslijed toga što smo određivanje koncentracije glukoze obavljali na farmi u punoj krvi, odmah nakon uzimanja uzorka krvi. Naime, poznato je da stajanjem krvi (duži transport do laboratorija), uslijed glikolitičkih procesa od strane uobličenih elemenata krvi, koncentracija glukoze se može smanjiti i dati nešto niže srednje vrijednosti. Naime, eritrociti *in vitro* unutar sat vremena metaboliziraju 10% ukupne koncentracije glukoze (Turnwald i Troy, 1983.).

U našem istraživanju, statistički značajne razlike uočene su unutar lokaliteta između različitih perioda uzorkovanja, kao i između različitih lokaliteta tijekom ljetnog perioda uzorkovanja (Graf. 1.). Navedene razlike između različitih razdoblja uzorkovanja

Tabela 1. Statistički pokazatelji za koncentraciju glukoze u krvi (mmol/L) po lokalitetu i sezoni

Sezona i lokalitet →	T#			V#			T + V
	Ljeto	Zima	Obje sezone	Ljeto	Zima	Obje sezone	
Statistički pokazatelji ↓							
Ȑ	3,26	3,41	3,33	3,19	3,6	3,4	3,36
SȐ	0,02	0,04	0,02	0,02	0,04	0,03	0,02
SD	0,28	0,41	0,36	0,32	0,45	0,44	0,40
Minimum	2,5	2,3	2,3	2,1	1,7	1,7	1,7
Maksimum	4,1	4,4	4,4	4,2	4,6	4,6	4,6
Ȑ ± 2SD	2,7 – 3,82	2,59 – 4,23	2,61 – 4,05	2,55 – 3,83	2,7 – 4,5	2,52 – 4,28	2,56 – 4,16
% uzorka unutar Ȑ ± 2SD	97,08%	97,5%	96,25%	98,33%	97,92%	95%	95,42%
n	120	120	240	120	120	240	480

#T = sjeverni dio BiH, V = južni dio BiH.

su vjerovatno posljedica razlika u ljetnom i zimskom režimu hranidbe. Statistički značajne razlike, pak, između lokaliteta tijekom ljetnog perioda uzorkovanja mogu biti posljedica stresa kod životinja na lokalitetu V. Naime, kao što je navedeno, životinje na lokalitetu T su držane na suvremenoj farmi, gdje su zootehnički uvjeti omogućavali nesmetan pristup životnjama i samim tim nesmetano uzorkovanje, za razliku od lokaliteta V. Životinje na lokalitetu V u zimskom je periodu bilo neophodno dovesti na adekvatno mjesto u cilju uzorkovanja krvi, što je moglo prouzročiti stres, koji povećava sekreciju adrenalina aktivirajući simpatikusni živčani sustav. Unutar svega nekoliko sekundi adrenalin ubrzava konverziju glikogena u glukozu koja se otpušta iz jetre u krvotok (Kolb i sur., 1995.). Na povećanje razine glukoze utječe i prepartalni prijelazni period, sa značajnim povećanjem koncentracije glukoze nakon partusa (Kunz i sur., 1985.). Porast razine glukoze prilikom partusa može biti posljedica povećanja koncentracije glukagona i glukokortikoida koji stimuliraju

glikogenolizu (Vazquez-Anon i sur., 1994.). Istraživanjem Majeed i suradnika (1990.) i Ahmad i suradnika (2004.) ustanovljene su signifikantno više vrijednosti koncentracije glukoze u krava s endometritisom u odnosu na zdrave krave. Povišene vrijednosti koncentracije glukoze u životinja s endometritisom mogu biti rezultat poremećaja endokrinih regulatornih mehanizama.

Niže vrijednosti koncentracije glukoze u krvi mogu biti posljedica iskorištavanja glukoze za sintezu lakoze u mlijeku (Turnwald i Troy, 1983.).

Vrijednosti biokemijskih parametara krvi krava dostupne u svjetskoj literaturi su dosta neujednačene. Stoga se pokazalo opravdanim provesti istraživanje na našem geografskom području, a vezano za zootehničke uvjete držanja. Istraživanje je pokazalo da se utvrđene vrijednosti koncentracije glukoze u krvi krava u farmskom uzgoju na našem geografskom području donekle razlikuju od vrijednosti koje se navode u svjetskoj literaturi. Za potrebe rutinske kliničke prakse neophodne su referentne vrijednosti biokemijskih parametara karakteristične

za uvjete uzgoja i držanja. To je značajno s aspekta rane identifikacije proizvodnih bolesti subkliničkog i kliničkog karaktera i stupnja poremećaja metaboličkih bolesti.

Sažetak

Glukoza je najznačajniji ugljikohidrat. Na vrijednost koncentracije glukoze utječu mnogi čimbenici poput: vrste, pasmine, spola, nutritivnog i zdravstvenog statusa, sezonalnih i fizioloških varijacija, (gravidnosti i laktacije). Cilj je ovoga rada bio odrediti vrijednost koncentracije glukoze kod mlijecnih krava, tijekom ljetnog i zimskog režima hranidbe te na različitim geografskim područjima.

Ključne riječi: glukoza, režim hranidbe, mlijecne krave

Literatura

1. AHMAD, I., L. A. LODHI, Z. I. QURESHI and M. YOUNIS (2004): Studies on blood glucose, total proteins, urea and cholesterol levels in cyclic, non-cyclic and endometriotic crossbred cows. *Pakistan Vet. J.* 24, 92–94.
2. ALONSO, M. L. (2000): Arsenic, cadmium, lead, copper and zinc in cattle from Galicia, NW Spain. *Sci. Total Environ.* 246, 237–248.
3. BAIRD, G. D. (1981): Lactation, pregnancy and metabolic disorder in ruminant. *Proc. Nutr. Soc.* 40, 115–120.
4. BANSAL, P. and Q. WANG (2008): Insulin as a physiological modulator of glucagon secretion. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 295, 751–761.
5. BARRY, J. (1964): A quantitative balance between substrates and metabolic products of the mammary gland. *Biol. Rev.* 39, 194.
6. BAUMAN, D. R. and W. B. CURRIE (1980): Partitioning of nutrient during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.* 63, 1514–1529.
7. BELL, A. W. (1995): Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *J. Anim. Sci.* 73, 2804–2819.
8. BOBE, G., J. W. YOUNG and D. C. BEITZ (2004): Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87, 3105–3124.
9. DUNCAN, J. R., W. K. PRASSE, and A. E. MAHAFFEY (1994): Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology. 3rd Edition. Iowa State University Press, Ames.
10. ĐOKOVIĆ, R., H. ŠAMANC, J. BOJKOVSKI, S. BOROŽAN i S. BOŠKOVIĆ-BOGOŠAVLJEVIĆ (2007): Morfološko i funkcionalno stanje ćelija jetre kod mlečnih krava u ranoj laktaciji. *Savremena poljoprivreda* 56, 92–97.
11. EVANS, E. W. and J. R. DUNCAN (2003): Proteins, lipids, and carbohydrates. In: LATIMER, K. S., E. A., MAHAFFEY and K. W. PRASSE (Eds.): Duncan & Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology. 4th edition. Iowa: Iowa State Press. (162–192).
12. GARCIA, M. J., A. A. LEGRIA, R. BARBERA, R. FARRE and M. J. LAGARDA (2000): Selenium, copper, and zinc indices of nutritional status: influences of sex and season on reference values, *Biol. Trace Element Res.* 73, 77–83.
13. GRUMMER, R. R., D. G. MASHEK and A. HAYIRLI (2004): Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20, 447–470.
14. GRUMMER, R. R. (1993): Etiology of lipid related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76, 3882–3896.
15. HARDWICK, D. C., J. L. LINZELL and T. B. MEPHAM (1963): The metabolism of acetate and glucose by the isolated perfused udder. 2. The contribution of acetate and glucose to carbon dioxide and milk constituents. *Biochem. J.* 88, 213–220.
16. HAYIRLI, A., R. R. GRUMMER, E. V. NORDHEIM and P. M. CRUMP (2002): Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. *J. Dairy Sci.* 85, 3430–3443.
17. HAYIRLI, A., R. R. GRUMMER, E. V. NORDHEIM and P. M. CRUMP (2003): Models for predicting dry matter intake of Holsteins during the prefresh transition period. *J. Dairy Sci.* 86, 1771–1779.
18. HAYIRLI, A., and R. R. GRUMMER (2004): Factors affecting dry matter intake prepartum in relationship to etiology of peripartum lipid-related metabolic disorders: A review. *Can. J. Anim. Sci.* 84, 337–347.
19. HENRY, R. J. and A. H. REED (1974): Normal values and the use of laboratory results for the detection of disease. In: HENRY, R. J., D. C. CANNON and J. W. WINKELMANN: Clinical chemistry: principles and techniques. 2nd edn. New York. Harper and Row (343–371).
20. HEUER, C., Y. H. SCHUKKEN and P. DOBBELAAR (1999): Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.* 82, 295–304.
21. HIPPIN, A. R. (2000): Glucagon as potential therapy for ketosis and fatty liver. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 16, 267–282.
22. JOVIĆ, F. i A. VORKO-JOVIĆ (2008): Prehrana za kvalitetan kreativan rad. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 4 (13).
23. KANEKO, J. J., J. W. HARVEY and M. L. BRUSS (1997): Appendices. In: KANEKO, J. J., J. W. HARVEY and M. L. BRUSS (Eds.): Clinical biochemistry of domestic animals. 5th edition. San Diego: Academic Press; (885–905).
24. KANEKO, J. J. (2008): Carbohydrate Metabolism and Its Diseases. In: KANEKO, J. J., J. W. HARVEY and M. L. BRUSS (Eds.): Clinical biochemistry of domestic animals. 6th edition. Academic Press, (64).
25. KEHRLI, M. E. and JR. J. A. HARP (2001): Immunity in the mammary gland. *Vet. Clin. North Am.* 17, 495–516.
26. KEHRLI, M. E. JR., J. D., NEILL, C. BURVENICH, J. P. GOFF, J. D. LIPPOLIS, T. A. REINHARDT and B. J. NONECKE (2006): Energy and protein effects on the immune system. In: SEJRSEN, K., HVELPLUND, T., NIELSEN, M. O., editors. Ruminant Physiology. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers.
27. KOLB, E., R. LIPPMPANN, A. ALAWAD, S. EICHLER, M. LEO and M. WAHREN (1995): Untersuchungen

- Damwild (Dama dama L.). 1. Mitteilung: Der Gehalt an Glucose, Cholesterin, Gesamtprotein, Harnstoff, Askorbinsäure im Blutplasma von Hirschkuilbern, Wildkuilbern, Muchsen, Kastraten und Alttieren. Tierarztl. Umschau 50, 490–494.
28. KRNIĆ, J., M. PODŽO, A. HODŽIĆ, M. HAMAMDŽIĆ, E. PAŠIĆ-JUHAS i M. MIHALJEVIĆ (2003): Metabolicki profil krava u laktaciji i peripartalno. Veterinaria 52, 75-86.
 29. KUNZ, P. L., J. W. BLUM, I. C. HART, H. BICKEL and JANDIS (1985): Effects of different energy intakes before and after calving on food intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. Anim. Prod. 40, 219.
 30. LASSEN, E. D. (2004): Laboratory evaluation of the endocrine pancreas and of glucose metabolism. In: THRALL, M. A. (Ed.): Veterinary hematology and clinical chemistry. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins (431–443).
 31. LORENZ, I. (2000): Retrospective study of serum glucose concentration in cattle with mucosal disease. J. Vet. Med. 47 (Series A), 489–493.
 32. MAJEED, M. A., J. IQBAL and M. N. CHAUDHRY (1990): Blood chemistry of clinical merits in Nilgiri-Ravi buffaloes of two age groups and at two stages of lactation. Pakistan Vet. J. 10, 55-59.
 33. McNAMARA, J. P. (1989): Regulation of bovine adipose tissue metabolism during lactation. 5. Relationships of lipid synthesis and lipolysis with energy intake and utilization. J. Dairy Sci. 72, 407-418.
 34. MERCK VETERINARY MANUAL (2003): 8th ed., Merck Co., Inc. Whitehouse Station, NJ, USA.
 35. OVERTON, T. R. and M. R. WALDRON (2004): Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. J. Dairy Sci. 87, E105-E119.
 36. RADOSTITS, O. M., D. C. BLOOD and C. C. GAY (2000): Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, goats and horses. 8th ed. London.
 37. RAMASAMY, R., S. F. YAN and A. M. SCHMIDT (2006): Methylglyoxal comes of AGE. Cell 124, 258-260.
 38. RAPTOPOULOS, D. and B. M. Q. WEAVER (1988): A comparison of the effect of xylazine on plasma glucose in Hereford and Friesian steers. Bovine Practitioner 23, 135–137.
 39. REYNOLDS, C. K., P. C. AIKMAN, B. LUPOLI, D. J. HUMPHRIES and D. E. BEEVER (2003): Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. J. Anim. Sci. 86, 1201-1217.
 40. ROOK, J. A. F. and J. B. HOPWOOD (1970): The effects of intravenous infusions of insulin and sodium succinate on milk secretion in the goat. J. Dairy Res. 37, 193-198.
 41. ROUSSEL, A. J., M. S. WHITNEY and D. J. COLE (1997): Interpreting a bovine serum chemistry profile: part II. Vet. Med. 92, 559–566.
 42. RUMSEY, T. S., S. KAHL and T. H. ELSASSE (1999): Field method for monitoring blood glucose in beef cattle. J. Anim. Sci. 77, 2194-2200.
 43. SAKO, T., S. URABE, A. KUSABA, N. KIMURA, I. YOSHIMURA, H. TAZAKI, S. IMAI, K. ONO and T. ARAI (2007): Comparison of Plasma Metabolite Concentrations and Lactate Dehydrogenase Activity in Dogs, Cats, Horses, Cattle and Sheep. Vet. Res. Commun. 31, 413–417.
 44. SAVIĆ, M. i S. JOVANOVIĆ (2007): Savremeni trendovi u uzgoju i selekciji goveda. In: SAVIĆ, M., S. JOVANOVIĆ, H. ŠAMANC i M. VUČINIĆ (Ur.): Savremeni trendovi u uzgoju i zdravstveno zaštiti goveda. Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu.
 45. SEVINC, M., A. BASOGLU and H. GUZELBEKTA (2003): Lipid and lipoprotein levels in dairy cows with fatty liver. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 27, 295-299.
 46. STOCKHAM, S. L. and M. A. SCOTT (2002): Introductory concepts. In: Fundamentals of veterinary clinical pathology. Iowa: Iowa State Press, 3-30.
 47. THRALL, M. A., D. C. BAKER, T. W. CAMPBELL, E. D. LASSEN, D. B. DENICOLA, A. REBAR, M. J. FETTMAN and G. WEISER (2004): Veterinary Hematology and Clinical Chemistry, Lippincott Williams & Wilkins Baltimore, Maryland. Pp. 433-434.
 48. TURNWALD, G. H. and G. C. TROY (1983): Hypoglycemia part I: carbohydrate metabolism and laboratory evaluation. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian 5, 932–938.
 49. VAZQUEZ-ANON, M., S. J. BERTICS, M. LUCK and R. R. GRUMMER (1994): Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites. J. Dairy Sci. 77, 1521–1528.
 50. VUČEMILO, M., A. TOFANT, B. VINKOVIĆ i S. HAĐINA (2003): Okoliš i zdravlje životinja. Zbornik drugog hrvatskog veterinarskog kongresa, Cavtat, 10.-13. listopada 2003., 655-662.
 51. WOOD, H. G., G. J. PEETERS, R. VERBEKE, M. LAURYSSENS and B. JACOBSON (1965): Estimation of the pentose cycle in the perfused cow's udder. Biochem J. 96, 607–615.
 52. YOKUS, B., D. U. CAKIR, Z. KANAY, G. TOPRAK and E. UYSAL (2006): Effects of seasonal and physiological variations on the serum chemistry, vitamins and thyroid hormone concentrations in sheep. J. Vet. Med. Physiol. Pathol. Clin. Med. 53, 271-276.
 53. YOKUS, B., D. U. CAKIR and D. KURT (2004): Effects of seasonal and physiological variations on the serum major and trace element concentrations in sheep. Biol. Trace Element Res. 101, 241–255.

Concentrations of Glucose in Cows Dependent on Geographic Region of Bosnia and Herzegovina and Season of Sampling

Nejra HADŽIMUSIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Amina HRKOVIĆ-POROBIJA, DVM, MSc, Senior Assistant, Veterinary Faculty, University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

Glucose is the most important carbohydrate. Glucose concentrations are affected by many factors, such as species, breed, sex, nutritional and health status, as well as seasonal and physiological variations, such as pregnancy and

lactation. The aim of this study was to determine glucose concentrations in dairy cows from different localities in Bosnia and Herzegovina during different seasons (diet conditions).

Key words: Glucose, Diet conditions, Dairy cows

Veterinary Radiological Consequences of the Chernobyl Disaster

*Robert Ginyatulovich Ilyazov**



Introduction

The Chernobyl accident occurred at the beginning of a grazing period, when agricultural animals were already at pasture and winter fodder at farms was almost completely eaten. In view of the circumstances, i.e. the long-term nature of radioactive fallout, animals kept outdoors for a significant part of the day, in a number of cases, farm animals were affected by combined effects (as a result of external exposure, skin contamination, inhalation and intake of radionuclides with food and drinking water) (Annenkov et al., 2004).

Materials and Methods

Experimental studies were performed in the period from May 1986 to 1990 on cattle of the black-motley breed of both sexes and varying age on farms of the Gomel region of the Republic of Belarus, affected by various levels of radioactive contamination. Basic households were studied: state farm Strelichevo in Khoyniki, collective farm Sovetskaya Belorussia in Narovlya, state farm Vysokoborsky in Vetka districts of Gomel region. The state farm Oktyabrsky in Oktyabrsky district of Gomel region served as the control. Farms differed in terms of radioactive

contamination of farmland, dose rate, radionuclide content in fodder and absorbed doses from external and internal irradiation of animals.

To assess the radiation situation at these farms, the density of radioactive contamination of agricultural lands, and the contamination of plant and animal products with the radionuclides ^{137}Cs and ^{137}Cs were identified. The exposure dose on farmlands, livestock stables and the absorbed dose in the cattle bodies were identified.

The study of the effects of radiation on reproductive function, productivity and clinical-physiological condition of cattle was conducted from September 1986 on three farms in the Gomel region: state farm Vysokoborsky (Vetka district), state farm Strelichevo (Khoyniki district) and collective farm Sovetskaya Belorussia (Narovlya district) (Table 1).

Observation of animals and laboratory tests were carried out all year round (spring-summer, summer-autumn, autumn-winter).

The assessment of economically useful animal traits was carried out according to generally accepted methods by registering the indices of animal reproduction, growth and development of

Robert Ginyatulovich ILYAZOV*, DVM, PhD, Full Professor, Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan, Kazan, Russia; (corresponding author, e-mail: r230@mail.ru)

Table 1. Information about assessment of radioecological contamination after accident in ChNPP in cattle farms of Gomel region during a period of three years following the disaster

Farm	Area contamination density with ^{137}Cs , kBq/m ²	Observation period	Dose rate, mR/h		Contents of ^{137}Cs in fodder, kBq/Kg	
			In pasture	In stable	Hay	Grazing grass
Collective farm «Sovetskaya Belorussia»	370-740	I	200-300	180-210	22.9-32.6	0.6-2.2
		II	100-250	85-120	0.9-2.7	0.3-1.9
		III	90-180	60-80	0.7-3.2	0.1-0.4
State farm «Strelichevo»	555-1480	I	300-600	250-450	80.3-255.0	0.6-3.0
		II	200-400	180-280	15.1-32.6	0.07-2.7
		III	150-300	120-220	0.7-8.5	0.04-0.2
State farm «Vysokoborsky»	1480-2220	I	800-1200	400-600	88.8-295.0	2.2-4.0
		II	600-800	350-450	17.0-92.5	0.8-2.7
		III	500-400	300-400	1.5-71.0	0.3-1.0

Note. I, II and III – correspondingly 1987, 1988 and 1989 years.

young cattle, productivity of dairy cows and beef productivity of young animals of varying age.

Clinical and physiological status of the animals was assessed using generally accepted haematological, biochemical and immunological methods.

A survey of the epidemic situation was performed according to the scheme "farm-district-region". Special attention was paid to evaluation of epidemic conditions in farms and regions with a high density of radioactive contamination (370-222 kBq/m²). Controls were 'clean' areas of the Gomel and Vitebsk regions, with densities of radioactive contamination less than 37 kBq/m².

Results and Discussion

Aggravating factors of the Chernobyl catastrophe for livestock production

The emergency evacuation of the population and a vast number of farm animals from the 30-km zone of the Chernobyl nuclear power plant (CNPP) resulted in many complicated issues in animal husbandry. Problems of feeding and managing the evacuated cattle in "compressed" farms, organization of veterinary services, veterinary and sanitary testing of produced animal products were urgent issues and demanded prompt decision-making on account of the requirements of radiation safety.

Serious damage was incurred to livestock in the affected areas following the unjustified decision on mass slaughter in initial weeks and months following the Chernobyl disaster. Without actual veterinary and sanitary information regarding the nature of radioactive contamination of the slaughter products, it was decided that the "contaminated" cattle should be slaughtered, based on the assumption that after keeping the meat refrigerated in meat-packing plants, the radionuclides would decay and these products would be clean and suitable for human consumption. However, the decision was, to say the least, incorrect, as no purification of meat occurred. Therefore, in 1991, 8.3 thousand tons of meat were disposed of and buried within the 30-km CNPP zone.

Among other significant factors with negative consequences for livestock in Chernobyl-affected areas, the following should be noted: the lack of necessary information about the radiation environment on farms during the acute period (including pastures); insufficient provision of veterinary radiological laboratories with required dosimetric and radiometric equipment; lack of or late delivery of normative-technical documents, determining the order and sequence of implementation of protective measures in livestock, conducting sanitary-hygienic and special veterinary activities; poor qualification of farm managers and veterinary specialists in the field of agricul-

Table 2. Dependence of radionuclides exposure dose in different organs of the cattle at the time consumption of contaminated fodder in the 30-km zone of the ChNPP

Indicator	Time from the accident to the beginning of consumption of contaminated fodder, days		
	1	10	20
Starting radioactivity of daily ration, $\times 10^5$ kBq	2.7	1.4	0.8
Absorbed dose, Gy:			
By the whole body	2.0	1.3	0.9
By mucosa of digestive tract	1.1	0.7	0.4
By thyroid gland	140	44	13

Table 3. Significance of time of evacuation of animals from the contaminated areas in relation to dose of absorbed radionuclides in the whole body and in the gastrointestinal tract mucosa

Indicator	Time from the accident to the beginning of consumption of contaminated fodder, days			
	3	10	20	185
Absorbed dose, Gy:				
By the whole body	0.2	0.3	0.5	2.0
By mucosa of digestive tract	0.04	0.15	0.27	1.10
By thyroid gland	21	68	100	140

tural radiology; peculiar manifestation of radiophobia of scientists and radiology specialist expressed in the explicit exaggeration of the possible negative impacts of the radiation.

Specifics of the impact of radiation on animals

During the study of the radiobiological consequences of an accidental discharge, it is necessary to consider the combined effect of the mixture of fission products on animals. Unfortunately, in most cases, the assessment of the impact of incorporate radium iodine to the thyroid gland and a mixture of short-lived radioisotopes in animals in the first months following the accident was complicated. Therefore, when referring to the impact of the radiation factor, this implies that the animals in this period are affected by the short-lived products of discharge in varying degrees (Annenkov et al., 2004).

The conditions of cattle management in the first week after the disaster were of great importance in the formation of doses to the thyroid gland. The absorbed dose of ^{137}Cs (in areas with a contamination density of 1.5×105 kBq/m²) and oth-

er radionuclides in cattle during the grazing period (185 days) in the 30-km CNPP zone were significantly dependent on the time of the beginning of consumption of contaminated feed (Table 2).

The dose of radionuclide absorption depend on the total activity of the daily diet, which was characterized by a rapid drop within the first month after the accident due to the decay of short-life radioisotopes. Most significant was the effect of the time of the beginning of consumption of contaminated feed on radionuclide absorption by the thyroid gland. When feeding animals with "clean" fodder during the first 20 days after the accident, the dose of absorbed radionuclides in the organism in total and in the thyroid gland decreased respectively by 2 and >10 times.

If the evacuation or termination of the consumption of contaminated fodder occurred during the first week following the accidental release, the dose of absorbed radionuclides in the body and in the thyroid gland decreased respectively by 10 and 2-7 times.

Higher doses of absorbed radionuclides were detected when modelling the possible dose loads on cattle (Table

4). The experimental animals of group I (397 head, 2-3 years of age) were situated 9 – 12 km from the CNPP zone for 4.5 months from the time of the accident, and group II (20 heads, age 5 to 12 years) were in the 30 km zone for 2.5 months.

It is well known that the greatest danger for animals caught in the zone of radioactive contamination after the Chernobyl disaster was the decay of iodine. In May 1986, a series of activities to reduce doses to the thyroid gland was carried out in the nearest area adjacent to the nuclear power plant. In some cases, this included keeping animals in stalls, and then the evacuation of cattle was organised. In the period from 1986–1990, farms animals were examined twice a year on farms in the 19 contaminated districts of Gomel and five districts of Mogilev regions of Belorussia. In addition, quarterly surveys of agricultural animals of different age were conducted in

seven areas with different levels of radioactive contamination of the territory and as a control in two districts of the Vitebsk region (clean area).

In 1986, the dose of ^{131}I absorbed by the thyroid gland in cows on the farms Strelichevo, Sovetskaya Belorussia and Vysokoborsky» as 98.55 and 56.5 Gy respectively; the total dose of radionuclides from internal and external irradiation ranged from 0.04 to 0.30 Gy and depended on the distance between the permissible reactor and agriculture. One year after the accident, the dose of absorbed ^{137}Cs was determined by external irradiation (Table 5).

One year after the accident, the dose absorbed by cows was mainly formed due to external irradiation, and in 1987, 1988 and 1989, levels at the farm Vysokoborsky were 21.5–33.0; 17.0–24.6 and 15.0–21.0 mGy, respectively; at the state

Table 4. Dependence of the dose of radionuclides absorption in different organs of the cattle during the pasture period of 1986 from the time of consumption of radioactive fodder [30-km zone of the ChNPP]

Indicator	Time from the accident to the beginning of consumption of contaminated fodder, days	
	I group	II group
Time of consumption of contaminated fodder, days	135	75
Ration radioactivity, mBq/day	481	333
Absorbed dose, Gy:		
By the whole body	3.4	1.5
By mucosa of digestive tract	2.0	0.9
By thyroid gland	270-280	180-190

Note. Description of groups see in the article text.

Table 5. Dynamics of doses of absorbed ^{137}Cs at internal and external irradiation [mGy] of cows in stable and grazing periods in the various farms of Gomel region

Irradiation type	1987		1988		1989	
	I	II	I	II	I	II
State farm «Vysokoborsky» (Vetka district)						
Internal	12.0±3.3	6.1±0.2	3.8±0.2	2.6±0.1	2.4±0.2	1.3±0.1
External	21.5±2.0	33.0±1.1	17.0±0.4	24.6±0.8	15.0±0.3	21.0±0.2
State farm «Strelichevo» (Hoiniki district)						
Internal	15.3±4.1	5.9±0.3	2.5±0.1	1.9±0.1	0.9±0.06	0.3±0.02
External	15.0±0.4	17.5±0.1	10.0±0.3	12.0±0.2	7.4±0.1	9.0±0.1
Collective farm «Sovetskaya Belorussia» (Narovlya district)						
Internal	5.6±0.7	2.8±0.1	1.1±0.1	1.2±0.1	0.8±0.04	0.4±0.02
External	7.0±0.1	9.0±0.1	5.0±0.2	6.0±0.3	2.0±0.01	4.0±0.01
Note. I and II – correspondingly stable and grazing periods of keeping.						

farm Strelichevo - 15.0-17.5; 10.0-12.0 and 7.4-9.0 mGy; and at the collective farm Sovetskaya Belorussia - 7.0-9.0; 5.0 - 6.0 and 2.0 - 4.0 mGy.

State of health, productivity and mortality of animals in areas with different densities of radioactive contamination

Clinical and physiological studies. During the period of the first health assessment of animals evacuated from Bragin, Hoiniki and Narovlya districts in August 1986, the changes in the functional activity of the thyroid gland were observed (hypo - and hyperthyroidism were registered according to radio-immunological analyses). Livestock aged 5 years and older, which came through the iodine load on the thyroid gland, showed a decrease in the concentration of thyroid hormones and in the number of red blood cells and platelets in the blood serum.

As some doubts about the recovery of the absorbed thyroid function and productive qualities of animals arose, it was recommended that rehabilitation of the herd be conducted through delivery of herd replacements from the "clean" regions of the country. In 1987-1990, the clinical and physiological status of 98% of cows on basic farms during the stable and pasture periods was satisfactory: body temperature, cleanliness of breath, pulse and rumination met the physiological norms; no visible changes were observed to the coat, mucous membranes or lymph nodes; the fatness of 85% of animals was average to above average, except for the state farm Vysokoborsky, where about 15% of animals had lower than average fatness, due primarily to the violation of keeping conditions and feeding (Ilyazov et al., 1996, Sirotnik and Ilyazov 2000, Ilyazov et al., 2002).

When analyzing the haematological parameters in cows, moderate thrombocytopenia, slightly increased quantities of erythrocytes and haemoglobin concentration were found at all farms during the entire study period (Table 6). Significant differences were found in the relative

number of monocytes and basophils. The relative quantity of monocytes in animals was reduced by 2 to 10 times on all farms during the study period . In 1988, cows at farms with a high level of radioactive contamination (Strelichevo, Vysokoborsky) showed an increase in the number of basophils and eosinophils in the blood compared to the farm October (Karpuk, 1986).

Similar changes in the cell composition of leukocytes were noted in the less contaminated farm Sovetskaya Belorussia in 1987. At all farms in 1987-1989, cows had 2-3 times more band neutrophils, with the appearance of myelocytes in the peripheral blood. When analyzing the absolute number of peripheral blood cells, a naturally reduced quantity of cells depending on the absorbed dose of radionuclides ($g = -0.399$) was registered. The number of lymphocytes in the peripheral blood of cows of Oktyabrskaya farm during the monitoring period averaged 6.35 thousand/ μl , and in the farms Sovetskaya Belorussia, Strelichevo and Vysokoborsky respectively 4.99; 4.59 and 4.27 thousand/ μl . In addition to the absolute number of other formed elements of cells of peripheral blood, there was also an increase of eosinocytes and band neutrophils, with increasing doses of absorbed radionuclides (accordingly $g=0.382$ and $g=0.535$).

When assessing the biochemical indices of blood serum of cows in the pasture period, a decline of α -globulin fractions to 5-9% and increase of β -globulin to 24% was observed. With regard to serum hormone concentrations of cows in the most polluted district during the first two years after the accident (1987-1988) no significant deviations from the physiological norm were registered, except for the concentration of cortisol, which, as a rule, was below the standard in animals on all farms (Table 7). The most significant decrease of cortisol in serum was noted in cows kept in the territory of intense radioactive contamination in comparison with animals in the "clean" zone.

The changing concentration of thyroid hormones in the blood serum of

Table 6. Quantitative dynamics of indicators in the peripheral blood of cattle during stable and pasture periods of management in the various farms in Gomel region

Keeping period (year)	Erythrocyte, 10 ⁶ /μL	Hemoglobin, %	Blood platelet, 1000/ μL	Leucocytes, 1000/μL
State farm «Oktyabrsky»				
I [1987]	7.9±0.2	10.2±0.4	205±10	10.6±2.7
I [1988]	7.4±0.1	10.0±0.4	-	9.9±1.0
II [1988]	7.0±0.1	15.6±0.2	-	7.6±0.5
I [1989]	7.2±0.2	11.6±0.3	145±19	10.8±3.0
II [1989]	6.0±0.4	8.6±0.7	193±9	8.2±1.0
Collective farm «Sovetskaya Belorussia»				
I [1987]	7.7±0.3	10.6±0.4	-	-
I [1988]	8.0±0.1	12.2±0.2	222±26	7.0±0.3
II [1988]	8.0±0.2	12.7±0.4	-	8.6±0.8
I [1989]	6.5±0.4	11.4±0.3	-	8.0±2.0
II [1989]	6.0±0.3	12.6±0.2	188±19	6.8±0.7
State farm «Strelichevo»				
I [1988]	7.5±1.2	12.0±2.2	-	7.8±4.6
II [1988]	6.5±1.2	11.0±1.4	-	6.6±2.6
I [1989]	6.6±0.4	11.2±0.7	-	8.0±0.4
II [1989]	5.7±0.2	-	206±16	7.3±0.3
State farm «Vysokoborsky»				
I [1987]	6.9±0.3	11.0±0.4	202±44	6.2±0.7
I [1988]	6.9±0.1	11.4±0.2	-	9.6±1.0
II [1988]	6.7±0.1	10.7±0.4	-	6.9±1.3
I [1989]	6.5±0.1	11.9±0.2	220±18	7.8±0.5
Physiological range for black cattle (referred to 6)				
1986	5.0-6.0	9.5-10.2	260-700	6.0-8.0

Note. I and II – correspondingly stable and pasture periods. Dash means that the study was not carried out.

cows in farms Sovetskaya Belorussia and Vysokoborsky one year later indicated hypo - and hyperthyroidism at an ¹³¹I dose absorption equal to 50 Gy.

Thus, the clinical-physiological state of animals in areas with a different density of radioactive contamination was generally within the physiological norm, although the dynamics of a number of parameters showed a correlation with the dose of absorbed radionuclides at ¹³⁷Cs contamination density 1480-2220 kBq/m².

Reproductive function and productivity of cattle in areas with radionuclide contamination

In the livestock management practices in radioactive polluted territory, it was necessary to predict the possible impact of ionizing radiation on the reproductive function of animals as an important

adaptation characteristic that can be an integral indicator of the reaction to the adverse environmental impact and to productivity.

The districts of the Gomel region were divided into two groups according to the level of radioactive contamination: I - 7 districts (Bragin, Buda-Koshelevo, Vetka, Korma, Narovlya, Khoiniiki, Chechersk), with a radioactive contamination density of 370-2220 kBq/m² (10-60 CI/km²); II – 13 districts with a contamination density of 37-185 kBq/m² (1-5 CI/km²). The reproductive quality of cattle during the period 1983-1990 was analyzed according to the statistical department of Gomel region (Table 8).

The number of abortions and the share of stillborn calves on farms with varying densities of radioactive contamination did not differ significantly. No reli-

Table 7. Dynamics of hormones concentration in serum of cows during stable and grazing periods in various farms of Gomel region

Keeping period (year)	Triiodothyronine, nM/l	Thyroxine, nM/l	Insulin, micro-units/ ml	Cortisol, nM/l
State farm «Oktyabrsky»				
I (1987)	1.52±0.11	52.20±3.82	9.50±0.51	29.34±9.80
I (1988)	1.34±0.07	83.01±3.48	4.20±0.49	19.77±2.20
II (1988)	1.59±0.09	-	-	-
I (1989)	1.70±0.21	90.13±11.6	11.20±0.36	28.63±1.20
II (1989)	1.46±0.12	47.5±3.86	19.00±5.06	20.06±2.10
Collective farm «Sovetskaya Belorussia»				
I (1987)	2.59±0.08	120.77±10.4	-	13.82±1.00
II (1987)	-	66.52±8.69	-	12.30±0.07
I (1988)	1.77±0.16	83.79±4.46	10.59±2.11	35.70±6.52
I (1989)	1.11±0.13	69.7±4.82	11.17±1.03	9.25±1.70
State farm «Strelichevo»				
II (1988)	1.46±0.23	46.60±5.76	-	-
I (1989)	1.54±0.08	74.76±4.90	17.22±1.94	7.30±1.70
II (1989)	1.34±0.04	56.90±6.43	4.02±0.43	9.05±2.33
State farm «Vysokoborsky»				
I (1987)	0.88±0.08	58.42±2.76	7.65±0.00	39.63±1.95
I (1988)	1.04±0.07	48.36±3.20	-	6.45±0.64
I (1989)	1.74±0.24	-	-	-
Physiological range for black cattle (referred to 6)				
1986	1.0-3.0	40-80	9.0-17.0	35.0-58.0

Note. The same as in Table 6.

able differences were found in the reproductive ability of animals between farms, both before the accident in 1984-1985, and after the accident period (Table 9).

The dairy productivity of cows and the daily average gain of live mass of young animals increased from 1987 to 1990 at all farms, though the lowest indices were observed at the Vysokoborsky farm, i.e. 2378±131 kg and 406±17 g. This can likely be explained by the imbalanced diets of animals, the main indicators of which (fodder units, content of digestible protein, carotene, calcium, phosphorus, and microelements) were lower than the standard, and by the keeping conditions.

When assessing cattle productivity in the districts of the Gomel region with varying densities of radioactive contamination, it was established that the average annual milk yield per cow and average daily live weight gain in young stock did not vary between groups I and II during the period from 1990 to 1995.

According to the statistical department of Gomel region, the average annual milk yield per cow in the most affected districts from 1985 to 1990 increased in Bragin, Vetka, Narovlyany and Hoiniki districts, to 1029, 696, 18181 and 1565 kg, respectively (average of 419 kg for the region). An increase in average daily gain of live weight of young cattle kept for fattening was noted: in the Bragin, Vetka and Hoiniki districts, this was an increase of 91, 92, 112 g respectively (73 g average for the region). As such, the increase of cattle productivity was connected with the increase of veterinary work and the allocation of concentrated feed from state funds to farms located in the most affected districts of the Gomel region.

Clinical and physiological indicators and mortality of animals in chronic radiation defeat

The high level of pollution of the territory by ¹³¹I radioisotopes after the Cher-

Table 8. Dynamics of pathological disorders of reproductive function in cows on farms of Gomel region with different density of contamination by radionuclides during the years of study

Year of study	Abortion quantity, %		Stillborn calves, %	
	Cows	Breed heifer	Cows	Breed heifer
I group (7 districts)				
1983	1.1	1.6	1.9	26.7
1984	1.2	1.5	1.2	33.7
1985	1.2	1.9	1.0	27.5
average	1.2±0.1	1.7±0.1	1.4±0.3	29.3±2.2
1986	1.0	1.5	1.3	20.6
1987	1.5	1.5	1.2	23.2
1988	1.1	1.8	1.7	22.1
1989	1.1	1.3	1.5	16.8
1990	0.9	1.5	2.1	18.0
average	1.1±0.1	1.5±0.1	1.6±0.2	20.1±1.2
II group (13 districts)				
1983	1.4	2.0	2.2	22.3
1984	1.3	2.1	2.0	30.8
1985	1.4	1.7	1.8	21.0
average	1.4±0.1	1.9±0.1	2.0±0.1	24.7±3.1
1986	1.2	1.4	1.3	17.1
1987	1.4	1.9	1.7	17.2
1988	1.2	1.8	1.9	19.5
1989	1.3	1.7	1.8	15.7
1990	1.2	1.7	1.9	14.4
average	1.3±0.1	1.7±0.1	1.7±0.1	16.8±0.9

Note. I and II groups – density of radiation contamination correspondingly 370-2220 and 37-185 kBq/m²

nobyl accident caused a significant dose loads for farm animals in the 30-km zone (see Table 3). An assessment of the consequences of chronic radiation exposure of black cattle was conducted in two groups of animals and their progeny for 9 years (1986-1994). When assessing breaches of the thyroid gland of cattle caused by radiation affection, it was shown that the pathological process was heavier than expected and exacerbated by adverse environmental factors (Ilyazov et al., 2004).

Six months after the Chernobyl disaster, the following signs were noted: oppression of general condition, reduced reaction to external stimuli, curliness, haze and rumpleness of the coat; difficult breathing; lack of coordination of muscle movement; fibrillous muscle contraction; decreased body temperature to 34.0-35.0 °C. Most of these animals had the following deviances: symptoms of

exophthalmia, thickening of the skin fold in the area of the head, neck and side surfaces of the body from 12 to 17 mm, bent posture, swelling of dewlap, muzzle and submandibular space, poor palatability of feed, exhaustion, lack of normal gum and weakened rumination. Up to 10% of animals had abnormalities in the frequency and heart palpitations and deviations of the systolic and diastolic tones in the heart. These changes of clinical signs worsened with decreasing air temperature.

During this period, animals with an absorbed dose of ¹³¹I of 270-280 Gy showed leukopenia, eosinophilia and a decrease in the percentage of neutrophils and monocytes, and degenerative-destructive changes in the formal peripheral blood cells: cytolysis, pycnosis, vacuolation, chromatolysis, dual-lymphocytes, carioc-recsis, hypersegmentosis, atypical lymphocytes.

Table 9. Assessment of reproductive ability of black cattle in various districts of Gomel region during the years of study

Year of study	District				Total in region
	Bragin	Vetka	Hoiniki	Oktyabrsky	
Cows breeding efficiency, %					
1984	87.9	77.0	85.0	85.6	85.6
1985	88.1	78.0	76.0	77.1	85.5
average	88.0±0.1	77.5±0.5	80.5±4.5	81.4±4.3	85.6±0.05
1986	79.5	75.0	76.0	80.4	86.3
1987	82.3	60.0	78.0	80.7	81.3
1988	83.4	76.7	81.2	83.4	82.4
average	81.7±1.2	70.6±5.3	78.4±1.5	81.5±1.0	83.3±1.5
Availability of dry cows, %					
1984	15.1	19.5	11.9	16.9	14.3
1985	18.7	17.8	14.8	22.4	14.8
average	16.9±1.8	18.7±0.9	13.4±1.5	19.7±2.8	14.6±0.3
1986	10.4	20.0	16.0	14.6	11.7
1987	23.9	26.9	19.1	29.5	19.6
1988	15.8	18.5	16.0	18.9	15.1
average	16.7±3.9	21.8±2.6	17.0±0.7	21.0±4.7	15.5±2.3
Cows dropped out due to diseases of reproductive organs, %					
1984	5.8	2.4	15.1	0.7	12.7
1985	4.4	2.7	6.7	0.6	14.3
average	5.1±0.7	2.6±0.2	10.9±4.2	0.7±0.1	13.5±0.8
1986	1.3	4.0	1.5	11.6	9.3
1987	1.1	12.0	8.5	0.6	10.8
1988	15.7	18.5	16.0	18.9	15.1
average	6.0±4.8	11.5±4.2	8.7±4.2	10.4±5.3	11.7±1.7
Calves per 100 cows, heads					
1984	78	75	77	81	82
1985	74	78	73	75	81
average	76.0±2.0	76.5±1.5	75.0±2.0	78.0±3.0	81.5±0.5
1986	69	79	73	80	83
1987	76	69	79	70	79
1988	83	77	81	72	83
average	76.0±4.0	75.0±3.1	77.7±2.4	74.0±3.1	81.7±1.3

During the period from 1986 to 1990, the following changes were observed in the haematological parameters in cows: oppression of erythroid hematosis, leukocytopenia, monocytopenia and eosinophilia (Karput, 1986).

Hypofunction of the thyroid gland was shown by a three-fold or greater reduction of the concentration of thyroid hormones (thyroxine, triiodothyronine) in the blood serum of animals in comparison with the standard. In addition, 55-60% of animals had concentrations of

these hormones below the technique detection level in the first year after the accident (1986). Low concentration of these hormones was kept further (in 1977-1990). Three years after the radiation exposure, animals had a concentration of thyroxine and triiodothyronine serum levels averaging 33.7±4.5 and 0.88±0.16 nmol/l respectively, which is half the level in healthy animals ($P<0.001$).

Dynamics of the leukocyte (A) and eosinophil (B) quantities in the peripheral blood of cows with signs of chronic radiation in-

jury: 1, 2 and 3 respectively control, groups I and II (in the last two groups the dose of absorbed ^{131}I was 270-280 and 180-190 Gy); I, II, III, IV and V are respectively 1987, 1988, 1989, 1990 and 1991.

Animals with signs of chronic radiation damage evacuated from 30-km CNPP zone showed disorders of the sexual cycle, stillbirths, and various anomalies in the offspring during the first year after the accident (1986). In 1986 in group I, six calves were born from 30 heifers, 4 of them fell (66.6%), in group II - 18 calves were born from 26 cows, and 7 of them fell the same year (38.8%). In 1987-1990, the reproductive potential of the irradiated animals was consistently low. During this period, the average percentage of heifers evacuated from the 30-km zone, in groups I and II at the ^{131}I dose 270-280 and 180-190 Gy absorbed by thyroid glands, was 59.4 and 32.7% respectively, with a fertilization rate of 47.1 and 74.7%.

The significant deterioration of reproductive function was observed in 1988, two years after the defeat of the thyroid gland (see Table 10). The reproductive function of cows in group I was considerably worse than those in group II; even 7-8 years after the accident, the share of heifers in group I was 25% (Ilyazov et al., 1996, Sirotnik and Ilyazov, 2000, Ilyazov et al., 2002).

Stillbirths and abortions also occurred more frequently in cows in the first group. During first two years after the accident, all animals in groups I and II showed calving accompanied by pathological disorders, in the postpartum period there were heavy endometritis, uterine bleeding and inflammation. After 2-3 weeks after calving, lactation ended in most cows and hypotrophy breast parenchyma developed. The average live weight of calves born in 1986-1987 was 12-17 kg; they were characterized by weak development (stunted growth, dwarfism) compared with healthy herdmates. The live weight of bull-calves born in 1986 was only 140-150 kg at the age of 2.5 years.

The daily gain of live weight of calves born by cows of group I in 1986, 1987 and

1988, was 180, 320 and 356 g, respectively; in group II 240, 380, 450, respectively, while in healthy young animals from the state farm Oktyabrsky, these figures were 490, 470, 540 respectively during the same years. However, since 1989, the daily average gain of live mass of young animals from cows with signs of radiation damage to the thyroid gland was normal and met the standard. During this period, animals were transferred to the state farm Strelichevo (Khoiniki district), where keeping conditions and feeding rations were better than at the farm Oktyabrsky.

In 1986, 1987 and 1988, the average daily milk production of cows in group I were 2.0, 2.7 and 3.5 kg respectively, and in group II 3.5, 4.0, and 5.0 kg; in the control this indicator was 4-5 kg higher.

Thus, the effects of iodine radioisotopes and other short-lived radionuclides from accidental release resulted in the development of chronic radiation disease of high severity, which was expressed in the defeat of the thyroid gland at doses of radionuclides absorption 180 and 280 Gy in endemic conditions of Belarusian Polesye. The radiation injury of the thyroid gland was seen in the form of hypo-function, atrophy and cytomorphological changes having a dose- and time-dependent manner. The course of chronic radiation disease of cattle caused both by the affects of ^{131}I on the thyroid gland, and other products of the accidental release during the first period of the accident can be divided into three stages:

I (first year after the accident) - the critical period, characterized by deep hypothyroidism, degenerative changes of the thyroid gland, high mortality of affected animals, significant oppression of the blood system, destructive changes of blood cells, impaired reproductive function and prenatal effect of radioisotopes, resulting in the pathology of the foetal development and high mortality;

II (two to three years after the accident) – the stabilization period, with the adaptation of animals to low concentrations of thyroid hormones in the blood serum, re-

Table 10. Dynamics of indicators of the reproductive function of the cows with signs of chronic radiation with different density of radionuclide contamination on the farms in Gomel region

Year of study	Group I		Group II	
	Nº of animals	%	Nº of animals	%
Dry cows				
1987	18	66.7	8	30.8
1988	25	96.2	7	40.0
1989	9	34.6	4	26.7
1990	10	40.0	4	33.3
1993	4	26.7	-	-
1994	2	25.0	-	-
Rate of fertilization				
1987	9	40.7	18	73.1
1988	1	11.5	8	53.3
1989	17	73.0	11	100
1990	23	63.2	8	72.9
Stillborn calves and abortions				
1987	2	18.2	1	5.2
1988	2	66.7	0	0
1989	2	10.5	1	6.7
1990	1	6.2	1	11.1
1993	0	0	-	-
1994	0	0	-	-
Calves mortality				
1987	6	66.7	4	22.2
1988	1	100	2	25.0
1989	2	11.8	2	18.2
1990	1	7.1	1	14.1
1993	1	9.1	-	-
1994	0	0	-	-

Note. I and II- dose of absorbed ^{131}I made respectively 270-280 and 180-190 Gy. The dash means that study was not carried out.

duced reproductive capacity and productivity, weakened calves were born, the mortality of young animals was increased, the instability of haematology and hormonal status of the cows, mortality of the animals from the most expressed hypothyroidism were observed;

III (four to eight years after the accident) – the recovery period, with the completion of adaptive and compensatory changes in the animals with signs of radiation exposure of the thyroid gland, the reproductive potential was normalized, milk yield of cows was increased, the survived individuals had stabilized haematological and hormonal parameters, the viability of offspring was increased.

Infectious diseases of cattle and wild animals in the conditions of increased radioactive contamination. The organization of work to prevent infectious diseases in the post-accident period

Diagnostic examination and vaccination of animals in all areas of radioactive pollution were carried out in the usual way using conventional doses and methods of commercial application of biological preparations. Exhausted and sick animals were weeded out. At farms located in areas of high radioactive contamination, the selective (25-50 head per farm) serological control of postvaccinal immunity was performed, particularly against dangerous diseases (anthrax, foot and mouth disease and other), 2-3 times per

year (at 3, 6 and 9 months after vaccination). Specialists of research institutions were involved in these examinations.

All animals positively reacting to tuberculin and brucellin were recorded, with subsequent repeated tests for allergens and serological tests. Timely measures were taken for the isolation, culling and liquidation of animals with tuberculosis and brucellosis.

In farms adjacent to the zones of increased radiation monitoring, reinforced preventive measures were performed against rabies: farm animals were vaccinated using commercial vaccines, cats and dogs were immunized; potential sources of the infection were eliminated through the capture of stray dogs and cats, and through the culling of wild animals (foxes, wolves).

Epizootic situation in the pre- and post-accident periods

The epizootic situation in the Gomel region following the Chernobyl accident changed considerably in comparison with the pre-accident period. In controlled farms and regions with a high density of radioactive contamination, outbreaks of infectious diseases such as foot-and-mouth disease, anthrax, plague, brucellosis were not registered. However, the degree of extended infections of young food animals remained at a fairly high level. In this regard, the main emphasis was placed on the peculiarities of the emergence of a epizootic situation in leukaemia and tuberculosis in cattle in the region.

The analysis of the extension of tuberculosis during 1988 in various regions and districts of Belarus showed that on 1 January 1988, the most disadvantaged places for TB were in Mogilev (60), Brest (43) and Gomel (37) regions, and the most prosperous was Grodno region (1). The highest number of tuberculosis cases of animals was reported in Gomel, Mogilev and Brest regions, with 3100, 2400 and 2100 head respectively.

A more detailed analysis and study of the extension of tuberculosis in cattle in Gomel region did not lead to the conclu-

sion that regions with a high density of radioactive contamination experienced a significant increase in the incidence of TB. The annual two-fold tuberculinization of cows with signs of chronic radiation exposure for 5 years after the accident allowed for the identification of cows positively responding to tuberculosis. In basic farms of the Gomel region, no animals were found to positively react to brucellosis during the period of 13 years after the accident.

A comparative analysis of the animals infected with the bovine leukaemia, conducted in 1989, showed that the share of IDT-positive individuals was 14.4% and 17.5% in the Gomel and Vitebsk regions respectively. During the next two years, this indicator in the Gomel region was within the range of 15-17%.

In the period from 1984 to 1994, no tendency was found of an increase in the incidence of animal rabies in the Gomel region. In 1984-1985, 1986 and 1987 and the subsequent years, in the region there were 22-45, 15-34 and not more than 24 cases of rabies registered, respectively.

In the period of 12 years after the Chernobyl catastrophe, no substantial increase in the mortality of cattle from infectious diseases was registered; the share of dead animals in the pre- and post-accident periods were not stated; the share of dead animals in the pre- and post-accident periods made 1.1-1.9% and 0.9-1.9%, respectively.

Immune status of food animals with signs of chronic radiation

Animals in all studied groups kept for a long time in areas with varying density of radiation contamination did not show any atypical reactions to the injection of bivalent (A, O) foot-and-mouth disease vaccine. The clinical and physiological parameters (hematological, biochemical, hormonal) of animals in all groups did not significantly deviate from the physiological standard both before the vaccination, and 21-30 day after injection of the vaccine, regardless of the density of radioactive contamination of the area.

There was no decrease of the intensity of formation of FMD prevention antibodies in cows with symptoms of radiation damage and their offspring compared with other groups of animals.

In cattle, in both 3 years and 7 years after the accident, the foot-and-mouth bivalent (A, O) vaccine caused the production of virus-neutralizing antibodies to both types of virus (A, O) on the 21-30th day after vaccination, in a quantity sufficient to protect animals from such molluscum diseases as foot-and-mouth, regardless of the level of radioactive contamination.

Budarkov described that sheep from zones with a density of radioactive contamination of 40-100 Ci/km² (Byelorussian Polesye) with signs of hypo- and athyreosis were characterized by low phagocytic activity of neutrophils, a decreased number of T- and B-lymphocytes, and inhibition of functional activity of T-lymphocytes (Budarkov et al., 1991). The vaccination actively supported the formation of specific antibodies. Immunized animals got through the infecting by relevant virulent pathogens of anthrax and viral infections.

Conclusions

Livestock issues in conditions of radioactive contamination are defined by the nature and composition of the accidental release of radionuclides into the environment. At the end of April 1986, cattle in the disaster region were transferred from winter-stalling to summer-grazing. One of the main dose-forming radionuclides in that period was ¹³¹I. As a result, there was danger of iodine contamination of grasslands, livestock, and radiation damage of thyroid glands of livestock and wild animals kept within the 30-km zone of the accidental release. In May 1986, protective measures were performed in these areas to reduce doses of radionuclides in livestock: animals were kept in stalls and further decontamination and evacuation to "clean" areas were organized.

During the first years following the disaster, much attention was paid to the

assessment of the clinical and physiological status of livestock receiving relatively high doses of radiation in 1986: 1.5-3.4 and 180-280 Gy, respectively were absorbed by the body and the thyroid gland. This was due to the long keeping (4.5 months) of cattle in the 30-km zone of the accidental release. Animals demonstrated the development of chronic radiation disease with signs of radiation damage of the thyroid glands, which appeared in the form of hyperthyroidism, atrophy and cyto-morphological changes, having a dose- and time-dependent nature, impairment of reproductive function, reduction of milk, oppression of blood formation and internal secretion glands, as well as high mortality of newborn calves. The clinical and physiological status of young of the first and second generation born from cows with signs of radiation damage of thyroid glands was characterized by a disbalance of reproductive function, adaptive-compensatory mechanisms, haematological and biochemical parameters of blood in changing environmental factors.

From 1986 to 1990, a comprehensive assessment was conducted twice a year of the physiological status, reproductive qualities and indicators of productivity of cattle kept in areas with varying density of radioactive contamination on farms of the contaminated areas of Gomel and Mogilev regions. In the period of the first examination in August 1986, the functional activity of the thyroid glands (hypo- and hyperthyroidism) was revealed in cows from the most contaminated areas, and partial herd replacement of the breeding stock was organised by the transfer of rearing stock from "clean" regions of the country.

A rapid decrease in the dose of absorbed radionuclides and the culling of unproductive animals greatly reduced the negative effects of the radiation factor on the farms located on the territory of radioactive contamination in the first post-accident period (1987-1989). The reproductive potential, productivity and clinical-physiological indicators of cows on the farms with a density of radioactive contamination of ¹³⁷Cs up to 1480 kBq/km² (40 Ci/km²) at a total dose of absorbed ra-

dionuclides by animals in the total to 0.24 Gy during 1986-1989 did not differ from similar parameters of animals kept in territories with low levels of radioactive contamination. The incidence rate of bovine leukaemia did not depend on the degree of contamination of the territory.

At present, a great danger in terms of complications of the epizootic situation may be represented by the 30-km CNPP zone and evacuation zone, where the number of wild ungulates and carnivores. However, according to studies conducted in 1987-1994, the epizootic situation in the region remained at the level of the pre-accident period. No outbreaks of acute infectious diseases of animals (other than rabies) were noted, though the extension of diseases such as leukaemia and bovine tuberculosis of cattle continues to cause great economic damage to farms due to the culling and slaughter of cows, shortfalls of young animals and products, as well as forced costs connected to animal disease control.

Abstract

The negative consequences for livestock in the areas affected by Chernobyl were examined and specific radiation effects on animals described. Data on the health, productivity and mortality of cattle in farms of the Gomel region are provided. The results of an evaluation of reproductive function of cows at dif-

ferent densities of radionuclide pollution during the study period are demonstrated. The clinical-physiological indicators, reproductive potential and immune status of cattle subject to chronic radiation damage are analyzed. The infectious diseases of food and wild animals and the epizootic situation in the pre- and post-incident periods are characterized.

Key words: Chernobyl, Livestock, Radiation effects

References

1. ANNENKOV, B. N., A. V. EGOROV and R. G. ILYAZOV (2004): Radiation accidents and rectification of their consequences in agrosphere. Kazan.
2. BUDARKOV, V. A., O. N. KARPOV and V. A. GAVRILOV (1991): Immunological monitoring of sheep in the Belorussain Polesie during the period from 1986 to 1990. In proceedings: Immunological status of people and radiation (All-Union Scientific Conference, Gomel, September, 1991).
3. ILYAZOV, R. G., R. M. ALEXAHIN, N. A. KORNEEV et al. (1996): Radioecological aspects of livestock breeding (consequences and countermeasures after Chernobyl Nuclear Power Plant accident) / Under edition by Ilyazov, R. G., Gomel.
4. ILYAZOV, R. G., A. N. SIROTKIN, B. P. KRUGLIKOV et al. (2002): Ecological and Radiobiological consequences of Chernobyl accident for livestock and ways of their passing. / Under edition by Ilyazov R.G. Kazan, 2002.
5. ILYAZOV, R. G., I. V. FISININ, F. H. SHAKIROV et al. (2006): Adaptation of agroecosphere to teochogenesis environment. Kazan: "Fan" Publishing House, Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan. P. 664.
6. KARPUT, I. M. (1986): Hematological atlas of livestock animals. Minsk, 1986.
7. SIROTKIN, A. N. and R. G. ILYAZOV (2000): Radioecology of live-stock animals. Kazan, 2000.

Veterinarske radiološke posljedice černobilske katastrofe

Dr. sc. Robert Ginyatulovich ILYAZOV, dr. med. vet., redoviti profesor, Akademija znanosti Republike Tatarstan, Kazan, Rusija

U ovom radu proučavaju su faktori negativnih posljedica za stoku u područjima pogodjenima černobilskom katastrofom. Opisuju se specifični učinci zračenja na životinje. Prikazani su podaci o zdravstvenom stanju, produktivnosti i stopama smrtnosti stoke na farmama regije Gomel. Navode se rezultati ocjene reproduktivne funkcije krava pri različitim gustoćama zagađenja radionuk-

lidima unutar godina istraživanja. Analizirani su kliničko-fiziološki pokazatelji, reproduktivni potencijal i imunološki status stoke kod kroničnih oštećenja zračenjem. Opisane su zarazne bolesti stoke i divljih životinja, kao i epizootiološka situacija u razdoblju prije i nakon katastrofe.

Ključne riječi: Černobil, stoka, posljedice zračenja

Bruceloza u morskih sisavaca (I. dio)

Ž. Cvetnić*, Maja Zdelar-Tuk, Sanja Duvnjak, Martina Đuras,
T. Gomerčić, Irena Reil i S. Špičić



Uvod

Bruceloza je prepoznata i dokazana u kitova, dupina, tuljana, morskih lavo-va, morževa i vidra. Čini se da je široko rasprostranjena u morskih sisavaca, a klinički se po svemu sudeći očituje placentitism i pobačajem, neonatalnom smrtnošću, meningoencefalitisom, apsesima po koži. Brusele su izdvojene i iz morskih sisavaca bez ikakvih simptoma i tkiva bez patoloških promjena. Bruceloza se može prenijeti na kopnene sisavce koji se hrane morskim sisavcima, poput sjevernog medvjeda. Pokusima je dokazano da mogu inficirati i domaće životinje. Prirodno su se inficirali i ljudi, najčešće oni koji su profesionalno izloženi i rade s morskim sisavcima (Hernandez-Mora i sur., 2013.).

Potencijalni domaćini *Brucella* (B.) u vodenim sustavima mogu uključiti čak oko 130 vrsta morskih sisavaca koji žive i hrane se u morima, rijekama i jezerima. Među njima je 86 različitih vrsta kitova iz reda *Cetacea* iz podreda *Odontoceti* (kitovi zubani) i *Mysticeti* (kitovi usani) kojem pripadaju dupini i kitovi, 36 vrsta koje pripadaju u podred *Pinnipedia* (perajari), porodicu *Otariidae* (ušani), *Odobenidae* (morževi), *Phocidae* (tuljani). Osim toga sjeverna morska vidra (*Enhydra lutris*), južna morska vidra (*Lutra felina*), polarni

medvjed (*Ursus maritimus*), morska krava (*Trichechus* sp.), kitolike morske krave (*Dugong dugon*) isto tako čine skupinu morskih sisavaca (Jefferson i sur., 2008. cit. Hernandez-Mora i sur., 2013., Gomerčić, 1998.).

Etiologija

Proučavanje bruceloze u morskih sisavaca započelo je 1994. godine kada je *Brucella* sp. prvi puta izdvojena iz lešina običnog tuljana (*Phoca vitulina*), obalnog dupina (*Phocoena phocoena*) i običnog dupina (*Delphinus delphis*) koji se nasukao uz obalu Škotske, kao i iz pobačenog ploda dobrog dupina (*Tursiops truncatus*) iz zatočeništva u američkoj saveznoj državi Kaliforniji (Ewalt i sur., 1994., Ross i sur., 1994., 1996.).

Minimalni standardi za opisivanje novih vrsta i biotipova roda *Brucella* predloženi su 1975. godine. Pododbor za taksonomiju bakterija roda *Brucella* je 2003. godine je ponovno evaluirao kriterije za definiranje vrste roda *Brucella*, zbog razvoja novih molekularnih metoda, s posebnim osvrtom na sojeve izdvojene iz morskih sisavaca. Temeljem konvencije o nomenklaturi brucela tradicionalno se vrsta imenuje po glavnom domaćinu. U početku su svi navedeni sojevi nazvani *B. maris*

Dr. sc. Željko CVETNIĆ*, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, naslovni redoviti profesor, (dopisni autor, e-mail: cvetnic@veinst.hr), dr. sc. Maja ZDELAR-TUK, dr. med. vet., znanstvena savjetnica, dr. sc. Sanja DUVNJAK, dipl. ing. molekul. biol., Irena REIL, dr. med. vet., dr. sc. Silvio ŠPIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Martina ĐURAS, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Tomislav GOMERČIĆ, dr. med. vet., docent, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

(Jahans i sur., 1997.). Kasnije su studije pokazale da se radi o dvije vrste brucela. Izolati iz kitova su prvo nazvani *Brucella cetacea* (Cloeckaert i sur., 2001.). Godine 2007. preimenovane su u *Brucella ceti* čiji su prirodni domaćini kitovi (*Cetacea*). Izolati iz perajara razlikuju se od *B. ceti* i nazvani su *B. pinnipedialis* čiji su domaćini tuljani (*Phocidae*) (Corbel i Morgan, 1975., Corbel i sur., 1983., Osterman i Moriyon, 2006., Cloeckaert i sur., 2003., Foster i sur., 2002., 2007.).

Veliko istraživanje koje je obuhvačalo 102 izolata izdvojenih bakterija vrste *B. ceti* i *B. pinnipedialis* pokazalo je da postoje značajne razlike u karakteristikama tih sojeva. Pri čemu je rast pri CO_2 posebno bio značajan u identifikaciji, jer je CO_2 u atmosferi bio potreban za rast izolata iz tuljana, a nije bio potreban izolatima iz kitova (Dawson i sur., 2008.). Isto tako drugim analizama uz primjenu oksidativnog metaboličkog obrasca u različitim supstancama, potvrdila se prvobitna podjela, pri čemu prva podjela obuhvaća izolate iz tuljana i vidri, a druga i treća skupina obuhvaćaju izolate iz kitova. Drugim komercijalnim biokemijskim postupcima lako se razlikuju sojevi izdvojeni iz tuljana i dupina sa specifičnošću od 100% (Jacques i sur., 2007., Al Dahouk i sur., 2010.). Iako svi izdvojeni izolati iz kitova pripadaju *B. ceti*, prepoznate su tri različite skupine prema preferiranom domaćinu, nekim bakteriološkim svojstvima i zasebnim genetskim svojstvima. Navodi se da postoje tri tipa *B. ceti*, onaj izdvojen iz običnog dupina, iz obalnog dupina i iz čovjeka. Smatra se da sojevi izdvojeni iz dupina i obalnog dupina pokazuju promjenjivu infektivnost prilikom pokusa na kopnenim životinjama i nisku infektivnost za ljude. Međutim brucelozu se u nekih običnih dupina i obalnih dupina pokazala teškom kroničnom bolešću, koja pokazuje teške kliničke i patološke znakove vezane

uz pobačaje, neplodnost mužjaka, neurobrucelozu, kardiopatije, lezije kostiju i kože, nasukavanja i u konačnici uginuće (Guzman-Verri i sur., 2012.).

B. pinnipedialis je izdvojena iz tuljana mjejhuraša (*Cystophora cristata*) koji su se nasukali ili su ulovljeni u njihovom prirodnom okruženju (Nymo i sur., 2011.). Unatoč visokom omjeru seropozitivnih (31-35%) i bakteriološki pozitivnih (38%) tuljana mjejhuraša u populaciji sjeveroistočnog Atlantika, nisu prijavljene nikakve veće patološke promjene (Tryland i sur., 2005.). Od 204 serološki pretražena tuljana mjejhuraša na sjeverozapadnom dijelu Atlantika pozitivne serološke reakcije utvrđene su u 10 (5%) životinja (Nielsen i sur., 2001.). Više istraživanja je pokazalo da izolati iz tuljana mjejhuraša čine jednu skupinu koja se razlikuje od izolata dobivenih iz drugih vrsta tuljana (Nymo i sur., 2011.).

Sekvencioniranje 16S rRNK izolata bakterije *Brucella* iz kita pokazalo je homolognost od 99,5% sa 16S rRNK šest klasičnih vrsta bakterija *Brucella*. Raspored multiplih sekvenci *recA* i 16S rRNK genskih sekvenci šest klasičnih bakterijskih vrsta roda *Brucella* i izolata iz kita i običnog tuljana pokazao je da su svi identični (Scholz i sur., 2006.). Kasnijim istraživanjima DNK-DNK hibridizacija je pokazala da brucele iz morskih sisavaca pripadaju monospecifičnom rodu *Brucella* (Verger i sur., 2000.).

Brucella ceti

Sojevi *B. ceti* izdvojeni su iz sisavaca dva postojeća podreda kitova: *Mysticetia*, kitovi usani i *Odontoceta*, kitovi zubani. Prvi podred uključuje četiri porodice kitova usana, koji se hrane filtriranjem i gutanjem planktona (brazdasti kitovi) i obiranjem planktona (glatki i patuljasti kitovi), odnosno filtriranjem mulja s morskog dna (sivi kit). Podred kitova zubana

sadrži skupinu od osam porodica koje uključuju prave i patuljaste ulješure, dupine pokretnog vrata, brazdaste dupine, šiljatozube dupine obalne dupine, indijske i južnoameričke riječne dupine i šiljatokljune riječnomorske dupine. *B. ceti* je dokazana (izdvajanjem ili dokazom PCR) u samo četiri porodice: *Balaenopteridae* (brazdasti kitovi), *Phocoenidae* (obalni dupini), *Delphinidae* (šiljatozubi dupini) i *Monodontidae* (dupini pokretnog vrata). Brucelle su dokazane u mnogih vrsta poput obalnog dupina (*Phocoena phocoena*), dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), plavobjelog dupina (*Stenella coeruleoalba*), bijelokljunog dupina (*Lagenorhynchus albirostris*), kita ubojice (*Orcinus orca*) i drugih. Protutijela su dokazana u sedam porodica i u 35 različitih vrsta, što ukazuje da je infekcija brucelama u morskih sisavaca iz porodica kitova vrlo učestala (Guzman-Verri i sur., 2012.).

Brucelzoza u kitova se smatra važnom bolešću koja ugrožava njihovo očuvanje. Zbog migracije kitova, unutar nacionalnih programa kontrole teško je njih uključiti i službeno pratiti i kontrolirati brucelozu ili druge bolesti. U zonama intenzivne ljudske aktivnosti, veća je vjerojatnost interakcije između kitova i ljudi, a samim time je i lakše širenje bruceloze među njima. Praksa poput lova i prekomjernog ribolova, onečišćenje mikroorganizmima i različitim drugim onečišćenjima dovodi u rizik hranidbene resurse kitova. Takve negativne aktivnosti mogu potaknuti grupiranje kitova unutar smanjenog područja uz smanjenu dostupnost hrane što prouzroči prekomjerno natjecanje i nedovoljnu ishranjenost. Tijekom vremena svi ti uvjeti mogu znatno povećati broj prijemljivih životinja i poticati prijenos bruceloze unutar vrste i različitih vrsta iz reda kitova. Budući da je brucelzoza bolest koja remeti reproduktivnu funkciju,

njezina prevalencija u sisavaca iz reda kitova mogla bi imati veliki utjecaj u populacijskoj dinamici kitova i dupina. Red kitova (*Cetacea*) ima veliku ekološku i komercijalnu vrijednost, budući da su temeljni dio prehrambenog lanca i izvor proteina i masnoća za mnoge ljude širom svijeta (Endo i sur., 2005.).

Osim navedenog kitovi i dupini su turistička atrakcija u akvarijima i na obalama, a dupini se upotrebljavaju i u medicinsko-terapijske svrhe. Ujedno tzv. "whalewatching" sve više pridonosi kroz taj vid turizma, odnosno gospodarstvu pojedinih zemalja. Red kitova (*Cetacea*) ima veliku ekološku važnost budući da se radi o predatorima na vrhu hranidbenog lanca. Očuvanje kitova je moralna i kulturno-istorijska potreba, a u mnogim zemljama i zakonska obveza. Među pojavnama koje dovode ljude u bliski dodir s tim životnjama je dolazak na obalu dezorientiranih dupina i kitova koji pokazuju probleme s plivanjem. Posljednjih godina sve je više takvih događaja i dodira ljudi s nasukanim kitovima i dupinima širom svijeta, čime se povećava rizik od prijenosa patoloških brucela s tih sisavaca na ljude i domaće životinje (Guzman -Verri i sur., 2012.).

Iako nisu izravne neke usporedne analize ukazuju da su pojedine vrste iz reda kitova prijemljivije na infekciju brucelom od drugih vrsta. Među kitovima zubanima bruceliza se najčešće javlja u obalnog dupina (*Phocena phocena*), zatim u plavobjelog dupina (*Stenella coeruleoalba*), atlanskog bjelobokog dupina (*Lagenorhynchus acutus*), dobrog dupina (*Tursiops truncatus*), običnog dupina (*Delphinus delphis*) te patuljastog kita (*Balaenoptera acutorostrata*) (Hernandez-Mora i sur., 2013.) (Tabela 1. i 2.).

Tabela 1. Seroprevalencija bruceloze u kitova i konzumacija njihovog mesa (prema Hernandez-Mora i sur., 2013.).

Kitovi (<i>Cetacea</i>) (<i>Balaenidae</i> – glatki kitovi, <i>Neobalaenidae</i> – mali kitovi, <i>Balaenopteridae</i> – brazdasti kitovi, <i>Eschrichtiidae</i> – sivi kitovi, <i>Physeteridae</i> – prave ulješure, <i>Kogidae</i> – patuljaste ulješure)	Brojnost populacije	Seroprevalencija Pozitivno/ Ukupno	Potrošnja mesa kitova za hranu ljudi
Južni pravi kit (<i>Eubalaena australis</i>)	8.000	1/31	Da
Veliki sjeverni kit (<i>Balaenoptera physalus</i>)	140.000	12/108	Da
Mali sjeverni kit (<i>Balaenoptera borealis</i>)	80.000	7/49	Da
Tropski kit (<i>Balaenoptera brydei</i>)	40.000	4/43	Da
Patuljasti kit (<i>Balaenoptera acutorostrata</i>)	180.000	32/256	Da
Sivi kit (<i>Eschrichtius robustus</i>)	20.000 (b)	1/1	Da
Glavata ulješura (<i>Physeter macrocephalus</i>)	360.000	1/9	Da
Patuljasta ulješura (<i>Kogia breviceps</i>)	Nepoznata	6/22	Da
Jednorogi narval (<i>Monodon monocerus</i>)	50.000	5/77	Da

Tabela 2. Seroprevalencija bruceloze u dupina i konzumacija njihovog mesa (prema Hernandez-Mora i sur., 2013.).

Dupini (<i>Monodontidae</i> – dupini, <i>Ziphiidae</i> – brazdasti dupini, <i>Delphinidae</i> – šiljatozubi dupini, <i>Phocoenidae</i> – obalni dupini, <i>Platanistidae</i> – indijski riječni dupin, <i>Iniidae</i> – južnoamerički riječni dupini, <i>Pontoporiidae</i> – šiljatokljuni riječnomorski dupini)	Brojnost populacije	Seroprevalencija Pozitivno/ Ukupno	Potrošnja mesa morskih sisavaca za hranu ljudi
Bijeli dupin (<i>Delphinapterus leucas</i>)	150.000	38/635	Da
Krupnozubi dupin (<i>Ziphius cavirostris</i>)	110.000	1/2	Da
Sowerbyov kljunasti dupin (<i>Mesoplodon bidens</i>)	Nepoznata	1/3	Ne
Kit ubojica (<i>Orcinus orca</i>)	90.000	8/9	Da
Bijelogrli dupin (<i>Globicephala melas</i>)	990.000	3/25	Da
Bijelotrušni dupin (<i>Feresa attenuata</i>)	39.000	1/3	Da
Šiljatoglavi bijeloprsi dupin (<i>Steno bredanensis</i>)	150.000	12/23	Da
Tamnokljuni dupin (<i>Lagenorhynchus abscurus</i>)	Nepoznata	21/27	Da
Bijekokljuni dupin (<i>Lagenorhynchus albirostris</i>)	100.000	2/10	Da
Atlanski bijeloboki dupin (<i>Lagenorhynchus acutus</i>)	150.000	4/12	Da

Glavati dupin (<i>Grampus griseus</i>)	330.000	8/11	Da
Dobri dupin (<i>Tursiops truncatus</i>)	>600.000	60/349	Da
Pacifički dobrí dupin (<i>Tursiops aductus</i>)	Nepoznata	17/74	Da
Crnomorski dobrí dupin (<i>Tursiops truncatus ponticus</i>)	Nepoznata	40/133	Da
Tropski pjegavi dupin (<i>Stenella attenuata</i>)	>2.000.000	1/6	Da
Dugokljuni tropski dupin (<i>Stenella longirostris</i>)	800.000	7/7	Da
Plavobijeli dupin (<i>Stenella coeruleoalba</i>)	>1.000.000(a)	46/64	Da
Obični dupin (<i>Delphinus delphis</i>)	>3.500.000	14/39	Da
Hoseov dupin (<i>Lagenodelphis hosei</i>)	280.000 (a)	5/24	Da
Sjeverni glatkoleđi dupin (<i>Lissodelphis borealis</i>)	>80.000	1/1	Da
Maui dupin (<i>Cephalorhynchus hectori maui</i>)	<100	1/3	Ne
Novozelandski Hectorov dupin (<i>Cephalorhynchus hectori</i>)	7.300	1/1	Ne
Dallov obalni dupin (<i>Phocoenoides dalli</i>)	>1.200.000	2/6	Da
Obalni dupin (<i>Phocoena phocoena</i>)	<675.000	200/808	Da
Južnoamerički Burmeisterov obalni dupin (<i>Phocoena spinipinnis</i>)	Nepoznata	5/25	Da

a) populacija prisutna samo u istočnom tropskom Pacifiku

b) populacija prisutna samo u samo sjevernom Pacifiku

Brucella pinnipedialis

Brucele su izdvojene iz tuljana iz porodice *Phocidae* (tuljani) i *Otariinae* (morski lavovi). Dokazane su u šest vrsta tuljana: tuljan mjejhuraš (*Cystophora cristata*), kolutasti tuljan (*Phoca hispida*), grenlandski tuljan (*Phoca groenlandicus*), čunjasti tuljan (*Halichoerus grypus*), pacifički obični tuljan (*Phoca vitulina richardii*), običnog tuljan (*Phoca vitulina*) (Foster i sur., 1996., Forbes i sur., 2000., 2002., Tryland i sur., 2005.). Brucele su isto tako izdvojene iz kalifornijskog morskog lava (*Zalophus californianus*) (Goldstein i sur., 2009.). Protutijela su dokazana u morskih sisavaca iz reda *Carnivora*, podreda *Pinnipedia*, porodica *Otariidae*, *Odobenidae*, *Phocidae*, podreda *Fissipedia*, porodice *Mustelidae* i porodice

Ursidae, u 17 različitih vrsta: sjevernog morskog lava, australskog morskog lava, antarktičkog morskog medvjeda, australskog morskog medvjeda, morža, običnog tuljana, pacifičkog tuljana, grenlandskog tuljana, čunjastog tuljana, havajske medvjedice, mjejhurastog tuljana, leopardskog tuljana, Wedellovog tuljana, aljaške vidre, južne morske vidre, europske vidre i u polarnog medvjeda. Izolati su izdvojeni iz životinja iz Sjevernog Atlantika (Sjeverna Irska, Nova Engleska, Kanada), Sjevernog mora (Škotska, Njemačka) i Pacifičkog Oceana (Kalifornija, SAD) (Hernandez-Mora i sur., 2013.). (Tabela 3).

Tuljani mjejhuraši, porodica *Phocidae*, rod *Cystophora cristata*, dužine su od 2 do 2,5 m i težine 200 do 300 kg. Tuljani mjejhuraši su životinje specijalizirane za

duboko ronjenje i dosežu dubinu od čak 100 metara i ostaju ispod vode i do jednog sata. Ženka tuljana donosi na svijet jedno mладунче, a razdoblje laktacije i brige za mладунче je iznimno kratko i traje tri do pet dana. Hrane se lignjama te polarnim bakalarom. Čine ga dvije populacije: populacija sjeveroistočnog Atlantika i sjeverozapadnog Atlantika. Populacija tuljana sjeveroistočnog Atlantika se smanjila, ali se stabilizirala na razini 10-15% od one iz 1946 godine. Procjeruje se da se godišnje okoti oko 15 000 mладунčadi što daje populaciju od oko 83 000 tuljana. Komercijalni lov na tuljane je reguliran u Norveškoj posebnim kvotama tijekom posljednjih 25 godina te je ulov smanjen. Komercijalni lov na tuljane u sjeverozapadnom Atlantiku (Kanada) reguliran je od 1972., i situacija je znatno povoljnija te se smatra da je tamo populacija prilično brojna i iznosi oko 595 000 tuljana. Razlog za porast veličine populacije je nepoznat, ali opadanje broja životinja na istočnoj strani je toliko dramatično da je tuljan mjeđu klasificiran kao ugrožena vrsta (Nymo i sur., 2011.).

Prijenos bruceloze u morskih sisavaca

Članovi roda *Brucellae* nisu pokretljivi i ne prežive dugo u nepovoljnim uvjetima, zato su za opstanak morskih vrsta iznimno važna oceanografska svojstva poput temperature, saliniteta, gustoće, hranjivih tvari i kisika (Talley i sur., 2011., cit. Hernandez-Mora i sur., 2013.). Razrjeđivanje bakterija ispod infektivne doze može ometati prijenos. Način prijenosa bruceloze u morskih sisavaca nije još utvrđen, smatra se da se infekcija u kitova može širiti između pojedinih jedinki spolnim kontaktom ili prilikom pobačaja u dodiru s pobačenim plodom i tkivom posteljice. Osim toga poznat je i vertikalni način s majke na fetus ili novorođenče. U tuljana je način prijenosa

u pravilu malo poznat, ali zajednički život u skupinama i stalni neposredni dodir pogoduje širenju infekcije među njima (Hernandez-Mora i sur., 2008., 2009., Guzman-Verri i sur., 2012.).

Plućne nematode (*Pseudalius inflexus*) su prepoznati kao mogući vektori bruceloze u morskom okolišu. Brucele su identificirane u maternici i crijevnom lumenu plućnih nematoda izdvojenih iz dupina i tuljana. U životnom ciklusu ovih parazita poznato je da tijekom razvoja migriraju kroz respiratori sustav morskih lavova, zatim dolaze u probavni sustav, odonuda izmetom odlaze u okoliš. Zelena riba (*Girella nigricans*) i drugi posrednici poput koprofagičnih riba pojedu kontaminirani izmet. Ribe kasnije dospiju u životni ciklus morskih sisavaca te se u probavnom sustavu oslobođaju ličinke, opet migriraju u pluća i nastavljaju ciklus razvoja. Izlučivanje brucela izmetom tuljana isto tako potvrđuje širenje brucela preko koprofagnih riba na tuljane (Garner i sur., 1997., Perrett i sur., 2004., Dawson i sur., 2008.).

Brucella i ribe

Serološke i bakteriološke studije nakon pokusno inficiranih riba vrste nilski som (*Clarias gariepinus*) suputano s *B. melitensis* (biovar 3), dokazale su prisutnost protutijela već nakon sedam dana poslije inokulacije, a titar protutijela se održavao pet tjedana. Bakteriološki su brucele izdvojene iz različitih organa inficiranih riba (Salem i Mohsen, 1997.).

Bruceloza je endemska bolest među preživačima duž delte Nila u Egiptu. Nedavna izvješća pokazuju da se povećala učestalost bruceloze u ljudi. U tom području postoji praksa bacanja životinjskog otpada u Nil. Rezultat takva onečišćenja može biti infekcija riba vrstom *B. melitensis*. Istraživanja su provedena na 120 somova iz Nila. Pozitivne serološke reakcije utvrđene su u 11 (9,2%) riba, a lančanom reakcijom polimerazom (PCR)

ustanovljene su u 16 (13,3%) uzoraka kožnih briseva, 6 (5%) uzoraka jetara, 5 (4,2%) uzoraka bubrega i 6 (5%) slezene. Prema dosadašnjim spoznajama, ovo je prvo izvješće o izdvajaju *B. melitensis* bivara 3 iz riba. Istraživanje je nedvojbeno pokazalo da je nilski som zaražen vrstom *B. melitensis* biovar 3, što može imati veliku ulogu u epidemiologiji bruceloze u ljudi (El-Tras i sur., 2010.).

U nerazvijenim zemljama životinjski otpad može biti pohranjen u rijeke te rijeka i ribe mogu biti inficirane brucelama. Nije poznato koliko riba može imati ulogu kao rezervoar i u širenju infekcije u vodenim sustavima. Međutim poznate su infekcije ljudi brucelama koji su često konzumirali sirove plodove mora (McDonald i sur., 2006.).

Infekcije ljudi s brucelama iz morskih sisavaca

Brucelzoa je svjetska zaraza, rasprostranjena u kopnenih životinja i ljudi. Smatra se da manje od 10% slučajeva bruceloze u ljudi nije klinički prepoznato, niti je odgovarajuće liječeno i nije izvješteno o tome (Mantur i sur., 2007.). Brucele se s morskih sisavaca mogu prenijeti na ljude. Prvi opisani slučaj bruceloze u ljudi prouzročen brucelama podrijetlom iz mora posljedica je profesionalne izloženosti. Ljudi koji love morske sisavce, kitolovci i lovci na tuljane osobito su rizična skupina, a posebice kada obrađuju trupla ili jedu sirovu meso. U ugrožene skupine ubrajuju se zoolozi, veterinari, laboratorijski radnici, ribari ljudi koji rade s morskim sisavcima u različitim centrima, kao i svi oni koji pristupe nasukanim životinjama ili lešini na plaži (Nymo i sur., 2011.). Prvi opisani slučaj u laboratorijskog radnika iz 1999. godine posljedica je profesionalne izloženosti. Laborantica je obrađivala sojeve izdvojene iz morskih sisavaca i inficirala se te se u nje razvila bakterijemija. Imala je blage simptome, poput glavobolje, umor, teški sinu-

sitis i bila je serološki pozitivna, a klinički znaci su nestali nakon antibiotske terapije. Brucele su izdvojene iz njezine krvi i identificirane kao *B. maris* (Brew i sur., 1999.).

U SAD su opisana dva slučaja jedan s neurobrucelozom, a drugi s intracerebralnim granulomima. Jedna osoba je imala višemjesečnu periorbitalnu bol i povremene glavobolje. Druga je imala glavobolje tijekom godine dana, mučnine, povraćanja i progresivno pogoršanje vida. Izvor zaraze se nije mogao točno odrediti, ali oba bolesnika su nedavno emigrirala iz Perua i redovito konzumirala sirovu ribu te imali značajnu izloženost morskim sisavcima (Sohn i sur., 2003.). U Novom Zelandu opisan je i slučaj u čovjeka s osteomijelitisom na kralježnici, koja se klinički očitovala s groznicom, jakim bolovima u lumbalnom dijelu kralježnice. Ovaj pacijent je bio ribar koji je imao stalni dodir sa sirovom ribom koju je koristio kao mamac, a često je i konzumirao sirovu ribu (McDonald i sur., 2006.).

Infekcije u ljudi prouzročene brucelama podrijetlom iz morskih sisavaca slične su infekcijama s klasičnim brucelama izdvojenim iz kopnenih sisavaca. U većine ljudi brucelzoa izaziva slične simptome. Infekcija može biti simptomatska i asimptomatska. U slučajevima sa simptomima, bolest je izuzetno promjenljiva i klinički se znaci mogu pojavit podmuklo i naglo. Najčešće započinje s vrućicom, glavoboljom, slabošću, bolovima u ledjima, mišićima i općom slabošću. Jedan od tipičnih simptoma je noćno znojenje. Može doći do spontanog ozdravljenja (rjeđe), a najčešće se brucelzoa očituje spondilitisom, artritisom, kroničnim umorom, epididimitisom i orhitom. Ponekad se javе i neurološki simptomi, meningitis, uveitis, depresija. Može doći i do pojave apscesa na jetri i slezeni, do pojave nefritisa, endokarditisa i dermatitisa. Neurološki se znaci javljaju u manje od 5% bolesnika. Bolest se lijeći antibioticima, ali može doći do recidiva

i nekoliko mjeseci nakon početnih simptoma. Stopa smrtnosti nije visoka, u 2% do 5% neliječenih bolesnika, a obično je prouzročena endokarditisom i meningitisom (Brew i sur., 1999.).

Brucele morskih sisavaca u ostalih životinja

Goveda pokušno inficirana intravenoznom aplikacijom kulture *B. pinnipedialis* izdvojene iz pacifičkog običnog tuljana su pobacila i u njih su kasnije utvrđena protutijela (Rhyam i sur., 2001.). U jednom pokušu deset prasadi je inficirano *Brucellom* sp. podrijetlom iz morskih sisavaca, a koja je inficirala ljude (McDonald i sur., 2006.). U prasadi nisu uočene nikakve patološke promjene, niski titrovi protutijela zabilježeni su u tri praseta, a brucele su izdvojene iz limfnog čvora tri druga praščića (Bingham i sur., 2008.). Pokušnom infekcijom izolatima iz morskih sisavaca izdvojenima iz dobrog dupina, običnog dupina i tuljana inficirane su gravidne ovce i zabilježena je pojava niskog titra protutijela. Nije došlo do značajnih patoloških promjena u inficiranih ovaca. Infekcija zamorčadi s tri ista izolata dovela je do splenomegalije i visokog titra protutijela (Perrett i sur., 2004.). U drugom je istraživanju dokazano da je *B. ceti* manje virulentna od brucela podrijetlom iz preživača i glodavaca (Ewalt i sur., 1994.). Tuljani predstavljaju važnu kariku u prehrani polarnih medvjeda, na Arktiku su u 5 do 10% populacije medvjeda utvrđena protutijela za brucelozu (O'Hara i sur., 2010.). Isto tako opisana je seroprevalencija od 3 do 8% vidre na Aljasci (Hanni i sur., 2003.).

Sažetak

Brucelozu je prepoznata i dokazana u kitova, dupina, tuljana, morskih lavova, morževa i vidra. Klinički se po svemu sudeći očituje placentitisom i pobačajem, neonatalnom smrtnošću, meningoencefalitisom, apsesima po koži. Poznato je da su brucele izdvojene iz

morskih sisavaca bez ikakvih simptoma i tkiva bez patoloških promjena. Potencijalni domaćini *Brucella* u vodenim sustavima mogu uključiti čak oko 130 vrsta morskih sisavaca koji žive i hrane se u morima, rijekama i jezerima. U početku su svi izolati izdvojeni iz morskih sisavaca nazvani *B. maris*. Kasnije su studije pokazale da se radi o dvije vrste brucela. Izolati iz kitova nazvani su *Brucella ceti*, a prirodni domaćini su im kitovi (*Cetaceans*). Izolati iz perajara nazvani su *B. pinnipedialis*, a najčešći domaćini su tuljani (*Phocidae*). Nakon gotovo dva desetljeća istraživanja i pronalaska brucele u morskih sisavaca sada je dobro poznato da je brucelozu u morskih sisavaca globalno rasprostranjena. Dokazano je da ljudi iz 114 različitih zemalja često imaju dodir s morskim sisavcima. Profesionalna izloženost ljudi odgovorna je i za prvi opisani slučaj brucele u morskih sisavaca podrijetlom iz mora. Ljudi koji love morske sisavce, kitolovci i lovci na tuljane su rizična skupina, a osobito kada obrađuju trupla ili konzumiraju sirovo meso. U druge ugrožene skupine ubrajaju se zoologzi, veterinari, laboratorijski radnici, ribari, ljudi koji rade s morskim sisavcima u različitim centrima, kao i svi oni koji pristupaju nasukanim životnjama ili lešinama na plaži.

Ključne riječi: brucelozu, morski sisavci, *Brucella ceti*, *Brucella pinnipedialis*

Literatura

1. AL DAHOUK, S., H. C. SCHOLZ, H. TOMASO, P. BAHN, C. GOLLNER, W. KARGES, B. APPEL, A. HANSEL, H. NEUBAUER and K. NOCKLER (2010): Differential phenotyping of *Brucella* species using a newly developed semi-automated metabolic system. *BMC Microbiol.* 10, 269.
2. BINGHAM, J., T. K. TAYLOR, J. E. SWINGLER, G. MEEHAN, D. J. MIDDLETON, G. F. MACKERET and P. W. DANIELS (2008): Infection trials in pigs with a human isolate of *Brucella* (isolate 02/611 "marine mammals type"). *N. Z. Vet. J.* 56, 10-14.
3. BREW, S. D., L. L. PERRETT, A. P. MACMILLAN and N. J. STAUNTON (1999): Human exposure to *Brucella* recovered from a sea mammal. *Vet. Rec.* 24, 483-484.
4. CLOECKAERT, A., J. M. VERGER, M. GRAYON, J. Y. PAQUET, B. GARIN-BASTUJI, G. FORSTER and J. GODFROID (2001): Classification of *Brucella* spp. isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the *omp2* locus. *Microbes. Infect.* 3, 729-738.
5. CLOECKAERT, A., M. GRAYON, O. GREPINET and K. S. BOUMEDINE (2003): Classification of *Brucella* strains isolated from marine mammals by

- infrequent restriction site-PCR and development of specific PCR identification tests. *Microbes Infect.* 5, 593-602.
6. CORBEL, M. J. and W. J. B. MORGAN (1975): Proposal for minimal standards for descriptions of new species and biotypes of the genus *Brucella*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 25, 83-89.
 7. CORBEL, M. J., K. P. W. GILL and E. L. THOMAS (1983): Methods for the identification of *Brucella*. Central Veterinary Laboratory, New Haw, Weybridge, 1-63.
 8. DAWSON, C. E., E. J. STUBBERFIELD, L. L. PERRETT, A. C. KING, A. M. WHATMORE, J. B. BASHIRUDDIN, J. A. STACK and A. P. MACMILLAN (2008): Phenotypic and molecular characterisation of *Brucella* isolates from marine mammals. *BMC Microbiol.* 8, 224-227.
 9. EL-TRAS, W. F., A. A. TAYEL, M. M. ELTHOLTH and J. GUITIAN (2000): Brucella infection in fresh water fish: evidence for natural infection of Nile catfish, *Clarias gariepinus* with *Brucella melitensis*. *Vet. Microbiol.* 141, 321-325.
 10. ENDO, T. K. HARAGUCHI, Y. HOTTAN, Y. HISAMICHI, S. LAVERY, M. L. DALEBOUT and C. S. BAKER (2005): Total mercury, methyl mercury, and selenium levels in the red meat of small cetaceans sold for human consumption in Japan. *Environ. Sci. Technol.* 39, 5703-5708.
 11. EWALT, D. R., J. B. PAYEUR, B. M. MARTIN, D. R. CUMMINS and W. G. MILLER (1994): Characteristic of *Brucella* species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 448-452.
 12. FORBES, L. B., O. NIELSEN, L. MEASURES and D. R. EWALT (2000): Brucellosis in ringed seals and harp seals from Canada. *J. Wildl. Dis.* 36, 595-598.
 13. FOSTER, G., K. L. JAHANS, R. J. REID and H. M. ROSS (1996): Isolation of *Brucella* species from cetaceans, seals and an otter. *Vet. Rec.* 138, 583-586.
 14. FOSTER, G., A. P. MACMILLAN, J. GODFROID, F. HOWIE, H. M. ROSS, A. CLOECKAERT, R. J. REID, S. BREW and I. A. PATTERSON (2002): A review of *Brucella* spp. Infection of sea mammals with particular emphasis on isolates from Scotland. *Vet. Microbiol.* 90, 563-580.
 15. FOSTER, G., B. S. OSTERMAN, J. GODFROID, I. JACQUES and A. CLOECKAERT (2007): *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57, 2688-2693.
 16. GARNER, M. M., D. M. LAMBOURN, S. J. JEFFRIES, P. B. HALL, J. C. RHYAN, D. R. EWALT, L. M. POLZIN and N. F. CHEVILLE (1997): Evidence of *Brucella* infection in Parafilcrois lungworms in a Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardsi*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 9, 298-303.
 17. GOLDSTEIN, T., T. S. ZABKA, R. L. DEKLONG, E. A. WHEELER, G. YLITARO, S. BARGU, M. SILVER, T. LEIGHFIELD, F. DOLAH, G. LANGLOIS, I. SIDOR, J. L. DUNN and F. M. GULLAND (2009): the role of domoic acid in abortion and premature parturition of California sea lion (*Zalophus* *Californianus*) on San Miguel Island, California. *J. Wildl. Dis.* 45, 91-108.
 18. GOMERČIĆ, H. (1998): Sistematička i nazivljive morskih sisavaca. U: Etika u odnosu čovjeka i životinja - Zaštita morskih sisavaca - etika i racionalno pitanje. Hrvatska akademija znanosti i umjetnosti. Str. 51-73.
 19. GUZMAN-VERRI, C., R. GONZALES-BARRIENTOS, G. HERNANDEZ-MORA, J. A. MORALES, E. BAQUERO-CALVO, E. CHAVEZ-OLARTE and E. MORENO (2012): *Brucella ceti* and brucellosis in cetaceans. *Front. cell. Infect. Microbiol.* doi.10.3389/fcim.2012.00003.
 20. HANNI, K. D., J. A. MAZET, F. M. GULLAND, J. ESTES, M. STAEDLER, M. J. MURRAY, M. MILLER and D. A. JESSUP (2003): Clinical pathology and assessment of pathogen exposure in southern and Alaskan sea otters. *J. Wildl. Dis.* 39, 837-850.
 21. HERNANDEZ-MORA, G., R. GONZALES-BARRIENTOS, J. A. MORALES, E. CHAVEZ-OLARTE, C. GUZMAN-VERRI, E. BARQUERO-CALVO, M. J. DE MIGUEL, C. M. MARIN, J. M. BLASCO and E. MORENO (2008): Neurobrucellosis in stranded dolphins, Costa Rica. *Emer. Infect. Dis.* 14, 1430-1433.
 22. HERNANDEZ-MORA, G., C. A. MANIRE, R. GONZALES-BARRIENTOS, J. A. MORALES, E. CHAVEZ-OLARTE, C. GUZMAN-VERRI, L. STAGGS, R. THOMPSON and E. MORENO (2009): Serological diagnosis of *Brucella* infections in odontocetes. *Clin. Vaccine Immunol.* 16, 906-915.
 23. HERNANDEZ-MORA, G., J. D. PALACIOS-ALFARO and R. GONZALES-BARRIENTOS (2013): Wildlife reservoir of brucellosis: *Brucella* in aquatic environments. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 32, 89-103.
 24. JAHANS, K. L., G. FORSTER and E. S. BROUGHTON (1997): The characterisation of *Brucella* strains isolated from marine mammals. *Vet. Microbiol.* 57, 373-382.
 25. JACQUES, I., M. GRAYON and J. M. VERGER (2007): Oxidative metabolic profiles of *Brucella* strains isolated from marine mammals: contribution to their species classification. *FEMS Microbiol. Lett.* 270, 245-252.
 26. MANTUR, B. G., S. K. AMARNATH and R. S. SHINDE (2007): Review of clinical and laboratory features of human brucellosis. *Ind. J. Med. Microbiol.* 25, 188-202.
 27. McDONALD, W. L., R. JAMALUDIN, G. MAKERET, M. HANSEN, S. HUMPHREY, P. SHORT, T. TAYLOR, J. SWINGLER, C. E. DAWSON, A. M. WHATMORE, E. STUBBERFIELD, L. L. PERRETT and G. SIMMONS (2006): Characterization of a *Brucella* sp. strain as a marine-mammal type despite isolation from a patient with spinal osteomyelitis in New Zealand. *J. Clin. Microbiol.* 44, 4363-4370.
 28. NIELSEN, O., R. E. STEWARD, K. NIELSEN, L. MEASURES and P. DUIGNAN (2001): Serology survey of *Brucella* spp. antibodies in some marine mammals of North America. *J. Wildl. Dis.* 37, 89-100.
 29. NYMO, I. H., M. TRYLAND and J. GODFROID (2011): A review of *Brucella* infection in marine

- mammals, with special emphasis on *Brucella pinnipedialis* in the hooded seal (*Cystophora cristata*). *Vet. Res.* 42, 93-116.
30. O'HARA, T. M., D. HOLCOMB, P. ELZER, J. ESTEPP, Q. PERRY, S. HAGIUS and C. KIRK (2010): Brucella species survey in polar bears (*Ursus maritimus*) of Northern Alaska. *J. Wild. Dis.* 46, 687-694.
 31. OSTERMAN, B. S. and I. MORIYON (2006): International Committee on Systematics of Prokaryotes. Subcommittee on the taxonomy of *Brucella*. Report of the meeting, Pamplona, Spain. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56, 1173-1175.
 32. PERRETT, L. L., S. D. BREW, J. A. STACK, A. P. MACMILLAN and J. B. BASHIRUDDIN (2004): Experimental assessment of the pathogenicity of *Brucella* strains from marine mammals for pregnant sheep. *Small. Rumin. Res.* 51, 221-228.
 33. RHYAN, J. C., T. GIDLEWSKI, D. R. EWALT, S. G. HENNAGER, D. M. LAMBOURNE and S. C. OLSEN (2001): Seroconversion and abortion in cattle experimentally infected with *Brucella* sp. isolated from Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardii*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 13, 379-382.
 34. ROSS, H. M., G. FOSTER, R. J. REID, K. L. JAHANS and A. P. MACMILLAN (1994): Brucella species infection in sea-mammals. *Vet. Rec.* 134, 359.
 35. ROSS, H. M., K. L. JAHANS, A. P. MACMILLAN, R. J. REID, P. M. THOMPSON and G. FOSTER (1996): *Brucella* species infection in Nort Sea seal and cetacean populations. *Vet. Rec.* 138, 647-648.
 36. SALEM, S. F. and A. MOHSEN (1997): Brucellosis in fish. *Vet. Med.* 42, 5-7.
 37. SCHOLZ, H. C., H. TOMASO, S. AL DAHOUK, A. WITTE, H. M. SCHLOTER, P. KÄMPFER, E. FALSEN and M. NEUBAUER (2006): Genotyping of *Ochrobactrum anthropi* by recA-based comparative sequence, PCR-Rflp, and 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiol. Lett.* 257, 7-16.
 38. SOHN, A. M., W. S. PROBERT, C. A. GLASER, N. GUPTA, A. W. BOLLEN, J. D. WONG, E. M. GRACE and W. C. MCDONALD (2003): Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp. *Emerg. Infect. Dis.* 9, 485-488.
 39. TRYLAND, M., K. K. SORENSEN and J. GODFROID (2005): Prevalence of *Brucella pinnipediae* in healthy hooded seals (*Cystophora cristata*) from the North Atlantic Ocean and ringed seals (*Phoca hispida*) from Svalbard. *Vet. Microbiol.* 105, 103-111.
 40. VERGER, J. M., M. GRAYON, A. CLOECKAERT, M. LEFEVRE, E. AGERON and F. GRIMONT (2000): Classification of *Brucella* strains isolated from marine mammals using DNA-DNA hybridization and ribotyping. *Res. Microbiol.* 151, 797-802.

Brucellosis in Marine Mammals (Part I.)

Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Full Professor, Maja ZDELAR-TUK, DVM, PhD, Sanja DUVNJAK, PhD, Irena REIL, DVM, Silvio ŠPIČIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia; Martina ĐURAS, DVM, PhD, Assistant Professor, Tomislav GOMERČIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia

Brucellosis has been recognised and confirmed in whales, dolphins, seals, walruses and otters. Clinical signs in marine mammals include placentalitis, abortion, neonatal death, meningoencephalitis and skin abscess. Brucellas have been isolated from marine mammals with no clinical symptoms or from their tissue with no visible pathological changes. As many as 130 mammal species living and/or feeding in aquatic systems can be considered potential hosts of brucellae. Initially, brucellas isolated from marine mammals were classified as *B. maris*. Later studies showed that isolated strains belong to two different brucella species. Strains isolated from whales were designated as *B. ceti*, with whales as their natural hosts. Brucella strains isolated from pinnipeds were designated as *B. pinnipedialis*, with dolphins as their natural hosts. After two de-

cades of intensive research, it has become clear that brucellosis is widespread in marine mammals around the world. Frequent contacts of the human population with marine mammals have been recorded in 114 countries. Professional exposure was responsible for the first human case of brucellosis caused by brucellae of marine origin. Marine mammal, whale and seal hunters are at a higher risk for acquiring brucellosis, especially during carcass processing or from eating the raw flesh of marine mammals. Zoologists, veterinary professionals, laboratory staff, fishermen, people working with marine mammals in aqua parks or research centres and people who approach stranded animals or carcasses are also at a higher risk of infection.

Key words: Brucellosis, Marine mammals, *Brucella ceti*, *Brucella pinnipedialis*

Toksični metali - bioindikatori zagađenja u morskom okolišu - II. dio: arsen i živa

Marija Sedak, Nina Bilandžić*, B. Čalopek, Maja Đokić,
Božica Solomun Kolanović, Ivana Varenina, Đurđica Božić,
Ines Varga, B. Šimić, Martina Đuras i T. Gomerčić



Uvod

Redovita konzumacija hrane i vode za piće predstavlja najznačajniji prehrambeni izvor elemenata za sve žive organizme. Metali prisutni u organizmu mogu rezultirati različitim interakcijama od kojih su neke esencijalne dok druge mogu biti štetne. Teški metali: arsen, olovo, kadmij i živa spadaju u skupinu toksičnih neesencijalnih metala koji su prisutni u organizmu samo kao posljedica zagađenja i bez poznatih korisnih svojstava za život. Organizam ih može tolerirati u niskim koncentracijama, dok kod viših koncentracija postaju toksični. Prirodni procesi, poput: klimatskih reakcija, vulkanske aktivnosti, hidrotermalne aktivnosti u dubinama mora i isparavanje Zemljinog plašta (u slučaju elementarne žive) uvijek mobiliziraju toksične metale iz zemljine kore. Stoga ne iznenađuje činjenica da su mnogi organizmi, uključujući sisavce, razvili detoksikacijske mehanizme protiv štetnih učinaka unesenih toksičnih metala. Bakterije, na primjer, detoksiciraju absorbiranu metil-

živu (CH_3Hg^+) cijepanjem veze C-Hg nakon čega slijedi redukcija nastalog Hg^{2+} do elementarne žive Hg^0 . Elementarna živa može difundirati kroz staničnu membranu čime se uklanja iz organizma (Gailer, 2007.).

Nekoliko incidencija trovanja ljudske populacije nakon Prvog svjetskog rata zbog izloženosti CH_3Hg^+ , kadmiju, As^{III} i As^V te selenu otkrili su da na zdravstveno stanje sisavaca mogu znatno utjecati prirodne lokalne geokemijske prilike, antropogene emisije toksičnih metala u okoliš, rudarske aktivnosti i nehotična trovanja (Gailer, 2007.).

Selen i arsen spadaju u mikronutrijente kod životinja sudjelujući u aktivnostima enzima (Shibata i sur., 1992.). S druge strane, kadmij, olovo i živa su egzogeni, štetni elementi koji se akumuliraju tijekom rasta. Eksperimentalnim istraživanjima uočeno je smanjenje bioraspoloživosti pojedinih elemenata u tragovima, kao što su: arsen, živa i kadmij pomoću selenia (Feroci i sur., 2005.).

Marija SEDAK, dipl. ing. prehr. tehnol., dr. sc. Nina BILANDŽIĆ*, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica, (dopsni autor, e-mail: bilandzic@veinst.hr), Bruno ČALOPEK, dipl. ing. prehr. tehnol., Maja ĐOKIĆ, dipl. ing. kem. tehnol., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. biotehnol., Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Đurđica BOŽIĆ, dipl. ing. biotehnol., Ines VARGA, dipl. ing. biotehnol., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Branimir ŠIMIĆ, dipl. ing., redoviti profesor, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; dr. sc. Martina ĐURAS, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Tomislav GOMERČIĆ, dr. med. vet., docent, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

Morski sisavci unose kontaminante uglavnom hranom te im je riba glavni izvor selena i žive, a rakovi su važan izvor arsena (Kubota i sur., 2001.). Jetra vodenih organizama može djelovati kao organ za demetiliranje i/ili odvajanja organskog i anorganskog oblika žive, a selen je uključen u oba navedena mehanizma (Caurant i sur., 1996.). Morski sisavci su završne točke bioakumulacije žive u morskom hranidbenom lancu. Mogu akumulirati živu u jetri u koncentracijama višim od 100 µg/g mokre težine bez pojave simptoma trovanja (Ng i sur., 2001.). Živa je imunotoksični metal koji inducira supresiju limfocita dobrih dupina. Značajan pad vijabilnosti stanica otkriven je izolacijom periferne krvи dupina u uvjetima *in vitro* kod 10 mg/kg žive, dok kod 1 mg/kg i 5 mg/kg dolazi do početne faze apoptoze. Stanice dupina izložene živi odumiru na način koji je u skladu s induciranjem apoptoze, kao što je opisano u limfocitima kod ljudi (Shenker i sur., 2000.).

Arsen

Arsen (As) je toksični element rasprostranjen u okolišu. Iako može biti esencijalan jer ga neki mikroorganizmi koriste za proizvodnju energije, nema čvrstih podataka o bitnosti za biološki sustav. Dobro se apsorbira iz dišnog i probavnog sustava. Arsen djeluje na mitohondrijske enzime i koci mehanizam staničnog disanja. Unesen ingestijom, arsen se prosječno odstranjuje za 2-15 dana. Otvoriti se može perakutno, akutno i kronično, arsenovodikom ili arsenom, koji je jedan od najotrovnjih plinova, kao i jedno od najjačih hemolitičkih sredstava u industriji (Duraković i Labar, 2000.). Postoji u anorganskom i organskom obliku i u različitim oksidacijskim stanjima (-3, 0, +3 i +5). U slučaju izloženosti okoliša toksikolozi se ponajprije bave arsenom u trovalentnom i pentavalentnom oksidacijskom stanju (Hughes, 2002.).

Za razliku od njegove moguće bitnosti u životu, mnoge studije su usmjerenе na visoku toksičnost koja je tijekom godina dobro poznata iz različitih slučajeva trovanja. Toksičnost je posebno visoka kod anorganskog arsena odnosno, trovalentni anorganski arsen (arsenit) se veže za sulfhidrilne skupine enzima dovodeći do njihove inhibicije, dok peterovalentni anorganski arsen (arsenat), strukturno sličan fosfatu, može poremetiti metaboličke reakcije koje zahtijevaju fosforilaciju (Cox, 1995.). Simptomi akutnog otrovanja osoba anorganskim arsenom su teški gastrointestinalni poremećaji, zatajenje jetre i bubrega i kardiovaskularni poremećaji. Kronična izloženost uzrokuje pigmentaciju kože, hiperkeratozu, karcinom pluća, mjehura, jetre i bubrega, kao i kože (Kunito i sur., 2008.).

Za razliku od negativnih svojstva, arsen je koristan u medicini. Arsen trioksid (As_3O_3) privukao je veliku pozornost kao terapeutsko sredstvo za liječenje akutne promijelocitne leukemije i drugih vrsta karcinoma, iako točan mehanizam djelovanja nije u potpunosti razjašnjen (Zhu i sur., 2002.).

Za odrasle osobe, plodovi mora doprinose 74%-96% od ukupnog dnevнog unosa arsena, dok riža i rižine žitarice većinu ostatka. Kod djece, 41% od procijenjenog ukupnog unosa arsena porijeklom je iz plodova mora i 34% od riže i rižinih žitarica (Tao i Bolger, 1998.).

Toksikokinetika i toksikodinamika arsenika

Toksični se anorganski arsen može biometilirati pomoću bakterija, algi, gljiva, beskralježnjaka i čovjeka čime nastaje monometilarsen (MMA) i dimetilarsen (DMA) koji su manje toksični od anorganskog arsena (Moore i sur., 1997.). U ljudi se metilacija anorganskog arsena uglavnom javlja u jetri, ali je moguća i u drugim organima (Roy i Saha, 2002.):

Arsenat (V) → Arsenit (III) → MMA (V) → MMA (III) → DMA (V)

Posredovanjem glutationa prvo dolazi do redukcije peterovalentnog anorganiskog arsena (V) u trovalentni anorgantski arsen (III). Nakon toga se metilna grupa iz S-adenozil metionina prenosi na trovalentni anorganski arsen (III) formirajući MMA. Zatim slijedi redukcija MMA (V) u međuprojekt MMA(III) i u zadnjem koraku metilacija MMA (III) koji se oksidira u DMA (V) (Roy i Saha, 2002.).

Trovalentni arsen lako reagira *in vitro* s molekulama koje sadrže tiolnu skupinu kao što su: glutation i cistein. Vezanje trovalentnog arsena na kritične tiolne skupine može sprječiti važne biokemijske reakcije koje mogu dovesti do toksičnosti. Međutim, vezanje arsenita na neesencijalna mjesta u proteinima mogu potaknuti detoksikacijski mehanizam. Arsenit inhibira piruvat-dehidrogenazu (PDH). Uloga PDH u citratnom ciklusu je oksidacija piruvata do acetil-CoA koji je osnovni supstrat u ciklusu. Citratni ciklus je glavni ciklus razgradnje kojim stanica osigurava ATP (10 ATP-a po acetilnoj jedinici). Inhibicija PDH u konačnici može dovesti do smanjenja proizvodnje ATP-a. Metilirani trovalentni arsen (MMA III) je potencijalni inhibitor glutation reduktaze i tioreodoksin reduktaze. Inhibicija tih enzima može dovesti do citotoksičnosti (Styblo i sur., 2000.).

Zbog slične strukture i svojstva arsenat može zamijeniti fosfat u mnogim biokemijskim reakcijama. Na primjer, arsenat reagira *in vitro* s glukozom i glukonatom i formira glukoza-6-arsenat i 6-arsenoglukonat. Ovi spojevi nalikuju glukoza-6-fosfatu i 6-fosfoglukonatu. Glukoza-6-arsenat je supstrat za glukoza-6-fosfat dehidrogenazu i može inhibirati heksokinazu kao i glukoza-6-fosfat. Arsenat, također može zamijeniti fosfat i u natrijevoj pumpi (Hughes, 2002.).

Arsenat razdvaja *in vitro* formiranje adenozin-5'-trifosfata (ATP) mehanizmom arsenolize. Na supstratnoj razini,

arsenoliza se može pojaviti tijekom glikolize. U jednom koraku glikolitičkog puta fosfat je povezan enzimatski na D-gliceroldehid-3-fosfat i formira 1,3-difosfo-D-glycerat. Arsenat može zamijeniti fosfat u ovoj reakciji tvoreći anhidrid 1-arseno-3-fosfo-D-glycerat (Dixon, 1997.).

ATP nastaje tijekom glikolize u prisutnosti fosfata. Na mitohondrijskoj razini, arsenoliza se može pojaviti tijekom oksidativne fosforilacije. Adenozin-5'-difosfat-arsenat se sintetizira iz adenozin-5'-Difosfat (ADP) i arsenata u prisutnosti sukcinata. ADP-arsenat hidrolizira lako u odnosu na ADP-fosfata (ATP) koji se stvara tijekom oksidativne fosforilacije. Na mitohondrijskoj razini, arsenoliza smanjuje *in vitro* formiranje ATP-a zamjenom fosfata s arsenatom u enzymskim reakcijama (Hughes, 2002.).

Arsenobetain je dominantan oblik arsena u većini morskih životinja. Razgradnja arsenobataina u anorganski arsen, nakon otpuštanja u okoliš razlaganjem uginulih životinja, je bitan završetak kruženja arsena u morskim ekosustavima. Postoje dva moguća puta za razgradnju arsenobataina: pretvorba arsenobataina u trimetilarsen-oksid (TMAO) ili u dimetilarsenoil acetat (DMAA). U TMAO ili u DMAA se dodatno degradira u anorganski arsen kroz dimetilarsen (DMA) u oba puta. Bakterije koje razgrađuju arsenobetain su sveprisutne u morskom okolišu. Pokazalo se da mikrobne zajednice morskih sedimenata, morskih algi i lebdeće čestice mogu pretvoriti arsenobetain u TMAO, DMA pa čak i u anorganski arsen. Mikrobiološke zajednice na lebdećim česticama sakupljene na dubini od 3 500 metara također su u mogućnosti razgraditi arsenobetain. Vrlo je vjerojatno da su aerobni mikroorganizmi prvenstveno uključeni u razgradnju arsenobataina, jer se arsenobetain brže razgradiju u aerobnim, nego u anaerobnim uvjetima (Kunito i sur., 2008.).

Toksičnost arsena u ljudi

Redoslijed toksičnosti arsenovih spojeva u ljudi (Benramdane i sur., 1999.) je:

MMA (III) > Arsenit (III) > Arsenat (V) > MMA (V) = DMA (V)

Izloženost arsenu dovodi do nakupljanja arsena u tkivima poput kože, kose i noktiju, što rezultira različitim kliničkim simptomima, npr. hiperpigmentacija i keratoza. Tu je i povećan rizik od karcinoma kože, unutarnjih organa i pluća. Kardiovaskularne bolesti i neuropatijske također su povezani s unosom arsena. Arsen može utjecati i na verbalnu komunikaciju i dugoročno pamćenje, može potisnuti hormonske regulacije i hormone koji posreduju pri transkripciji gena. Reprodukcijska toksičnost se manifestira učestalijim gubitcima ploda, prijevremenim porodima i smanjenom težinom novorođenčeta, što se može pojaviti čak i pri niskim ($<10 \mu\text{g/L}$) razinama izloženosti (Kapaj i sur., 2006.). Smrtonosna doza anorganskog arsena je 100-200 mg arsen trioksida u odraslih osoba, iako čovjek može preživjeti i veće doze (Benramdane i sur., 1999.). Posljedice kronične toksičnosti navedene su u Tabeli 1.

Karakteristike teške akutne toksičnosti arsena kod ljudske populacije uključuju probavne smetnje, povraćanje, proljev, krvave mokraće,

anurije, šok, konvulzije, komu i smrt. Dugi se niz godina vjerovalo da je akutna toksičnost anorganskog arsena veća od organskog te da je metilacija anorganskog arsena temeljni detoksikacijski mehanizam. Međutim, utvrđeno je da je derivat monometil arsen (MMA III) toksičniji nego arsenit, npr. kod *Candida humicole in vitro* te da su ljudske stanice također osjetljivije na citotoksične učinke MMA III u odnosu arsenita (Hughes, 2002.).

Arsen u morskim sisavcima

Morski okoliš ima značajnu ulogu u globalnom kruženju arsena. Anorganski arsen u morskoj vodi se biotransformira u organske spojeve arsena pomoću morske biote. U principu, morske alge akumuliraju anorganski arsen iz morske vode i pretvaraju ga u arsеноšećere, nakon čega slijedi daljnja transformacija u arsenobetain kroz morski hranidbeni lanac (Kubota i sur., 2002.).

Arsen se javlja u morskoj vodi uglavnom u anorganskim oblicima arsenata i arsenita. Morski su organizmi, nemogućnosti izbjegavanja izloženosti potencijalno toksičnim anorganskim vrstama arsena, razvili mehanizme biotransformacije i detoksikacije. Rezultat je stvaranje više od 25 vrsta spojeva arsena koji se javljaju u morskim sustavima. Anorganski arsen prevladava u morskoj vodi, arsеноšećeri

Tabela 1. Posljedice kronične toksičnosti arsena u ljudi (Hughes, 2002.).

Organ	Djelovanje
Koža	Kožne ležje
Kardiovaskularni sustav	Bolest crnih stopala
Živčani sustav	Periferna neuropatija, encefalopatija
Jetra	Povećanje jetre, ciroza
Hematološki sustav	Depresija koštane srži
Endokrini sustav	Dijabetes
Bubrezi	Proksimalna tubularna degeneracija, papilarne i kortikalne nekroze

u algama, i arsenobetaini u morskim životinjama. U morskoj vodi arsenat je dostupan u algama, vjerojatno zbog svoje kemijske sličnosti s esencijalnim fosfatnim anionom te ga one apsorbiraju u takvom obliku. Međutim, alge općenito ne akumuliraju arsenat nego ga biotransformiraju procesima metilacije i alkilacije u arsenošećer (Francesconi i Edmonds, 1998.).

Morski organizmi sadrže arsen u mnogo većim koncentracijama nego kopneni organizmi, a u nekim morskim vrstama koncentracije arsena premašuju 2 000 µg/g suhe tvari (Gibbs i sur., 1983.). Mnoge studije su provedene o koncentracijama arsena u morskim organizmima u nižim razinama hranidbenog lanca (npr. alge i školjke). Nasuprot tome, mali je broj istraživanja dostupan za morske sisavce, morske kornjače ili više organizme u morskom hranidbenom lancu. Morski sisavci pokazuju jedinstvene značajke u akumulaciji metala što može biti korisno za karakterizaciju akumulacije arsena u tim životinjama i razumijevanje kruženja arsena u morskom ekosustavu. U principu, količina i oblici arsenovih spojeva u morskim životinjama ovise o njihovom plijenu jer su morske životinje izložene arsenu uglavnom kroz svoju prehranu (Kunito i sur., 2008.). Najveće koncentracije arsena zabilježene u morskih sisavaca iznosile su 9,1 do 15,1 mg/kg suhe težine u mišićima, jetri i koži običnih dupina (*Delphinus delphis*) porijeklom iz alžirskog dijela Sredozemnog mora u razdoblju od 1998.-2002. (Carvalho i sur., 2002.). U prehrani kitova važan izvor arsena su rakovi (Kubota i sur., 2001., 2002.).

Potencijalni rizici povezani s konzumacijom plodova mora koji sadrže arsenobetain, glavni spoj arsena u ukupnoj koncentraciji arsena, izgledaju beznačajno. Kemijski gledano, arsenobetain ne djeluje mutageno u bakterijskom *Salmonella typhimurium* testu

(Ames test), nema učinaka na metaboličke inhibicije stanica jajnika kineskog hrčka u koncentraciji od 10 000 mg/L, i ne pokazuju sinergizam ili antagonizam djelovanja s drugim kontaminantima (Jongen i sur., 1985.).

Male koncentracije anorganskog arsena iz morske vode akumuliraju se u morskim životinjama. Morske životinje nakupljaju arsen ponajprije hranom. Razine arsena u morskim vodama otvorenih mora su 1-2 µg/L. Arsen je tu prisutan uglavnom kao anorganski arsenat, pogotovo u dubljim vodama. U višim površinskim fotonskim slojevima, gdje prodire dovoljna sunčeva svjetlost za fotosintezu, provodi se redukcija i metilacija mikroorganizama. Osim As (V) oblika, površinske vode sadrže i As (III), MA i DMA u malim količinama (Borak i sur., 2007.).

Alge i fitoplanktoni iz morske vode unose arsenate putem transmembranskog transportnog sustava koji se inače koristi za unos esencijalnih fosfatnih aniona. Nakon unosa alge brzo detoksiciraju arsenat redukcijom i metilacijom u arsenit što rezultira formiranjem DMA i arsеноšećera u procesu koji uključuje S-adenozilmetionin koji je donator metilne skupine i ribozil skupine. Koncentracije arsena u algama su oko 2-50 mg/kg suhe mase (WHO, 2001.).

U tkivima morskih životinja arsen nije ravnomjerno distribuiran. Uglavnom se akumuliran u egzoskeletu beskralješnjaka te u jetri ribe. Koncentracije ukupnog arsena, kao i specifične vrste arsena su promjenjive. Na primjer anorganski arsen nalazimo gotovo isključivo u unutarnjim organima (crijeva, jetra, želudac, srce, škrge) dok je sadržaja arsen u mišićima gotovo u potpunosti arsenobetain. To ukazuje kako se oblici arsena i ukupna koncentracija u morskim organizmima razlikuju obzirom na konzumirano tkivo (Kirby i Maher, 2002.).

Živa

Živa (Hg) je kemijski element koji pripada teškim metalima i prisutan je u elementarnom (Hg^0), anorganskom i organskom obliku. Tijekom biogeokemijskog kruženja dolazi do pretvaranja žive iz elementarnog oblika u anorganske i organske spojeve. Prirodni izvori ispuštanja žive u okoliš su: erupcije vulkana, erozije tla, oslobađanje iz stijena i bakterijske razgradnje organskih živinih spojeva. U antropogene izvore spadaju: dobivanje žive iz živine rude, izgaranje fosilnih goriva, industrije koje koriste živu u tehnološkim procesima, termoelektrane, spaljivanje otpada, rudnici, rafinerije zlata i srebra. Postoje dva ciklusa transporta i distribucije žive u okolišu. Jedan je globalni i uključuje atmosferske cirkulacije elementarne živine pare iz izvora na kopnu do oceana. Drugi ciklus je lokalni i ovisi o metiliranju anorganske žive prvenstveno iz antropogenih izvora (Gray, 2002.).

Elementarna živa je tekućina na sobnoj temperaturi. Lako se otpušta u atmosferu u obliku živine pare zbog visokog tlaka pare. Anorganski spojevi žive postoje u dva oksidacijska stanja (Hg^+ i Hg^{2+}) koji su uglavnom u krutom stanju, kao i živine soli i živini spojevi s klorom, sumporom ili kisikom. Metil-živa i etil-živa su uobičajeni organski oblici žive kombinirani s ugljikom. Metil-živa se formira metilacijom anorganske žive djelovanjem mikroorganizama u okolišu i kao takva ulazi u vodenim hranidbenim lanac. Najviše koncentracije žive pronađene su kod predatorskih riba i morskih sisavaca. Zbog toga je ljudska populacija koja konzumira ribu izložena metil-živi. Glavni oblici žive kojima je izložena ljudska populacija su metil-živa iz plodova mora, anorganska živa iz hrane, i živine pare iz zubnih amalgama (Satoh, 2000.).

Atmosfera je prije svega transportni put emisije žive, dok kopneni i

oceanski procesi igraju važnu ulogu u preraspodjeli žive u kopnenom, slatkovodnom i morskom ekosustavu. Prijelaz žive u vodenim i kopnenim ekosustavima ovisi prvenstveno o kemijskim i fizičkim oblicima. Elementarna živa Hg^0 se može transportirati na velike udaljenosti, a atmosfersko vrijeme zadržavanja joj je nekoliko mjeseci do godinu dana. Hg^{2+} ima puno kraće atmosfersko zadržavanje od Hg^0 , odnosno, pohranjuje se lokalno ili regionalno. Metil-živa (CH_3Hg) je glavni oblik žive u okolišu i glavni oblik nakupljanja u životinjama i ljudima. Postoji razlika između primarnih i sekundarnih izvora emisije žive. Primarni izvori, prirodni i antropogeni, prenose živu iz litofere u atmosferu koja se taloži na kopnu i u oceanima. Ovakvo deponirana živa se može reducirati u Hg^0 , a zatim ponovno vratiti u atmosferu. Takvi procesi predstavljaju sekundarne izvore (Driscoll i sur., 2013.).

Toksikokinetika i toksikodinamika žive

Oko 7% do 15% anorganskih živinih spojeva apsorbira se u probavnom traktu nakon konzumacije. Anorganska živa se može apsorbirati kroz epidermu preko žljezda znojnica, lojnice i folikula dlake. Živine soli su obično nehljapive krute tvari tako da su trovanja udisanjem rijetka. Najviše koncentracije anorganske žive pronađene su u bubrezima, što je i njezin ciljni organ. Proksimalne cjevčice su primarna meta nakupljanja živinih soli. Biološko vrijeme poluraspada se procjenjuje na oko 60 dana (Park i Zheng, 2012.).

Oralnim unošenjem elementarna živa se slabo apsorbira u probavnom traktu, manje od 0,01%. Slučajnim gutanjem elementarne žive, kao kod loma termometra, toksičnost je rijetka i uglavnom se ne očekuje. Međutim, oštećenje na probavnom traktu može

promijeniti mukoznu barijeru i omogućiti povećanu biodostupnost. Dermalna apsorpcija elementarne žive također je ograničena. Inhalacija u obliku živine pare je glavni put izloženosti elementarne žive. Udahnute živine pare se lako apsorbiraju u pluća i vrlo brzo dospijevaju u krv i distribuiraju u organe u tijelu (ATSDR, 1999.). Apsorbirana elementarna žive se oksidira u oblik Hg^{2+} u crvenim krvnim stanicama i tkivima. Međutim, živine pare se za razliku od anorganskih soli akumuliraju u središnjem živčanom sustavu. Primarni organi u kojima se živa nakuplja nakon udisanja para elementarne žive su mozak i bubrezi. Elementarna živa se snažno veže za selen ili SH-skupine nakon oksidacije u mozgu što može doprinijeti dugoročnoj kumulaciji u mozgu (Friberg i Mottet, 1989.).

Metil-živa se gotovo potpuno apsorbira (95-100%) u ljudskom probavnom traktu, od čega se 90% eliminiran fecesom. Metil-živa je prisutna u tijelu kao u vodi topivi kompleks, koji se veže uglavnom s atomom sumpora iz tiolnog liganada i prelazi krvno-moždanu barijeru vezana s L-cisteinom u molekulu nalik metioninu. Metil-živa se lako apsorbira kroz crijeva i nakuplja u mnogim tkivima, ali ne prelazi krvno-moždanu barijeru tako učinkovito kao elementarna živa. Međutim, na ulasku u mozak dolazi do demetiliranja u elementarnu živu (Bernhoft, 2012.).

Toksičnost žive u ljudi

Općenito, Hg^+ spojevi su manje toksični od Hg^{2+} spojeva zbog manje topivosti u vodi. Iako je apsorpcija Hg^{2+} spojeva puno slabija u usporedbi s organskim živim spojevima, ona štetno djeluju nakon unosa u živi organizam (Satoh, 2000.). Živine soli su više korozivne od elementarne žive što povećava probavnu propusnost i apsorpciju. Akutno visoke doze živinih

soli prije svega prouzroče bol u prsim i teške gastrointestinalne simptome zbog korozivnih oštećenja probavnog trakta. Kod kroničnog anorganskog trovanja dolazi do oštećenje bubrega, uglavnom proksimalnih kanala. Klinički simptomi i znaci su poliurija i proteinurija koji se u težim slučajevima mogu razviti u bubrežni sindrom s hematurijom i anurijom (Clarkson i Magos, 2006.). Svjetska zdravstvena organizacija FAO/WHO je predložila "Prihvatljivi dnevni unos" za živu (ADI, Acceptable daily intake) koji iznosi 43 µg ukupne žive/dan za osobe od 60 kg (FAO/WHO, 1989.).

U Tabeli 2 navedeni su oblici žive i njihovi putevi apsorpcije, distribucije i izlučivanja. Akutna izloženost visokim razinama živinih para može dovesti do teškog oštećenja pluća, čak i smrti zbog hipoksije. Akutno trovanje živim parama udisanjem obično se javlja nesretnim slučajem kod industrijskih radnika koji su s njima u kontaktu. Posljedice trovanja su tremor, parestezija, gubitak pamćenja, pretjerana podražljivost i odgođeni refleks koji je obično reverzibilne prirode. Kod kronične izloženosti živim parama ciljni organi toksičnih učinaka su središnji živčani sustav i bubrezi.

Iako odrasli mogu imati neurološke posljedice kada su izloženi visokim koncentracijama metil-žive, povećana zabrinutost je usmjerena na djelovanje metil-žive na razvoj živčanog sustava nerođene djece i djece u razvoju. Posteljica je sposobna zaustaviti mnogo toksičnih elemenata, ali metil živa je iznimka po tome što može proći kroz posteljicu te se akumulira u višim koncentracijama u fetalnom dijelu, a ne na majčinoj strani. Negativna situacija za razvoj fetusa je što živa prelazi i krvno-moždanu barijeru te se dugoročno zadržava nakon prolaska. Razaranje moždanih stanica u samim početcima sprječava daljnji razvoj stanica što ograničava razvoj mozga i živaca (Liu i sur., 2008.).

Minamata bolest opisuje trovanje metil živom ljudi koji su živjeli uz Minamata zaljev u Kyushu, Japan 50-ih i 60-ih godina. Izvor metil žive bila je voda iz kemijske tvrtke gdje se živa koristila kao katalizator u proizvodnji acetaldehida. Metil živa se koncentrirala u hranidbenom lancu što je kod miještana rezultiralo vrlo visokim koncentracijama u njihovoj prehrani bogatoj ribi i školjkama. Broj žrtava u Minamata zaljevu bio je preko 2 200 (Watanabe i Satoh, 1996.).

Budući da su organski živini spojevi prvo korišteni kao sredstva za obradu sjemena dolazilo je i do trovanja nastalih konzumiranjem takvih pšeničnih zrnja i to u više navrata. U Iraku su zabilježene tri epidemije trovanja: jedna od 1955.-1956., druga od 1959.-1960. te treća i najveća epidemija dogodila se u razdoblju 1971.-1972. Te su epidemije prouzročene zbog distribucije sjemenki žitarica tretiranih s metil živom. Stanovnici u ruralnim sredinama koristili su tretirano sjemeњe namijenjeno sjetvi za izradu domaćeg

Tabela 2. Oblici žive i njihovi putevi apsorpcije, distribucije i izlučivanja.

	Metil-živa	Elementarna živa	Anorganska živa
Izvor	Riba, perad, pesticidi	Zubni amalgami, fosilna goriva, lateks boje, termometri	Demetiliranje metil-žive pomoću crijevne mikroflore; biološka oksidacija elementarne žive
Apsorpcija	95-100% u probavnom sustavu	75-85% apsorbiranjem para	7-15% gutanjem; 2-3% apsorpcijom putem kože kod životinja
Distribucija	Distribucija po cijelom tijelu; lako prolazi krvno-moždanu i placentalnu barijeru; nakuplja se u mozgu i bubrežima	Distribucija po cijelom tijelu; lako prolazi krvno-moždanu i placentalnu barijeru; nakuplja se u mozgu i bubrežima	Ne prolazi krvno-moždanu i placentalnu barijeru; pronađena u mozgu novorođenčeta, nakuplja se u bubrežima
Metabolizam	Kompleks cisteina potreban za unutarstaničnu apsorpciju; polako se demetilira u anorgansku živu u mozgu pomoću makrofaga	Oksidira unutar stanice u anorgansku živu pomoću katalaze i vodikovog peroksida	Metiliranje pomoću crijevne mikroflore; veže se i prouzroči biosintezu metalotioneina
Izlučivanje	90% žuči i fecesom; 10% urinom	Urin, feces, znoj i slina	Urin, žuč, feces, znoj i slina
Uzrok toksičnosti	Demetiliranje u anorgansku (dvovalentnu) živu; vezanje na tiolne skupine u enzimima i strukturnim proteinima	Oksidacija u anorgansku (dvovalentnu) živu	Vezanje na tiolne skupine u enzimima i strukturnim proteinima

kruha. Ukupan broj žrtava iznosi je oko 6530, od toga 459 sa smrtnim posljedicama (Satoh, 2000.).

Metil-živa se apsorbira u posteljici i pohranjuje u mozgu fetusa u koncentracijama koje prelaze razine u majčinoj krvi. Nakon izlaska iz stanice u kompleksu s reduciranim glutationom metil-živa se razgrađuje u žučovodu na L-cistein kompleks. Samo 10% metil-žive se eliminira putem bubrega. Ostatak se reciklira u jetri ili demetilira pomoću crijevne mikroflore i eventualno eliminira fecesom (Cernichiari i sur., 1995.). Većina metil-žive kod životinja se degradira i eliminira iz organizma kao anorganska živa brzinom od jedan % po danu. Jetrena resorpcija je značajna u metabolizmu metil-žive jer se više od 70% resorbira iz crijeva i vrati u jetru. Utvrđeno je da je anorganska živa glavni oblik žive u moždanom tkivu ljudi izloženih letalnim dozama metil-žive. Pretvorba metil-žive u anorganski oblik odvija se u fagocitima jetre ili u astrocitima mozga (Clarkson, 2002.).

Ciljni organi toksičnih učinaka metil-žive uključuju središnji živčani sustav. Simptomi kronične toksičnosti su: parestezija, periferna neuropatija, cerebralna ataksija, grčevi, gubitak pamćenja, demencija, suženje vidnog polja, dizartrija, oslabljenje sluha, njuha i okusa, tremor i depresija (Patrick, 2002.).

Živa u morskim sisavcima

Porijeklo i kruženje metil-žive u morskom okolišu nije u potpunosti razjašnjeno. Pojedine studije prepostavljuju da metil-živa potječe iz dubinskih sedimenata, dok je u nedavnim istraživanjima provedenim na otvorenim vodama Mediterana zaključeno da je većina metil-žive u vodi generirana *in situ* pomoću planktonskih organizama (Cossa i sur., 2009.). Nakon ulaska u vodenim hranidbeni lanac metil živa ima tendenciju vezanja za sulfhidrilne

skupine proteina i biomagnifikacije u višim trofičnim organizmima (Mason i sur., 2006.).

Za vrste koje obitavaju u dubokim vodama smatra se da akumuliraju više koncentracije teških metala od onih u plitkim vodama, vjerojatno kao posljedica njihove veće dugovječnosti i trofičke razine. Tako su relativno visoke količine žive pronađene u brojnim dubokomorskim ribama (Koenig i sur., 2013.). Ispitivanja provedena u sjevernim područjima Pacifičkog oceana također su pokazala da su razine žive više u pelargičnim predatorima koji se hrane na dubljim morskim dubinama (Choy i sur., 2009.).

U ribi se živa gotovo u potpunosti javlja u organskom obliku (obično >80%) i rijetko prelazi 1 µg/g mokre težine (Cappon i Smith, 1982.). Međutim, u tkivu jetre morskih sisavaca i ptica koji se hrane ribom, metil-živa se obično nalazi u vrlo malom postotku (<10% od ukupnih koncentracija žive). Takvo smanjenje relativnog udjela organske žive koja prelazi s plijena na predadora smatra se dokazom procesa biotransformacije u kojem se metil-živa razgrađuje u manje toksičan anorganski oblik skladištenja (Nigro i Lorenzio, 1996.).

Morski sisavci su u načelu izloženi metil živi koja je glavni fizikalno-kemijski oblik pohrane u ribama i lignjama. Ipak, najveći dio žive akumuliran u jetri morskih sisavaca je anorganski što upućuje na jetru kao mjesto demetiliranja žive (Caurant i sur., 1996.). Jetra je glavni organ živine akumulacije, slijede ga bubreg i pluća, a zatim i koža i kosti.

Tijekom posljednjih desetljeća veliki se broj studija odnosi na problematiku tragova teških metala u morskim organizmima, naročito vezanih za razine žive u kitovima. Rezultati većine istraživanja upućuju na visoku varijabilnost u koncentracijama žive. Zbog dugotrajne postojanosti i visoke mobilnosti u morskom ekosustavu živa

pokazuje visoku razinu biomagnifikacije u višim razinama hranidbenog lanca (Frodello i sur., 2000.).

U morskom ekosustavu, hranidbeni lanac je uglavnom zagađen metil-živom zbog djelovanja anaeroba. Živa se akumulira u jetri dupina uglavnom u anorganskom obliku, premda su srdele i lignje koje oni konzumiraju najviše kontaminirane metil-živom (Ng i sur., 2001.).

Vrlo mali broj istraživanja bavio se ispitivanjima koncentracija žive u plućima kitova. Augier i sur. (1993.) su prepostavili da živa može prodrijeti iz atmosfere u pluća, što može djelomično objasniti razmjerno visoke vrijednosti pronađene u tom organu. Utvrđene koncentracije u plućima plavobijelih dupina (*Stenella coeruleoalba*) kretala su se od 3 do 396 µg/g suhe težine. Leonzio i sur. (1992.) su ustanovili da budući da dupini akumuliraju živu 10-100 puta višu od ribe iz iste trofične razine (tuna, sabljarka) i prosječnog životnog vijeka, razlika između sisavaca i riba može ovisiti o razlikama u njihovom dišnom sustavu.

Razmjerno visoke razine žive su primijećene kod plavobijelih dupina s različitim područja Mediterana (Andre i sur., 1991., Leonzio i sur., 1992., Roditit-Elasar i sur., 2003.), dok su vrijednosti žive u uzorcima podrijetlom s francuske atlantske obale znatno niže (Andre i sur., 1991.). Te razlike se uglavnom objašnjavaju prisutnošću geoloških izvora žive i fotokemijskim transformacijama u mediteranskoj regiji (Ebinghaus i sur., 2009.). Međutim, Lahaye i sur. (2006.) su uočili da u određenoj dobi mediteranski i atlantski prugasti dupini pokazuju usporedive koncentracije žive. Naime, nedavna otkrića ukazuju na to da pored trofičkog položaja i dobi, odnosno, tjelesne mase, dubina staništa ima značajnu ulogu u akumulaciji žive u organizmu, a razina žive može se povećati s povećanjem morske dubine (Koenig i sur., 2013.).

Dakle, atlantski plavobijeli dupini koji se hrane uglavnom mesopelargijskim plijenom mogu sadržavati koncentracije žive slične onima iz Mediterana gdje se plavobijeli dupini ponajprije hrane glavonošcima i demersalnom ribom iz gornjih slojeva mora (Lahaye i sur., 2006.).

Reproaktivne aktivnosti kao što su: trudnoća, porod i dojenje mogu prouzročiti promjene koncentracija metala. Canella i Kitchener (1992.) pronašli su znatno niže razine žive kod trudnica i dojila ulješura (*Physeter macrocephalus*) u usporedbi s nerasplodnim ženkama. Isto su tako sugerirali da ova pojava može biti posljedica hormonalnih promjena ili stresa koji prouzroči preraspodjelu žive u tkivima.

Utjecaj selena na toksikokineticu i toksikodinamiku žive

Živa se prirodno nalazi u okolišu u različitim kemijskim oblicima, a metil-živa (Me-Hg) predstavlja posebnu zabrinutost u vodenom okolišu. Ona je najotrovniji oblik žive koja se nakuplja i biomagnificira u hranidbenom lancu i doseže najviše koncentracije kod grabežljivaca na vrhu hranidbenog lanca. Kod morskih sisavaca glavni put izloženosti odvija se putem prehrane. Kada se unese u organizam metil-živa se lako apsorbira u probavnom traktu gdje tvori kompleks s aminokiselinom cisteinom i tako može lakše ući u stanice. Naposljetku, ovaj novi kompleks se transportira u jetru gdje se pretvara u manje toksičan anorganski oblik žive-selenid (HgSe) koja služi kao učinkovita adaptacija na visoke dnevne unose metil-žive (Borrell i sur., 2014.).

Kao esencijali element, selen je sastavni dio enzima glutation peroksidaze i štiti membranske lipide, proteine i nukleinske kiseline od oštećenja oksidanata i slobodnih radikala (Liu i sur., 2008.). Selen

ima različite bioanorganske interakcije pa može reagirati s metalima i formirati netopive selenide čime se smanjuje toksičnost metala. Zaštitna uloga u ublažavanju neurotoksičnih učinaka žive odavno je dokazana (Liu i sur., 2008.). Prvo izvješće o zaštitnom učinku selenita u odnosu na toksičnost žive se spominje 1967. Koeman i sur. (1973.) su određivali sadržaj žive i selena u morskim organizmima. Rezultati su pokazali da su u jetri i mozgu tuljana, dupina i pliskavica iz svih krajeva svijeta, koncentracije žive povezane s koncentracijama selena. Ustanovljeno je da se koncentracije žive i selena pojavljuju o omjeru 1:1. Između molarnih koncentracija selena i žive u jetri La Plata riječnih dupina (*Pontoporia blainvilliei*) postoji značajan pozitivan linearni odnos (Seixas i sur., 2007.). Slični podatci vrijede i za druge morske sisavce. Korelaciju između ova dva elementa su kod ljudi potvrdili Kosta i sur. (1975.). Isto tako je ustanovljen molarni omjer 1:1 u organima štitnjače, hipofize, i bubrega kod ljudi nakon dugotrajnog izlaganja visokim razinama anorganske žive (Beijer i Jernelov, 1978.).

Kod morskih sisavaca živa se unosi prehranom uglavnom u metiliranom obliku (MeHg), a zatim se pretvara u manje toksičan oblik, anorgansku živu. Stoga je velik dio žive pohranjen u jetri u anorganskom obliku. Selen detoksificira anorgansku živu formiranjem kompleksa koji sadrži oba elemenata u ekvimolarnom omjeru. Rawson i sur. (1995.) su pronašli živu-selenid u jetri i dišnom sustavu dobrih dupina (*Tursiops truncates*) i bjeloledih dupina (*Globicephala macrorhynchus*). U dobrom dupinu izmjerene su relativno visoke koncentracije žive u plućima (264 µg/g suhe težine). Nadalje, živa selenid (HgSe) je pronađena u jetri nekih vrsta morskih sisavaca pa se pretpostavlja da je to konačni, inertni proizvod detoksikacijskog procesa u tim morskim životinjama. Selen djeluje

i na toksičnost drugih metala osim žive. Kadmij, bakar, olovo, platina, kositar i talij također tvore kompleks sa selenom što je eksperimentalno dokazano kod životinja. Iako su mnoge studije provedene kako bi se okarakterizirala akumulacija žive u višim trofičkim morskim životinjama, detoksikacijski mehanizam žive i selena, kao i razlike u međudjelovanju u različitim vrstama organizama još nije u potpunosti razjašnjeno (Ikemoto i sur., 2004.).

Živini spojevi se uglavnom metaboliziraju u jetri gdje se mogu demetilirati ili su podvrgnuti konjugacijskim reakcijama s glutationom i selenom. Formiranje netopljivih spojeva žive i selena smatra se procesom kojim selen može sprječiti živinu toksičnost. S druge strane, selen je važan element koji je dio niza enzima (selenoenzima) u obliku selenocisteina. Budući da je selenol grupa (SeH) u selenocisteinu vrlo reaktivna, selenoenzimi su odrednice za očuvanje stanične homeostaze. Umanjenje selenoenzimskih funkcija je povezano s razvojem više patoloških stanja kao što su srčane i neurodegenerativne bolesti (Branco i sur., 2012.).

Godine 1973. Koeman je prvi pokazao korelaciju između koncentracija žive i selena među morskim sisavacima u Sjevernom moru u molarnom omjeru 1:1. Vrlo visoke koncentracije žive, najčešće povezane s visokim razinama selena, pronađene su u jetri i slezeni odraslih jedinki prugastih dupina nasukanih u Ligurijskom moru (Capelli i sur., 2000.). Sličan fenomen je uočen kod morskih sisavaca u Mediteranskom moru, japanskoj obali Pacifičkog oceana i na kanadskom Arktiku (Ng i sur., 2001.). Prisutnost selena i anorganske žive u molarnom omjeru 1:1 u tkivu jetre potvrđuje zaštitnu ulogu selenita u odnosu na toksičnost žive (Capelli i sur., 2000.).

Visoke koncentracije žive u jetri povezuju se s njenom ulogom u biotransformaciji štetnih tvari (Honda

i sur., 1983., Thompson, 1990.). Demetilacija, odnosno pretvaranje organske žive u manje toksični anorganski oblik zbiva se u jetri. Živa se u kitovima jetre pohranjuje u netopivom obliku živa selenida. Spojevi selena pomažu u zaštiti organizma kod oksidativnih oštećenja uslijed djelovanja žive (Cuvin-Aralar i Furness, 1991.). U jetri dobrih dupina i glavatih dupina (*Grampus griseus*) vizualizirana je živa selenid pomoću elektronskog mikroskopa. Živa selenid tvori sferične konkrecije koje agregiraju i tvore granule ili kamence varijabilnih veličina (Nigro i Leonzio, 1996.). Rawson i sur. (1995.) su otkrili da je živa selenid prisutna u jetri i dišnom sustavu dobrog dupina i bijeloledeg dupina (*Globicephala macrorhynchus*).

Sažetak

Teški metali arsen, olovo, kadmij, živa i arsen su toksični neesencijalni metali prisutni u organizmu samo kao posljedica zagađenja i bez poznatih korisnih svojstava za život. Organizam ih može tolerirati u niskim koncentracijama dok kod viših koncentracija postaju toksični. Arsen djeluje na mitohondrijske enzime i koči mehanizam staničnog disanja. Postoji u anorganskom i organskom obliku i u različitim oksidacijskim stanjima te je u okolišu prvenstveno prisutan u trovalentnom i pentavalentnom oksidacijskom stanju. Simptomi akutnog otrovanja anorganskim arsenom su teški gastrointestinalni poremećaji, zatajenje jetre i bubrega i kardiovaskularni poremećaji. Kronična izloženost prouzroči pigmentaciju kože, hiperkeratozu, karcinom pluća, mjehura, jetre i bubrega, kao i kože. Arsen se javlja u morskoj vodi uglavnom u anorganskim oblicima arsenata i arsenita. Morski organizmi sadrže arsen u mnogo većim koncentracijama nego kopneni organizmi te su u nemogućnosti izbjegavanja izloženosti potencijalno toksičnim anorganskim vrstama arsena razvili mehanizme biotransformacije i detoksikacije. Arsen nije ravnomjerno distribuiran u tkivima morskih životinja i uglavnom se akumulira u egzoskeletu beskraltešnjaka te u jetri ribe. Koncentracije ukupnog arsena, kao

i specifične vrste arsena su promjenjive. Tako je anorganski arsen prisutan gotovo isključivo u unutarnjim organima (crijeva, jetra, želudac, srce, škrge) dok je sadržaja arsen u mišićima gotovo u potpunosti arsenobetain. Živa u okolišu, prije svega, dospijeva erupcijama vulkana, erozijom tla, iz stijena i bakterijskom razgradnjom organskih živinih spojeva. Antropogeni izvori su živine rude, izgaranje fosilnih goriva, industrije koje koriste živu u tehnološkim procesima. Akutno visoke doze živinih soli prvenstveno uzrokuju bol u prsima i teške gastrointestinalne simptome zbog korozivnih oštećenja probavnog trakta. Kod kroničnog anorganskog trovanja dolazi do oštećenje bubrega, uglavnom proksimalnih kanala, poliurije i proteinurije. Metil-živa je glavni oblik žive u okolišu i glavni oblik nakupljanja u životinjama i ljudima i formira se metilacijom anorganske žive djelovanjem mikroorganizama u okolišu i kao takva ulazi u vodenim hranidbenim lanac. Najviše koncentracije žive pronađene su kod predatorskih riba i morskih sisavaca. Živa se najviše akumulira jetri morskih sisavaca u anorganskom obliku što upućuje na jetru kao mjesto demetiliranja žive. Tako se živini spojevi uglavnom metaboliziraju u jetri gdje se mogu demetilirati ili su podvrgnuti konjugacijskim reakcijama s glutonatom i selenom. Formiranje netopljivih spojeva žive i selena se smatra procesom kojim selen može sprječavati živinu toksičnost.

Ključne riječi: teški metali, arsen, živa, bioakumulacija, morski sisavci

Literatura

1. ANDRE, J., A. BOUDOU, F. RIBEYRE and M. BERNHARD (1991): Comparative study of mercury accumulation in dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the French Atlantic and Mediterranean coasts. *Sci. Total Environ.* 104, 191–209.
2. ATSDR (1999): Toxicological Profile for Mercury. US Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta.
3. AUGIER, H., W. K. PRAK and C. RONNEAU (1993): Mercury contamination of the striped dolphin *Stenella coeruleoalba* Meyen from the French Mediterranean coasts. *Mar. Pollut. Bull.* 26, 306–311.
4. BEIJER, K. and A. JERNELOV (1978): Ecological aspects of mercury-selenium interactions in the marine environment. *Environ. Health Perspect.* 25, 43–45.
5. BENRAMDANE, L., M. ACCOMINOTTI, L. FANTON, D. MALICIER and J. J. VALLON (1999):

- Arsenic speciation in human organs following fatal arsenic trioxide poisoning - a case report. Clin. Chem. 45, 301-306.
- 6. BERNHOFT, R. A. (2012): Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. J. Environ. Public Health. 2012, 460-508.
 - 7. BORAK, J. and H. D. HOSGOOD (2007): Seafood arsenic: Implications for human risk assessment. Regul. Toxicol. Pharmacol. 47, 204-212.
 - 8. BORRELL, A., A. AGUILAR, V. TORNERO and M. DRAGO (2014): Concentrations of mercury in tissues of striped dolphins suggest decline of pollution in Mediterranean open waters. Chemosphere. 107, 319-323.
 - 9. BRANCO, V., J. CANARIO, J. LU, A. HOLMGREN and C. CARVALHO (2012): Mercury and selenium interaction in vivo: effects on thioredoxin reductase and glutathione peroxidase. Free Radic. Biol. Med. 52, 781-793.
 - 10. CANELLA, E. J. and D. J. KITCHENER (1992): Differences in mercury levels in female sperm whale, *Physeter macrocephalus* (*Cetacea: Odontoceti*). Aust. Mamal Soc. 15, 121-123.
 - 11. CAPELLI, R., G. DRAVA, R. DE PELLEGRINI, V. MINGANTI and R. POGGI (2000): Study of trace elements in organs and tissues of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) found dead along the Ligurian coasts (Italy). Adv. Environ. Res. 4, 31-43.
 - 12. CAPPON, C. J. and J. C. SMITH (1982): Chemical form and distribution of mercury and selenium in edible seafood. J. Anal. Toxicol. 6, 10-21.
 - 13. CARVALHO, M. L., R. A. PEREIRA and J. BRITO (2002): Heavy metals in soft tissues of *Tursiops truncatus* and *Delphinus delphis* from west Atlantic Ocean by X-ray spectrometry. Sci. Total Environ. 292, 247-254.
 - 14. CAURANT, F., M. NAVARRO and J. C. AMIARD (1996): Mercury in pilot whales: possible limits to the detoxification process. Sci. Total Environ. 186, 95-104.
 - 15. CERNICHIARI, E., R. BREWER and G. J. MYERS (1995): Monitoring methylmercury during pregnancy: maternal hair predicts fetal brain exposure. Neurotoxicol. 16, 705-710.
 - 16. CHOY, C. A., B. N. POPP, J. J. KANEKO and J. C. DRAZEN (2009): The influence of depth on mercury levels in pelagic fishes and their prey. Proc. Natl. Acad. Sci. 106, 13865-13869.
 - 17. CLARKSON, T. W. and L. MAGOS (2006): The toxicology of mercury and its chemical compounds. Crit. Rev. Toxicol. 36, 609-662.
 - 18. CLARKSON, T. W. (2002): The three modern faces of mercury. Environ. Health Perspect. 110, 11-23.
 - 19. COSSA, D., B. AVERTY and N. PIRRONE (2009): The origin of methylmercury in open Mediterranean waters. Limnol. Oceanogr. 54, 837-844.
 - 20. COX, P. A. (1995): The Elements on Earth: Inorganic Chemistry in the Environment. Oxford University Press, Oxford, str. 287.
 - 21. CUVIN-ARALAR, M. L. A. and R. W. FURNESS (1991): Mercury and selenium interaction: a review. Ecotoxicol. Environ. Safe. 21, 348-364.
 - 22. DIXON, H. B. F. (1997): The biochemical action of arsonic acids especially as phosphate analogues. Adv. Inorg. Chem. 44, 191-227.
 - 23. DRISCOLL, C. T., R. P. MASON, H. M. CHAN, D. J. JACOB and N. PIRRONE (2013): Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects. Environ. Sci. Technol. 47, 4967-4983.
 - 24. DURAKOVĆ, Z. and B. LABAR (2000): Hematološke promjene kao posljedice otrovanja. U: Klinička toksikologija, Grafos, Zagreb, str. 83-87.
 - 25. EBINGHAUS, R., C. BANIC, S. BEAUCHAMP, D. JAFFE, H. KOCH, N. PIRRONE, L. POISSANT, F. SPROVIERI and P. WEISS-PENZIAS (2009): Spatial coverage and temporal trends of land-based atmospheric mercury measurements in the Northern and Southern Hemispheres. In: Mercury Fate and Transport in the Global Atmosphere (Pirrone, N., Mason, R., eds.), Springer, New York, pp. 223-291.
 - 26. FAO/WHO (1989): Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. WHO food additive series No. 44.
 - 27. FEROCI, G., R. BADIOLLO and A. FINI (2005): Interactions between different selenium compounds and zinc, cadmium and mercury. J. Trace Elem. Med. Biol. 18, 227-234.
 - 28. FRANCESCONI, K. A. and J. S. EDMONDS (1998): Arsenic species in marine samples. Croat. Chem. Acta. 71, 343-359.
 - 29. FRIBERG, L. and N. K. MOTTET (1989): Accumulation of methylmercury and inorganic mercury in the brain. Biol. Trace Elem. Res. 21, 201-206.
 - 30. FRODELLO, J. P., M. ROMEO and D. VIALE (2000): Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. Environ. Pollut. 108, 447-452.
 - 31. GAILER, J. (2007): Arsenic-selenium and mercury-selenium bonds in biology. Coordin. Chem. Rev. 251, 234-254.
 - 32. GIBBS, P. E., W. J. LANGSTON, G. R. BURT and P. L. PASCOE (1983): Tharyx marioni (Polychaeta): a remarkable accumulator of arsenic. J. Mar. Biol. Assoc. UK 63, 313-325.
 - 33. GRAY, J. S. (2002): Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. Mar. Pollut. Bull. 45, 46-52.
 - 34. HONDA, K., R. TATSUKAWA, K. ITANO, N. MIYAZAKI and T. FUJIYAMA (1983): Heavy metal concentrations in muscle, liver, and kidney tissue of striped dolphin, *Stenella coeruleoalba* and their variations with body length, weight, age and sex. Agric. Biol. Chem. 47, 1219-1228.
 - 35. HUGHES, M. F. (2002): Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. Toxicol. Lett. 133, 1-16.
 - 36. IKEMOTO, T., T. KUNITO, H. TANAKA, N. BABA, N. MIYAZAKI and S. TANABE (2004): Detoxification mechanism of heavy metals in marine mammals and seabirds: interaction of selenium with mercury, silver, copper, zinc, and cadmium in liver. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 47, 402-413.
 - 37. JONGEN, W. M. F., J. M. CARDINAALS and P. M. J. BOS (1985): Genotoxicity testing of arsenobetaine,

- the predominant form of arsenic in marine fishery products. *Food Chem. Toxicol.* 23, 669–673.
38. KAPAJ, S., H. PETERSON, K. LIBER and P. BHATTACHARYA (2006): Human health effects from chronic arsenic poisoning - a review. *J. Environ. Sci. Health A* 41, 2399-2428.
39. KIRBY, J. and W. MAHER (2002): Tissue accumulation and distribution of arsenic compounds in three marine fish species: relationship to trophic position. *Appl. Organomet. Chem.* 16, 108-115.
40. KOEMAN, J. H., W. H. M. PEETERS, C. H. M. KOUDSTAAL-HOI, P. S. TJOE and J. J. M. GOEIJ (1973): Mercury-selenium correlation in marine mammals. *Nature* 245, 385-386.
41. KOENING, S., M. SOLÉ, C. FERNÁNDEZ-GÓMEZ and S. DÍEZ (2013): New insights into mercury bioaccumulation in deep-sea organisms from the NW Mediterranean and their human health implications. *Sci. Total Environ.* 442, 329-335.
42. KUBOTA, R., T. KUNITO and S. TANABE (2001): Arsenic accumulation in the liver tissue of marine mammals. *Environ. Pollut.* 115, 303–312.
43. KUBOTA, R., T. KUNITO and S. TANABE (2002): Chemical speciation of arsenic in the livers of higher trophic marine animals. *Mar. Pollut. Bull.* 45, 218-223.
44. KUNITO, T., R. KUBOTA, J. FUJIHARA, T. AGUSA and S. TANABE (2008): Arsenic in marine mammals, seabirds, and sea turtles. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 195, 31-69.
45. LAHAYE, V., P. BUSTAMANTE, W. DABIN, O. VAN CANNEYT, F. DHERMAIN, C. CESARINI, G. J. PIERCE and F. CAURANT (2006): New insights from age determination on toxic element accumulation in striped and bottlenose dolphins from Atlantic and Mediterranean waters. *Mar. Pollut. Bull.* 52, 1219-1230.
46. LEONZIO, C., S. FOCARDI and C. FOSSI (1992): Heavy metals and selenium in stranded dolphins of the Northern Tyrrhenian (NW Mediterranean). *Sci. Total Environ.* 119, 77–84.
47. LIU, J., R. A. GOYER and M. P. WAALKES (2008): Toxic effects of metals. In: Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 7. ed. (Casarett L. J., Doull, J., Klassen, C. D., eds.), McGraw-Hill, New York, pp. 931-979.
48. MASON, R., D. HEYES and A. SVEINSDOTTIR (2006): Methylmercury concentrations in fish from tidal waters of the Chesapeake Bay. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 51, 425–437.
49. MOORE, M. M., K. HARRINGTON-BROCK and C. L. DOERR (1997): Relative genotoxic potency of arsenic and its methylated metabolites. *Mutat. Res./ Rev. Mutat.* 386, 279-290.
50. NG, P. S., H. LI, K. MATSUMOTO, S. YAMAZAKI, T. KOGURE, T. TAGAI and H. NAGASAWA (2001): Striped dolphin detoxifies mercury as insoluble Hg (S, Se) in the liver. *P. Jpn. Acad. B-Phys.* 77, 178-183.
51. NIGRO, M., and C. LEONZIO (1996): Intracellular storage of mercury and selenium in different marine vertebrates. *Mar. Ecol. – Prog. Ser.* 1351, 137-143.
52. NRIAGU, J. O. (2002): Arsenic poisoning through the ages. In: Environmental Chemistry of Arsenic (Frankenberger, W. T. Jr., ed.) Marcel Dekker Inc., New York, pp. 1-26.
53. PARK, J. D. and W. ZHENG (2012): Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. *J. Prev. Med. Public Health* 45, 344-352.
54. PATRICK, L. (2002): Mercury toxicity and antioxidants: Part 1; role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity. *Altern. Med. Rev.* 7, 456-471.
55. RAWSON, A. J., J. P. BRADLEY, A. TEETSOV, S. B. RICE, E. M. HALLER and G. W. PATTON (1995): A role for airborne particulate in high mercury levels of some cetaceans. *Ecotox. Environ. Safe.* 30, 309-314.
56. RODITI-ELASAR, M., D. KEREM, H. HORNUNG, N. KRESS, E. SHOHAM-FRIDER, O. GOFFMAN and E. SPANIER (2003): Heavy metal levels in bottlenose and striped dolphins off the Mediterranean coast of Israel. *Mar. Pollut. Bull.* 46, 503-512.
57. ROY, P. and A. SAHA (2002): Metabolism and toxicity of arsenic: A human carcinogen. *Curr. Sci.* 82, 38-45.
58. SATOH, H. (2000): Occupational and environmental toxicology of mercury and its compounds. *Ind. Health* 38, 153-164.
59. SEIXAS, T. G., H. A. KEHRIG, G. FILLMANN, A. P. M. DIBENEDITTO, C. M. M. SOUZA and E. R. SECCHI (2007): Ecological and biological determinants of trace elements accumulation in liver and kidney of *Pontoporia blainvilliei*. *Sci. Total Environ.* 385, 208–220.
60. SHENKER, B. J., T. L. GUO and I. M. SHAPIRO (2000): Mercury-induced apoptosis in human lymphoid cells: evidence that the apoptotic pathway is mercurial species dependent. *Environ. Res.* 84, 89–99.
61. SHIBATA, Y., M. MORITA and K. FUWA (1992): Selenium and arsenic in biology: their chemical forms and biological functions. *Adv. Biophys.* 28, 31–80.
62. STYBLO, M., L. M. DEL RAZO, L. VEGA, D. R. GERMOLEC, E. L. LECLUYESE, G. A. HAMILTON, W. REED, C. WANG, W. R. CULLEN and D. J. THOMAS. (2000): Comparative toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells. *Arch. Toxicol.* 74, 289-299.
63. TAO, S. S. H., and P. M. BOLGER (1998): Dietary intakes of arsenic in the United States. In: SEGH 3rd Inter. Conf. Arsenic Expos. Health Effect (Chappel, W. R., Abernathy, C. O., Calderon, R. L., eds.), p. 85.
64. THOMPSON, D. R. (1990): Heavy metals in marine vertebrates. In: Heavy Metals in the Marine Environment (Furnes, R. W., Rainbow, P. S., eds.), CRC Press, London, pp. 143–182.
65. WHO (2001): Arsenic and arsenic compounds. Environmental Health Criteria 224. World Health Organization, Geneva.
66. ZHU, J., Z. CHEN, V. LALLEMAND-BREITENBACH and H. THÉ (2002): How acute promyelocytic leukaemia revived arsenic. *Nat. Rev. Cancer* 2, 705-713.

Toxic Metals - Bioindicators of Pollution in the Marine Environment - Part II.: Arsenic and Mercury

Marija SEDAK, Grad. Food Technology Eng., Nina BILANDŽIĆ, PhD, Grad. Biotechnology Eng., Scientific Advisor, Bruno ČALOPEK, Grad. Food Technology Eng., Maja ĐOKIĆ, Grad. Chem. Technology Eng., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, Grad. Biotechnology Eng., Ivana VARENINA, Grad. Biotechnology Eng., Đurdica BOŽIĆ, Grad. Biotechnology Eng., Ines VARGA, Grad. Biotechnology Eng., Croatian Veterinary Institute Zagreb, Croatia; Branimir ŠIMIĆ, PhD, Full Professor, Faculty for Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Croatia; Martina ĐURAS, Assistant Professor, DVM, PhD, Tomislav GOMERČIĆ, Assistant Professor, DVM, PhD, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia

Heavy metals arsenic, lead, cadmium, mercury and arsenic are toxic nonessential metals that are present in the body only as a result of pollution and have no known beneficial properties for life. The body can tolerate these metals at low concentrations whereas at higher concentrations they become toxic. Arsenic affects mitochondrial enzymes and inhibits the mechanism of cellular respiration. The metal exists in inorganic and organic form and in different oxidation states and is primarily present in the environment in the trivalent and pentavalent oxidation states. Symptoms of acute inorganic arsenic toxicity are severe gastrointestinal disorders, liver failure and renal and cardiovascular disorders. Chronic exposure causes skin pigmentation, hyperkeratosis, cancer of lung, bladder, liver, kidneys and skin. Arsenic occurs mainly in seawater in its inorganic forms as arsenate and arsenite. Marine organisms contain arsenic in much higher concentrations than terrestrial organisms. As there is no other way to avoid exposure to potentially toxic inorganic arsenic species, these organisms have developed biotransformation and detoxification mechanisms. Arsenic is evenly distributed in the tissues of marine animals and mainly accumulates in the exoskeleton of invertebrates and the liver in fish. The concentrations of total arsenic, as well as specific types of arsenic, are changing. Inorganic arsenic is present almost exclusively in the internal organs (intestines, liver, stomach, heart, gills) while the arsenic content in muscle tis-

sue is almost entirely arsenobetaine. Mercury is found in the environment primarily due to volcanoes, erosion of soil and rock, and bacterial decomposition of organic mercury compounds. Anthropogenic sources are mercury ores, fossil fuel combustion, and industries that use mercury in technological processes. Acute high doses of mercury salts primarily cause chest pain and severe gastrointestinal symptoms due to corrosive damage to the gastrointestinal tract. Chronic mercury poisoning leads to kidney damage, mainly of the proximal channel, polyuria and proteinuria. Methyl mercury is the main form of mercury in the environment and the main form that accumulates in animals and humans, and it is formed by the methylation of inorganic mercury by microorganisms in the environment and as such enters the aquatic food chain. The highest concentrations of mercury have been recorded in predatory fish and marine mammals. Mercury accumulates in the inorganic form primarily in the liver of marine mammals, which suggests that the liver is the site of mercury demethylation. Therefore, mercury compounds are mainly metabolized in the liver where they can be demethylated or are subjected to conjugation reactions with glutathione and selenium. The formation of insoluble compounds of mercury and selenium is considered a process in which selenium can prevent mercury toxicity.

Key words: Heavy metals, Arsenic, Mercury, Bioaccumulation, Marine mammals

JEDNIM POTEZOM U SUŠTINU



Enroxil® Max

enrofloksacin

Injekcijska otopina, 100 mg/ml

**antibakterijski lijek za sustavne infekcije
fluorokinolon, enrofloksacin za goveda i svinje**

Unaprijeđeni tretman za MAXimalni učinak

Sastav: Jedan ml otopine za injekciju Enroxil® Max sadržava 100 mg enrofloksacina.

Indikacije: Govedo: Liječenje infekcija dišnih organa goveda (npr. kompleks enzootske bronhopneumonije, teladijunadi) koje uzrokuju: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni* i *Mycoplasma* spp., te liječenje mastitisa krave uzrokovanih bakterijama *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae*. Enroxil® Max primjenjuje se u goveda kada kliničko je potrebno, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma ukazuje da je enrofloksacin lijek izbora.

Svinja: Liječenje dišnih infekcija svinja koje uzrokuju bakterije *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis* i *Bordetella bronchiseptica*, kao i liječenje MMA-sindroma u krmaca i ostalih infekcija čiji su uzročnici osjetljivi na enrofloksacin. Enroxil® Max primjenjuje se u svinja kada kliničko je potrebno, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma, ukazuje da je enrofloksacin lijek izbora.

Karenčina: Meso i jestive iznutrice: Govedo: 14 dana. Svinja: 10 dana. Mlijeko krava: 48 sati.

 KRKA

*Naša inovativnost i znanje
za djelotvorne i neškodljive
proizvode vrhunske kakvoće.*

Najznačajnije herpesviroze u naših domaćih životinja (II. dio)

Tomislav Keros*, Lorena Jemeršić i Tomislav Bedeković



Uvod

Herpesvirusi su među najučestalijim uzročnicima virusnih zaraza i ugrožavaju zdravlje gotovo svih životinjskih vrsta te napose u uzgoju domaćih životinja nanose velike materijalne štete. Stoga su herpesviroze neprijeporno važno područje u sklopu veterinarske zaštite. Navedeno nas je potaklo predstaviti sažet pregled bitnih značajki najučestalijih herpesviroza u naših domaćih životinja kako bi veterinarima pomogli u svakodnevnom radu. U ovom pregledu prikazane su i herpesviroze u svinja, pasa i mačaka te peradi. Herpesviroze u ovaca i koza pojavnosću, razvojno i klinički prouzroče zaraze slične onima u pregledom obuhvaćene stoke (npr. coryza i pseudorabies) te su izostavljene kako bi se izbjegla ponavljanja.

ZARAZE SVINJA HERPESVIRUSIMA

Porodica *Herpesviridae* uključuje pet vrsta svinjskih herpesvirusa (SuHV), a najrasprostranjeniji su SuHV-1 i citomegalovirus SuHV-2.

Svinjski herpesvirus 1

Svinjski herpesvirus (*Suis herpesvirus 1, SuHV -1; Porcine herpesvirus, 1-PrV*) prouzroči bolest Aujeszkoga (*Morbus Aujeszky*) u svinja ili lažnu bjesnoću (*Pseudorabies*) u drugih domaćih i divljih životinja.

Pojavnost i prenošenje: Zaraza je rasprostranjena diljem svijeta u svinjogradskoj industriji, ali sporadično se mogu inficirati i goveda, ovce, koze, mačke, psi, a rijedje konji i drugi sisavci (jelen) te glodavci, posebice štakor, kuna i tvor. U pasa i mačaka je inkubacija nakon infekcije vrlo kratka (do 3 dana), a klinička slika vrlo osebujna te ukoliko dolaze u dodir sa svinjama mogu biti indikatori infekcije i u njih. Ipak, glavni izvor zaraze su svinje koje mjesecima izlučuju virus putem izlučevina pa tako i mokraćom i mljekom. Zaraza se prenosi kapljично putem kože i sluznica te u mesojeda (psi, divlje svinje) i kontaminiranom, termički neobrađenom hranom. Pri tome su ulazna područja sluznice nosa, usta i ždrijela te probavnoga i spolnoga sustava. Mlade životinje su prijemuljivije, a u odraslih svinja je dobna otpornost izraženija pa mnoge životinje ostaju trajni prijenosnici

Dr. sc. Tomislav KEROS*, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik (dopisni autor, e-mail: keros@veinst.hr), dr. sc. Lorena JEMERŠIĆ, dr. med. vet., znanstvena savjetnica, naslovna docentica, dr. sc. Tomislav BEDEKOVIĆ, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, Hrvatski veterinarni institut Zagreb, Hrvatska

virusa i bez kliničkih znakova bolesti. Pri tome se ističe ugroza domaćih svinja od pseudorabiesom zaraženih divljih svinja koje su prisutne u mnogim europskim područjima, a u Hrvatskoj je seroprevalenca zabilježena na 38,5% (Župančić i sur., 2002., Karriker, 2012., Roić i sur., 2012.). Divlje su svinje izvorom infekcije i u lovnih pasa koji dolaze u izravan dodir sa zaraženim divljim svinjama tijekom lova (Keros i sur., 2015.).

Razvoj bolesti: Virus se umnožava u sluznici nosa i ždrijela te sekundarno u tonzilama pa dolazi u vezivne i živčane stanice gdje ga je moguće dokazati 24 sata nakon infekcije. Na mjestu ulaska virusa nastaje nekroza, a virusne čestice putuju aksonima kraljičkih živaca, krvlju i limfom te se tijekom 48 sati umnožavaju u tonzilama, olfaktornom bulbusu i faringealnom gangliju, nakon čega nastaje viremija i virus dospijeva u limfoidne čvorove, pluća, slezenu i bubrege te jajnike i maternicu. Transplacentalno virus prelazi i u plodove, ukoliko je krmača gravidna. Ukoliko domaćin prezivi primarnu infekciju, ona poprima latentan tijek uz moguću pojavu reaktivacija (Metterleiter, 2008., Lojkić, 2012.).

Klinička slika i patološke promjene: Inkubacija traje 1 do 6, iznimno do 10 dana, a izraženost znakova bolesti ovisi o dobi svinje. Bolest se u starijih svinja očituje blagim respiratornim simptomima infekcije poput konjunktivitisa i pojave iscijedka iz nosnica te kasnije i kašljem, ubrzanim i otežanim disanjem. Česta je pojava i neuroloških poremećaja. Svinje su nemirne hiperrestenične te odbijaju hranu. Znakovita je pojava žestokog svrbeža, posebice oko očiju, gubice, nosa i na stražnjem dijelu tijela pa se životinje grebu do ranjavanja. U bredih krmača česti su pobačaji i prasenje mrtvorođenčadi. Svinje starije od šest mjeseci su otpornije i u njih je smrtnost oko 10%. Prasad je vrlo osjetljiva na zarazu pa je morbiditet vrlo velik, a smrtnost je gotovo 100%. U prasadi je redovito

povećana tjelesna temperatura uz tremor mišića, povlačenje u stelju i pojavu neuroloških poremećaja poput slabosti i nekoordiniranosti stražnjih nogu i kratkotrajnih epileptiformnih napada (Keros i sur., 2014.).

Zaraza u ovaca, pasa, mačaka, goveda i konja rijetkost je i nije kontagiozna, ali redovito ima akutan tijek i poremećaji se brzo razvijaju pa se u životinja manifestira encefalitis uz kljenuti, što već nakon 24 sata završava paralizom, komom i uginućem (engl. *dead end hosts*). Posebice poguban je tijek bolesti u lovačkih pasa koji se zaraze u doticaju sa zaraženim divljim svinjama (Keros i sur., 2015.).

Patohistološki se mogu pronaći mala žarišta, nekroze u jetri i slezeni te u uzorcima mjesta svrbeža i u kralješničkoj moždini. Elektronskim mikroskopom se u tim tkivima prikazuju intranuklearne uklopine. U većine pobačene prasadi vidljiva su žarišta koagulacijske nekroze u limfoidnim čvorovima, jetri, slezeni i nadbubrežnim žlijezdama. U svinja s neurološkim poremećajima redovito su razvijene upalne promjene središnjega živčanog sustava (meningoencefalitis).

Dijagnostika: U brzoj dijagnostici rabi se test fluorescentnih protutijela, a virus se potom može prepoznati i neutralizacijom virusa u staničnim kulturama do 16 sati nakon ucijepljenja. Za otkrivanje protutijela poduzimaju se serumska neutralizacija, lateks aglutinacija i imunoenzimni test (ELISA). Danas je najsigurnija metoda dokazivanja virusa bolesti Aujeszkoga lančana reakcija polimerazom – PCR, kojom se dokazuju specifične regije DNK genoma (Sami i sur., 2007., Roić i sur., 2013.).

Razlikovna dijagnoza uključuje svinjski respiratorni i reproduktivni sindrom (PRRS), svinjsku gripu te klasičnu/afričku svinjsku kugu.

Uzorci za pretraživanje su orofaringealnih izlučevina, tonzila, trigeminalni gangliji, mozgovno deblo, pluća, bubrezi,

limfoidni čvorovi te korioalantoidna tekućina.

Liječenje: Nema uspješnog liječenja i može se samo primijeniti simptomatsko liječenje uz sprječavanje sekundarnih infekcija.

Sprječavanje: Program iskorjenjivanja pseudorabiesa cijepljenjem temelji se na smanjenju broja zaraženih svinja ispod 10%. Uzgoj treba popunjavati samo iz serološki zdravih uzgoja uz stalne provjere i uklanjanje seropozitivnih životinja. Cijepljenje u zaraženih životinja smanjuje izlučivanje virusa pa se zato preporučuju cijepljenja cijelih stada. Prasad od cijepljenih krmača zaštićena su majčinskim protutijelima 8 do 12 tjedana pa ih potom treba cijepiti, a rasplodne se životinje moraju cijepiti dva do tri puta godišnje ovisno, o epizootiološkoj situaciji (Lojkic i sur., 2005., Lojkic, 2012.).

Svinjski herpesvirus 2

Svinjski herpesvirus 2 (*Suis herpesvirus; SvHV-2*) dovodi do rinitisa i smanjeni prirast mlađe prasadi.

Pojavnost i prenošenje: Zaraza je vrlo rasprostranjena, ali je rijetko klinički izražena. Virus se od krmača prenosi na prasad izravnim doticajem i kapljично (aerosol), a moguće je i prijenos intrauterino tijekom gravidnosti. Infekcija se u uzgoje unosi zaraženim svinjama, a u zahvaćenim leglima je smrtnost do 25%.

Klinička slika i patološke promjene: Prasad zaražena intrauterino u prvim tjednima života imaju povišenu tjelesnu temperaturu i odbijaju hranu, kišu uz obilan iscjedak iz nosnice te konjunktivitis. Iscjedak iz nosnice ubrzano postaje gust i gnojan, a brzo se suši pa životinje otežano dišu. U prasadi starijoj od tri tjedna osim vrućice i nevoljnosti za hranu rijetki su drugi znaci pa se infekcija često previdi.

Patoanatomski je vidljiv gnojni rinitis i upala paranasalnih sinusa, a katkad se razvije i atrofični rinitis. U zahvaćenim stanicama su intranuklearno uočljiva

krupna bazofilna inkluzijska tjeleša koja u nosnom iscjektu mogu biti i acidofilna (Habrun, 2012.).

Dijagnostika: U stanicama nosnog iscjekta vidljive su uklopine, a elektronskim mikroskopom se u negativno obojenom lizatu nosnog iscjekta mogu dokazati virusi. Specifična protutijela prepoznaju se primjenom imunofluorescentnog i ELISA testa. Virus je vidljiv 10. do 18. dana nakon umnožavanja u staničnim kulturama svinjskog plućnog tkiva u kojima dovodi do stvaranja intranuklearnih uklopina (Carter i Saunders, 2007.). Uzorci se za pretrage uzimaju iz nosnog obriska i plućnog tkiva nakon uginuća.

Liječenje: Uz primjereno postupanje sa životinjama valja suzbijati sekundarne bakterijske infekcije.

Sprječavanje: Cijepljene se ne primjenjuje i jedini način zaštite je primjena strogih biosigurnosnih mjera te testiranje životinja prije uvođenja u stado.

ZARAZE PASA HERPESVIRUSIMA

U pasa je specifičan pseći herpesvirus 1 (CHV-1), ali psi obolijevaju i od pseudorabies virus (PrV), koji posebice ugrožava lovačke pse (Keros i sur., 2015.).

Pseći herpesvirus 1

Pseći herpesvirus 1 (*Canine herpesvirus-1; CHV-1*), srođan je mačjem herpesvirusu 1 te konjskim herpesvirusima 1 i 4, a uzrokuje upale prednjih dišnih putova u pasa i pobačaje u kuja te smrtonosnu hemoragijsku bolest u štenadi.

Pojavnost i prenošenje: Virus je raširen, ali infekcija zahvaća samo domaće pse i divlje kanide, (npr. lisice). U štenaca se najčešće prenosi tijekom prva tri tjedna po rođenju, doticajem s nosnim i usnim ili rođničkim izlučevinama od majke za vrijeme ili nakon porođaja, a opisane su i zaraze putem posteljice. U odraslih pasa

virus zahvaća i dišni i spolni sustav pa se zaraza kapljично prenosi kihanjem i kašljanjem te parenjem. Virus je vrlo osjetljiv u vanjskoj sredini, ali se ipak može prenijeti i onečišćenom vodom. Zaraženi psi, izlučuju virusne mjesecima pa i godinama.

Razvoj bolesti: Virus se umnožava u nosnoj i ždrijelnoj sluznici te tonsilama, a pri tom mu pogoduje tjelesna temperatura psa od 36 do 37 °C. Organizmom inficiranog psa se širi u limfoidna i ganglijska tkiva nazooralne i genitalne sluznice, parotidne žlijezde te u trigeminalne i lumbosakralne ganglije. Nапослјетку slijedi viremija koja nastaje u vrlo mlađih i pothlađenih štenaca koji nemaju u cijelosti razvijen imunosni sustav. Štenad starija od dva tjedna zaštićena su maternalnim protutijelima ukoliko su im majke bile seropozitivne, a infekcija je blažeg tijeka. Nakon pet ili šest tjedana razvija se u štenaca se razvije imunosni sustav pa infekcija ima blagi pa i inaparentni tijek, ali virus latentno zaostaje u trigeminalnim i lumbosakralnim ganglijima pa su moguće reaktivacije (Carmichael, 2004.).

Klinička slika i patološke promjene: Inkubacija traje 6 do 10 dana. Zaraza se očituje suzenjem pa i lezijama očiju, iscjetkom iz nosa i otežanim disanjem, drhtanjem i nemirom, žutim ili žutozelenim proljevom, nedostatkom refleksa sisanja te klonulošću. U štenaca mlađih od tjedan dana tijekom 48 sati opada tjelesna temperatura te nastupi koma, a u 80% oboljelih i smrt. U starijih štenaca dobi od tri do pet tjedana znaci su manje izraženi ali zaostaju neurološke promjene (ataksija i slijepilo). U kuja, ovisno o trajanju gravitnosti, infekcija prouzroči pobačaje ili se koti mrvorodenčad, a ako se štene i okoti živo redovito oboli tijekom prvih devet dana života (Buonavoglia i Martella, 2007.).

Patoanatomski je vidljiva upala nosne i ždrijelne sluznice pa i plućni

edem te oštećenja očiju (keratitis, uveitis, optički neuritis, retinitis i displazija retine). U organima je vidljiv nekrotični vaskulitis s petehijalnim u bubrezima, jetri, plućima i probavnom sustavu. U kuja su moguće hiperemije i vezikularne upale rodnične sluznice, a u mužjaka nastaju vezikule na penisu i prepuciju pa se bolest može prenijeti i parenjem (Štritof, 2012.a).

Dijagnostika: Epizootiološki podatci i slika akutne febrilne bolesti u mlađih štenaca pobuduju sumnju na herpesvirozu pasa. Brza se dijagnoza postavlja imunofluorescentnim i PCR postupcima. Patoanatomski nalaz potvrđuje dijagnozu, a u alveolarnom epitelu i intersticijskim stanicama pluća te zahvaćenim organima nalaze se intranuklearne uklopine. Virus se lako umnožava u staničnim kultura-ma podrijetlom od kunića (Carter i sur., 2006.).

Razlikovna dijagnoza uključuje štenećak, zarazni pseći hepatitis, zaraze psećim parvovirusom i toksoplazmoze (Štritof, 2012.a). Uzorci se za pretrage uzimaju iz zahvaćenih sluznica, parotidnih žlijezda, pluća i bubrega.

Liječenje: U liječenju antibiotici nisu učinkoviti. Važno je držati štence na topлом. Smrtnost se može smanjiti uštrcavanjem 1 do 2 mL seruma seropozitivne kuje i ili intraperitonealnom unošenju protutijela CHV.

Sprečavanje: Cijepljenje se rijetko provodi, a dostupno je cjepivo koje se daje kujama dva puta početkom trudnoće i tjedan dana prije štenjenja. U suzbijanju zaraze važni su primjereni biosigurnosni postupci, a virus je vrlo osjetljiv na dezinficijense i većinu deterdženata. Kuje s negativnim serološkim nalazom CHV treba izolirati tri tjedna prije i tri tjedna nakon koćenja. Zdrave štence u zahvaćenom leglu treba zagrijavati tako da rektalna temperatura dosegne vrijednost iznad 38,5 °C. Mogućnost reinfekcije valja otklanjati izbjegavanjem stresnih stanja kao što su uvođenje novih pasa

i seobe ili primjenjivanje imunosupresivnih lijekova, npr. kortikosteroida (Carter i Saunders, 2007.).

ZARAZE MAČAKA HERPESVIRUSIMA

U mačaka je specifična herpesviroza prouzročena FHV-1, ali mačke obolijevaju i nakon infekcije pseudorabies virusom (PrV).

Mačiji herpesvirus 1

Mačiji herpesvirus 1 (*Feline herpesvirus 1; FHV-1*) prouzroči zarazni rinotracheitis u mačaka (*Feline viral rhinotracheitis, FVR*).

Pojavnost i prenošenje: Infekcija FHV-1 je vrlo raširena svijetom, premda ima enzootski karakter čini gotovo polovicu svih respiratornih bolesti u mačaka. Svi pripadnici obitelji felida (npr. lavovi) osjetljivi su na FHV-1 koji može prouzročiti pogibeljne pneumonije i encefalitise. Virus se prenosi izravnim doticajem ili posredno očnim izlučevinama te iscjetkom iz nosa i usta pa i sadržajem želuca nakon vomitusa. Virus u vlažnom okolišu može preživjeti i do 18 sati, a u suhom samo kratkotrajno vezan za aerosoli.

Razvoj bolesti: Virus se umnožava u sluznicama i u konjunktivi, a neki sojevi i u plućima te u sinovijalnim opnama zglobova. Viremija je rijetkost, ali u mладunčadi virus može prouzročiti pogibeljni generalizirani oblik bolesti. Virus se izlučuje i do tri tjedna nakon infekcije.

Klinička slika i patološko-morfološke promjene: Inkubacija traje 2 do 5 dana. Bolest započinje naglo uz opću slabost, klonulost i odbijanje hrane te povećanjem tjelesne temperature, kihanjem i pojavom obilnog iscjetka iz nosa i suzenjem. Iscjedak potom postaje purulentan, a slijede kašalj i katkad bronhopneumonija pa i ulcerozne promjene kože. Uz konjunktivitis na rožnici mogu nastati dendritički

čirevi. U bređih mačaka često uslijedi pobačaj, najčešće u šestom tjednu trudnoće. Bolest obično traje 4 do 20 dana, ali u mladih životinja virus može trajno oštetići tkiva nosa i paranasalnih sinusa te ostaje sklonost kroničnim bakterijskim infekcijama. Nakon oporavka mačke virus mogu nositi trajno u trigeminalnim ganglijima pa postaju latentni prenositelji zaraze (Johnson i sur., 2005., Gaskell i sur., 2007.).

Patoanatomski se nalaze upalne promjene i nekrotična žarišta s mjestimičnim ulceracijama u nosu, ždrijelu, tonzilama, dušniku i plućima, a gnojna upala može ispuniti paranasalne sinuse. U stanicama zahvaćenih organa elektronskim mikroskopom su uočljive intranuklearne uklopine (Carter i sur., 2006.).

Dijagnostika: Klinička slika koja naglo započinje suzenjem, kihanjem i konjunktivitisom upućuje na zarazu s FHV-1. Sigurna se dijagnoza postavlja sa nalazom zahvaćenih stanica, te intranuklearnih uklopina u epitelu dišnih organa i obrisku konjunktive, a virus se može umnožiti u staničnoj kulturi podrijetlom od mačke. U dijagnostici se se rabe i imunofluorescencija te serum neutralizacijski test, a danas i PCR postupak (Maggs i Clarke, 2005., Merck, 2013.).

Razlikovna dijagnoza uključuje mačju gripu, mačju prehladu/hunjavicu (corryza) i mačju upalu pluća te infekcije mačjim kalicivirusom i bakterijom *Bordetella bronchiseptica*.

Uzorci za pretrage uzimaju se od obriska konjunktive i nosnog iscjetka te tkiva traheje i bronha te rubova kožnih oštećenja.

Liječenje: Učinak antivirusnih lijekova nije dokazan, premda se u literaturi ipak navode rezultati primjene ganciklovida i famciklovira. U pravilu se primjenjuje simptomatsko liječenje (inhalacije, dekongestici i mukolitici). Sekundarne bakterijske infekcije sprječavaju se antibioticima, koji se primjenjuju i za liječenje gnojnih upala (ulceracije i sinu-

itis). Mačkama treba davati mekanu hranu, a u težim oblicima bolesti primijeniti i parenteralnu prehranu te zbog dehidracije nadomještavati tekućinu (Štritof, 2012.b).

Sprječavanje: Uhodanim zaštitnim mjerama treba sprječavati doticaj zdravih s bolesnim životinjama, a napose u uzgajalištima i utočištima. Većina dezinficijensa, antiseptika i deterdženata učinkovita je u uništavanju virusa. Dostupne su i različite kombinacije cjepiva, koje mogu smanjiti širenje zaraze i ublažiti tijek bolesti, a pri tome se u bređih mačaka primjenjuju cjepiva s umrtvljениm virusima, a mačice treba višekratno cijepiti, a imunitet traje do tri godine. Širenju zaraze pridonose stresna stanja i primjena kortikosteroida (Štritof, 2012.b).

ZARAZE PERADI HERPESVIRUSIMA

Zaraze herpesvirusima u kokoši uzrokuju GaHV-1, GaHV-2 i GaHV-3, u purana CaHZ-2 te u pataka i gusaka AnHV-1.

Kokošji herpesvirus 1

Kokošji herpesvirus 1 (*Gallid herpesvirus 1; GaHV-1*) prouzroči zaraznu upalu grla i dušnika (*Laryngotracheitis infectious; LTV*).

Pojavnost i prenošenje: Zaraza GaHV-1 rasprostranjena je diljem svijeta u domaće peradi pa i u fazana i pauna. Virus se prenosi izravnim doticajem i kapljicama (slina, iskašljaj), poglavito putem dišnoga, ali i probavnoga sustava. Zaraza obično nastaje u zimskom razdoblju, a kokoši su osjetljivije nakon dobi od četiri tjedana. Pobol je obično 5 do 70% uz smrtnost od 15%, ali kadšto smrtnost može doseći i do 100% u jatu (Jordan, 1996., Gottstein, 2012.a).

Razvoj bolesti: Virusi se umnožavaju u epitelu konjunktive, nosa i paranasalnih sinusa, ždrijela, grkljana, dušnika pa sve do pluća. Istodobno aksonima osjetnih živčanih stanica dopiru u trigeminalne ganglije gdje se latentno održavaju i nakon oporavka životinje (Biđin, 2008.).

Klinička slika i patološke promjene: Inkubacija traje 6 do 12 dana. Bolest započinje naglo iscijetkom iz nosnica i vlažnim hropcima uz kašalj i otežano disanje, a u iskašljanoj sluzi može biti krvi. Tijek bolesti ovisan je o virulentnosti uzročnika pa može biti blag (konjunktivitis, edem infraorbitalnih sinusa i smanjena nosivost) ili je pogibeljan uz pojavu teških oštećenja sluznica i krvarenjem, kada smrtnost iznosi i do 70% (Herceg i sur., 1971., Fenner i sur., 1993., Gottstein, 2012.a).

Patoanatomski se osim upalnih promjena sluznice ždrijela, grkljana i dušnika razvijaju kazeozni eksudat i naslage pa kadšto i difteroidne opne.

Dijagnostika: Dijagnoza se može prepostaviti temeljem kliničke slike sa žestokim početkom, a dokazuje se patoanatomskim nalazom te fluorescencijom protutijela u vodenoj otopini obriska dušnika. Virus se može inokulirati u krioalantosnu ovojnici dva tjedna starih pilečih zametaka, pa ovojnica zadeblja i pojave se bijeli plakovi (Kralj i sur., 1996., Carter i Saunders, 2007.).

Razlikovna dijagnoza uključuje nju-kastelsku bolest, zarazni bronhitis, boginje peradi, influencu peradi, zarazni bronhitis, zaraznu prehladu (coryza) peradi. Uzorci se za pretrage uzimaju iz tkiva pluća i dušnika.

Liječenje: Liječenje se ne poduzima i oboljele kokoši se neškodljivo uklanjuju sukladno zakonskim odrednicama.

Sprječavanje: Cijepljenje je najprimjerije u uzgojnim jatima, a primjenjuje se posebice u enzootski ugroženim područjima. Modificirana cjepiva živih virusa primjenjuju se raspršivanjem aerosola ili u vodi za piće. Cijepljenje

treba obavljati u zatvorenim uzgojnim jatima bez doticaja među cijepljеним i necijepljеним skupinama. Cijepljnjem se pak ne može otkloniti reaktivacija latentnih zaraza, ali se postiže blaži oblik bolesti (Biđin, 2008., Gottstein, 2012.a).

Kokošji herpesvirus 2

Kokošji herpesvirus 2 (*Gallid herpesvirus 2; GaHV-2*) uzrokuje pogibeljnju Marekovu bolest živčanoga sustava uz limfoproliferaciju (*Morbus Marek; MD*). Pri tome se razlikuju tri serotipa virusa: atenuirani serotip 1, prirodno apatogeni serotip 2 i puranski serotip 3 (*Meleagrid herpesvirus*) kojeg nalazimo i u prepelica, a pri tome serotip 1 može biti i onkogen (Witter i Schat, 2003., MacLachlan i Dubovi, 2011.).

Pojavnost i prenošenje: Marekova je bolest rasprostranjena diljem svijeta, a najčešće zahvaća piliće od 8 do 20 tjedna života. Virus je vrlo otporan na dezinficijene jer pri razvoju u stanicama pernih folikula dobiva ovojnicu pa može i godinama opstati, napose u organskom detritusu i česticama prašine peradarnika. Virus se prenosi udisanjem onečišćene prašine, a umnožava se i potom ulazi u epitelne stanice pernih folikula. Znaci infekcije se javljaju već prvih dana života, a virus ostaje trajno u organizmu te kokoš ostaje doživotnim širiteljem infekcije (Mazija, 2012.).

Razvoj bolesti. Nakon prodora u dišni sustav virus dospijeva do B limfocita u Fabricijevoj bursi, prsnoj žlijezdi i slezeni, gdje ostaje latentno, dok se limfocitima širi po cijelom organizmu tijekom trajanja viremije. Time nastaje sekundarna citolitička infekcija pernih folikula iz kojih se virusi oslobađaju i raznose pernim otpadom. Zaraženi se pak limfociti preoblikuju i stvaraju lezije u organima (Witter i Schat, 2003.).

Klinička slika i patološke promjene: Inkubacija do prodora virusa u limfocite

traje 3 do 5 dana i potom uslijedi imunno-supresija, a pilići troše više krmne smjese, uz sporiji prirast hrane. Klinička slika ovisi o virulenciji sojeva virusa i mjestu ulaska virusa u organizam kokoši. Sukladno zahvaćenim živcima nastaju progresivne kljenuti živaca vrata, krila i nogu. Vidljiva je asimetrična kljenut s jednom nogom naprijed, a drugom zabačenom unatrag. Kljenut lutajućega živca (*n. vagus*) očituje se visećom voljkom. Ukoliko su zahvaćene oči, razvija se infiltracija limfocitima (limfomatoza) pa šarenica postaje sivkasta, a rubovi zjenice su nazubljeni (sivo oko), a može uslijediti i sljepilo. Uz poremećaj ravnoteže izražene su klonulost i smanjena nesivost. U cijepljениh se jatima lakih hibrida kokoši može pojavitizarazna kljenut koja traje do sedam dana, a katkad se bolest očituje samo ataksijom i klonulošću, a životinja ubrzo ugine (Witter i Schat, 2003.).

Patoanatomski su vidljiva izrazita zadebljanja perifernih i autonomnih živaca, koji postaju žučkasti i staklasti. Izražena su i zadebljanja pernatih folikula, a u srcu, plućima, jetri, bubrezima, jajnicima, mišiću i koži obično se multiplo razvijaju mali mekani sivkasti limfomi. Pri tome je znakovita pleomorfna heterogenost limfoidnih stanica u tumorskim tkivima. Fabricijeva burza je redovito atrofična i iznimno je tumorski promijenjena. Elektronskim mikroskopom uočljiva je infiltracija mononuklearnih stanica, a u epitelnim stanicama su vidljive virusne uklopine (Tišljari i Artuković, 2002., Carter i Saunders, 2007.).

Dijagnostika: Dijagnoza se temelji na epizootiološkim podatcima, kliničkoj slici i patološkim nalazima. Dijagnoza se potvrđuje izdvajanjem virusa iz zahvaćenih tkiva i dokazivanjem virusnog genoma PCR postupkom. Protutijela GaHV-2 mogu se dokazati imuno-fluorescentnim i ELISA testom, a virus se može inokulirati u kulturu embrionalnih stanic pilećeg zametka ili guščjih fibroblasta.

Razlikovna dijagnoza uključuje ponajprije limfoidnu leukozu te retikuloendoteliozu, ptičji encefalomijelitis i tumorske bolesti, njukastelsku bolest, hipovitaminozu E, alimentarnu perozu i virusni artritis (Kralj i sur., 1996., Bidin, 2008.).

Uzorci za pretrage uzimaju se iz živaca, zahvaćenih organa i kože.

Liječenje: Liječenja nema, ali u primjerenoj životnim uvjetima (dostupnost hrane i vode) postoji mogućnost prirodnog preboljenja.

Sprječavanje: Zaraza se uspješno sprječava cijepljenjem jednodnevnih pilića, a zatim piliće treba do 14 dana držati u čistoj okolini, dok se potpuno ne razvije imunost. Pri tome se danas rabi cjepivo za puranski serotip herpesvirusa (zbog onkogenog serotipa 1), a primjenjuje se supkutano i intramuskulorno. Vrlo učinkovito je i cijepljenje kliničkih zametaka (*in ovo*) osamnaestoga dana inkubacije, a pobol se cijepljenjem smanjuje na 2% (Bidin, 2008., Mazija, 2012.).

Pačiji herpesvirus

Pačiji herpesvirus 1 (*Anatide herpesvirus 1; AnHP-1*) prouzroči virusni enteritis pataka - pačju kugu (*Enteritis infectiosus anatidis*) od kojega mogu oboliti i guske, labudovi te druge ptice vodarice.

Pojavnost i prenošenje: Zaraza je rasprostranjena diljem svijeta, a virusi se izlučuju izmetom i glavni je prijenosnik voda pa se zaraza prenosi izravno i posredno putem usne sluznice, nosa ili ozljeda kože te kloake prigodom parenja, ali i jajnom ljuskom, a iznimno je prenose hematofagni člankonošci. Virus je imunosupresivan i ptice godinama ostaju nositelji zaraze, a divlje vrste pataka i gusaka glavni su izvor bolesti (Sandhu i Shawky, 2003.).

Klinička slika i patološke promjene: Inkubacija traje 3 do 7 dana. Bolest se očituje naglom i izrazitom klonulošću, odbijanjem hrane i žđenjem, poremećajem koordinacije uz malakslost glave i

krila pa kadšto i drhtanjem glave, vrata i tijela. Obično se pojave suzenje i nosni iscijedak te fotofobija. Vjede su poluzavorene i slijepljene, a perje je neuredno i oko kloake onečišćeno izmetom. Učestalo je vodenasti proljev s primjesama krvi, a ptice su dehidrirane i mršave uz smanjenu nesivost. U pačića dobi do tri tjedna klinička slika je blaža uz plavičast kljun, dehidraciju i mršavljenje te krvarenje iz kloake. Smrtnost u odraslih ptica seže do 90 pa i 100%, a u pačića je niža (Sandhu i Shawky, 2003.).

Patohistološki su vidljiva znakovita oštećenja krvnih žila s krvarenjima u sluznici želuca i crijeva uz nastanak ulceračija te žarišne nekroze u jetri. U sluznici usne šupljine, jednjaku i kloaki moguća su makularna krvarenja koja prelaze u žučkasto bijele krustozne plakove što se katkad spajaju u difteroidne opne, a u srcu plućima, gušteraci i bubrežima često nastaju petehijalna krvarenja. U limfoidnim organima (timus i Fabricijeva bursa) postoje degenerativne promjene. Pod elektronskim mikroskopom uočljive su virusne uklopine (Gottstein, 2012.b).

Dijagnostika: Dijagnoza se postavlja temeljem epizootioloških podataka (velika smrtnost) i kliničke slike, a potvrđuje se patoanatomskim nalazom. Serološka dijagnostika se ne koristi za akutnu pojavu bolesti, a za brzu dijagnozu se na smrznutim rezovima uzoraka rabi test fluorescentnih protutijela. Virus se može razviti inokulacijom uzoraka u korio-alantoininsnu ovojnicu pačijih zametaka koji ugibaju nakon četiri dana te u jednodnevnih pačića. Virusni DNK se može dokazati PCR postupkom (Bidin, 2008., Carter i Saunders, 2013.).

Razlikovna dijagnoza uključuje hepatitis pataka, influence ptica, koleru peradi, boginje peradi, zaraze pasterelom antipestifer, kokcidioze i mikrotoksikoze.

Uzorci za pretrage uzimaju se iz jetrenih i mezenterijskih limfoidnih čvorova te svih zahvaćenih organa.

Liječenje: Bolest se ne liječi.

Sprječavanje: U peradi starije od dva tjedna uspješno se primjenjuju cjepiva sa živim ili umrtnjanim virusima. Zaraženu perad treba strogo izdvojiti i neškodljivo ukloniti, a sve površine koje su bile u izravnom ili neizravnom doticaju s inficiranom peradi valja temeljito dezinficirati. Nužno je sprječavati doticaj jata s divljim pticama vodaricama (Biđin, 2008., Gottstein, 2012.b).

Sažetak

Velika porodica herpesvirusa rasprostranjena je diljem svijeta te uvelike ugrožava zdravlje ljudi, domaćih životinja pa i svih kralježnjaka, ali i drugih vrsta. Osim opsežnog pobola nastaju i znatni gospodarski gubitci pa je suzbijanje herpesvirusa danas u središtu pozornosti veterinarske medicine. Stoga su autori uznastojali načiniti sažet, ali iscrpan prikaz najznačajnijih herpesviroza u naših domaćih životinja. U drugom dijelu prikaza obuhvaćene su herpesviroze u svinja (SuHV-1, SuHV-2), pasa (CHV-1), mačaka (FHV-1) i peradi (GaHV-1, GaHV-2, AnHV-1). Pri tome su redovito obuhvaćene pojavnost i širenje zaraze, klinička slika i patološke promjene, dijagnostika te mogućnosti liječenja i sprječavanja zaraze.

Ključne riječi: herpesvirusi, epizootiologija, dijagnostika, prevencija

Literatura

1. BIĐIN, Z. (2008): Bolesti peradi. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
2. BUONAVOGLIA, C. and V. MARTTELA (2007): Canine respiratory viruses. Vet. Res. 38, 355-373.
3. CARMICHAEL, L. (2004): Neonatal viral infections of pups: Canine herpesvirus and minute virus of canines (*Canine parvovirus-1*). In: L. Carmichael, ed. Recent advances in canine infection diseases. Ithaca: IVIS. (www.ivis.org.)
4. CARTER, G. R., P. J. WISE and E. F. FLORES (2006): Herpesviridae. In: Carter, G. R., D. J. Wise, E. F. Flores, eds.: A conciser review of veterinary virology. Ithaca: IVIS. (www.ivis.org) Retrieved 6-8-2006.
5. CARTER, J. and V. SAUNDERS (2007): Virology: Principles and applications. Chichester: J. H. Wiley.
6. FENNER, F. J., E. P. J. GIBBS, F. A. MUPDHY, R. ROTH, M. J. STUDERT and D. O. WHITE (1993): Veterinary Virology, 2nd ed. London: Academic Press.
7. GASKELL, R., S. DAWSON, A. RADFORD and E. THARRY (2007): Feline herpesvirus. Vet. Res. 38, 337-354.
8. GOTTSSTEIN, Ž. (2012a): Zarazni laringotraheitis. U: V. Herak Perković, Ž. Grabarević i J. Kos, ur.: Veterinarski priručnik. 6. Izd. Zagreb: Medicinska naklada (1640-1642).
9. GOTTSSTEIN, Ž. (2012b): Viroze ptica vodarica. U: V. Herak Perković, Ž. Grabarević i J. Kos, ur.: Veterinarski priručnik, 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada. (2673-2674).
10. HABRUN, B. (2012): Rinitis s uklopinama svinja. U: V. Herak Perković, Ž. Grabarević i J. Kos, ur.: Veterinarski priručnik, 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada. (2643-2644).
11. HERCEG, M., H. MAZIJA, M. KRALJ i I. HAUBRICH (1971): Istraživanja zaraznog laringotraheitisa u peradi. I. Prilog epizootiologiji zaraze uz prvu izolaciju virusa u Jugoslaviji. Vet. arhiv 41, 107-117.
12. JOHNSON, L. R., J. E. FOLEY, H. E. De COCK, H. E. CLARKE and D. J. MAGGS (2005): Assessment of infections organisms associated with chronic rhinosinusitis in cats. J. Am. Vet. Med. Ass. 227, 579-585.
13. JORDAN, F. T. V. (1996.): Infectious laryngotracheitis. In: Poultry diseases. 4. edition (Jordan, F. T. W. and M. Pattison, eds.). London: Saunders, (173-177).
14. KARRIKER, L. A. (2012): Viral disease. In: L. A., KARRIKER, R. ALEJANDRO, K. J. SCHWARTZ, G. W. STEVENSON, Disease of swine, 10th ed. Chichester: J. Wiley. (426-458).
15. KEROS, T., D. BRNIĆ, J. PRPIĆ, D. DEŽĐEK, L. JEMERŠIĆ, B. ROIĆ and T. BEDEKOVIĆ (2014): Characterisation of pseudorabies virus in domestic pigs and wild boar in Croatia. Acta Vet. Hung. 62, 512-519.
16. KEROS, T., L. JEMERŠIĆ, J. PRPIĆ, D. BRNIĆ and D. DEŽĐEK (2015): Pseudorabies in hunting dogs in Croatia with phylogenetic analysis of detected strains. Vet. Rec. Case Repp. Case Reports 2015;3:e000181.doi:10.1136/vetreccr-2015-000181.
17. KRALJ, M., Z. BIĐIN, V. ŠERMAN i M. HERCEG (1996): Zarazni laringotraheitis. U: Veterinarski priručnik. 5. (Srebočan, V. i H. Gomerčić, ur.). Zagreb: Medicinska naklada, (587-588).
18. LOJKIĆ, M., S. TERZIĆ, L. JEMERŠIĆ, B. ROIĆ i T. KEROS (2005): Bolest Aujeszkyg -Trajna opasnost u svinjogradstvu. Praxis vet. 53, 5-11.
19. LOJKIĆ, M. (2012): Aujeszkyjeva bolest. U: V. Herak Perković, Ž. Grabarević i J. Kos, ur.: Veterinarski priručnik. 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada. (2485-2487).
20. MACLACHLAN, N. J. and E. J. DUBOVI (2011): *Herpesvirales*. In: Fenner's veterinary virology. 4th ed. Elsevier, Academic Press, (179-193).
21. MAGGS, D. J. and M. E. CLARKE (2005): Relative sensitivity of polymerase chain reaction assays used for detection of feline herpesvirus type/DNA in clinical samples and commercial vaccines. Am. J. Vet. Res. 66, 1550-1555.

22. MAZIJA, H. (2012): Marekova bolest. U: V. Herak Perković, Ž. Grabarević i J. Kos, ur.: Veterinarski priručnik, 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada. (2681-2685).
23. MERCK (2013): Feline respiratory disease complex. In: The Merck Veterinary Manual. (www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/53100.htm).
24. METTENLEITER, T. C. (2008): Pseudorabies virus. In: MAHY, B. W. J and M. Van REGENMORTEL (eds.), Encyclopedia of virology, vol. 5. 3rd ed., Oxford: Elsevier (341-351).
25. ROIĆ, B., L. JEMERŠIĆ, S. TERZIĆ, T. KEROS, J. BALATINEC and T. FLURIJANČIĆ (2012): Prevalence of antibodies to selected viral pathogens in wild boars (*Sus scrofa*) In Croatia in 2005-2006 and 2009-2010. J. Wildl. Dis. 48, 131-137.
26. ROIĆ, B., L. JEMERŠIĆ, Z. KROVINA, S. TERZIĆ, A. JUNGIĆ, T. KEROS, J. PRPIĆ and D. BRNIĆ (2013): Nacionalni program nadziranja bolesti Aujeszkoga u domaćih svinja u RH tijekom 2011. godine. Vet. stn. 44, 19-26.
27. SAMI, L., K. URŠU, J. MCKILLEN, S. KECSKEMETT, S. BELAK and J. KISS (2007): Simultaneous detection of three porcine viruses by multiple PCR. Acta Vet. Hung. 55, 267-276.
28. SANDHU, T. S. and S. A. SHAWKY (2003): Duck virus enteritis (*Duck plague*). In: Diseases of Poultry. 11th ed. (Saif, Y. M., H. J. Barnes, J. R. Glisson, A. M. Fadly, L. R. McDougald and D. E. Swayne, eds.) Iowa: Blackwell.
29. ŠTRITOF, Z. (2012a): Herpesvirusne infekcije pasa. U: V. Herak Perković, Ž. Grabarević i J. Kos, ur.: Veterinarski priručnik, 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada. (2676-2678).
30. ŠTRITOF, Z. (2012b): Respiratorne infekcije mačaka. U: V. Herak Perković, Ž. Grabarević i J. Kos, ur.: Veterinarski priručnik, 6. izd. Zagreb: Medicinska naklada. (2693-2694).
31. TIŠLJAR, M. i B. ARTUKOVIĆ (2002): Marekova bolest. U: Veterinarska onkologija (Grabarević, Ž., ur.). Zagreb: DSK-Falco, (416-418).
32. WITTER, R. L. and K. A. SCHAT (2003): Marek's disease. U: Diseases of Poultry. 11th ed. (SAIF, Y. M., H. J. BARNES, J. R. GLISSON, A. M. FADLY, L. R. McDougald i D. E. SWAYNE). Iowa: Blackwell, (407-465).
33. ŽUPANIĆIĆ, Ž., B. JUKIĆ, M. LOJKIĆ, Ž. ČAČ, L. JEMERŠIĆ i V. STAREŠINA (2002): Prevalence of antibodies to classical swine fever, Aujesky's disease porcine reproductive and respiratory syndrome, and bovine viral diarrhoea viruses in wild boars in Croatia. J. Vet. Med. Series B 49, 253-256.

The Most Important Herpesvirus Infections in Domestic Animals in Croatia (Part II.)

Tomislav KEROS, DVM, PhD, Senior Research Associate, Lorena JEMERŠIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Assistant Professor, Tomislav BEDEKOVIĆ, DVM, PhD, Research Associate, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia

Herpesviruses, comprising more than 130 species, are among the most common causes of viral infections in humans and animals. Their importance in global animal health control is imperative, since some herpesvirus species cause great economic losses in animal production worldwide. This review describes the main characteristics and taxonomy of herpesviruses and their most important strains, following the description

of herpesviruses in swine (SuHV-1, SuHV-2), dogs (CHV-1), cats (FMV-1) and poultry (GaHV-1, GaHV-2, AnHV-1). The epidemiological aspects of herpesviral diseases, clinical and postmortem signs of disease, diagnosis and possibility of treatment and control measures are addressed.

Key words: *Herpesviruses, Epizootiology, Diagnosis, Prevention*

Paraneoplastični sindrom u pasa – 1. dio

Sonja Kozma, Martina Crnogaj* i Nada Kučer



Uvod

Prije više od 100 godina, prepoznato je da određene vrste neoplazija prouzroče različite simptome koji se nisu mogli pripisati izravnoj invaziji ili kompresiji tumora. Pojam „paraneoplastični sindrom“ (engl. *Paraneoplastic syndrom*), prvi puta je uveo Labeled 1940. godine (Pelosof i Gerber, 2010.).

Paraneoplastični sindromi su promjene tjelesne strukture ili funkcije koje se pojavljuju na mjestima udaljenim od samog tumora. One su raznolika skupina kliničkih aberacija koje su povezane s neizravnim djelovanjem tumora. Neovisni su o veličini i lokalizaciji tumora, njihovim metastazama i fiziološkoj aktivnosti tkiva iz kojega su nastali. U mnogim situacijama, mogu predstavljati najraniju manifestaciju okultnog tumora (Morrison, 2002.).

Nekada se mogu pojaviti tjednima i mjesecima prije nego što se klinički dijagnosticira maligna bolest (Bergman, 2013.). Prepoznavanje određenog paraneoplastičnog sindroma je važno, jer primjećeni poremećaj može biti prvi znak određene vrste tumora te se na taj način može olakšati rano utvrđivanje dijagnoze i postavljanje terapije, a pomaže i u praćenju odgovora organizma na primijenjenu terapiju, a to nam omogućava procjenu rekurentnosti ili progresije maligne bolesti. Utvrđivanje paraneoplastičnog sin-

droma može promijeniti klinički pristup u dijagnostici i liječenju. Paraneoplastični sindromi često prouzroče znatan morbiditet, koji je prisutniji od morbiditeta prouzročenog direktnim rastom i invazijom primarnog tumora (Morrison, 2002.).

Uzrok paraneoplastičnog sindroma je tumorska proizvodnja i otpuštanje hormona (podrijetlom iz endokrinih tumora) ili drugih peptida (iz needokrinih tumora) u cirkulaciju. Među njima su biološki aktivne tvari kao što su hormoni, čimbenici rasta i citokini. Ove male molekule prouzroče učinke na udaljenim mjestima ili imunološko unakrižno djelovanje između normalnog i tumorskog tkiva (Bergman, 2013.). Mnogi onkolozi, primjenjuju pojам „paraneoplastični sindrom“ samo u onim slučajevima kada se tvar otpuštena iz tumora, „normalno“ ne proizvodi u stanicama iz kojih je tumor nastao (Henry, 2010.).

Najznačajniji i najučestaliji paraneoplastični sindromi u pasa su: anemija, hipoglikemija, hiperkalcemija i tumorska kaheksija (Morrison, 2002.).

Incidencija pojave paraneoplastičnog sindroma u životinja oboljelih od malignih bolesti nije poznata. U humanoj medicini se smatra da 75% onkoloških bolesnika pati od paraneoplastičnog sindroma u nekoj fazi bolesti (Morrison, 2002.).

Sonja KOZMA, dr. med. vet., Hrvatska; dr. sc. Martina CRNOGAJ*, dr. med. vet., viša asistentica (dopisni autor, e-mail: martina.crnogaj@vrf.hr), dr. sc. Nada KUČER, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

Pregled paraneoplastičnih sindroma

Hematološki paraneoplastični sindromi Anemija

Tabela 1. Hematološki paraneoplastični sindromi s pridruženim tumorima i učestalošću kod pasa (prema Chun, 2010.).

Hematološki poremećaji	Vrste tumora	Učestalost
Anemija	Limfosarkom, hemangiosarkom, multipli mijelom	Visoka
Policitemija	Tumor bubrega, limfom, nazalni tumor, tumor jetara	Niska
Neutrofilna leukocitoza	Tumor bubrega, hemangiosarkom	Niska
Trombocitopenija, koagulopatije, DIK*	Limfom, mastocitom, hemangiosarkom, tireoidni tumor, tumor mlječne žlijezde, nazalni tumori i drugi	Visoka
Hiperglobulinemija	Limfosarkom, multipli mijelom	Srednja

*DIK (diseminirana intravaskularna koagulacija)

Anemija predstavlja gubitak, odnosno smanjenu količinu eritrocita i/ili hemoglobina. Tri su osnovna uzroka anemije, a to su: prekomjeran gubitak krvi, hemoliza, odnosno prekomjerno uništanje eritrocita te nedovoljna proizvodnja eritrocita (eritropoeza). Anemija se kao paraneoplastični sindrom često javlja u pasa. Prema istraživanju koje je proveo Henry (2010.) 32% pasa s limfomom u vrijeme dijagnoze imalo je hematokrit manji od 35%. Stupanj anemije može varirati od blage do izuzetno teške. Postoji nekoliko tipova anemija povezanih s tumorima (Tabela 2).

Klinički znaci anemije su slabost, letargija, inapetencija i anoreksija. Kliničkim pregledom se: uočavaju blijede sluznice i tahikardija. Potrebno je svrstati anemiju (prema morfologiji eritrocita) u regenerativnu ili neregenerativnu te ustvrditi je li prisutna hemoliza (Chun, 2010.).

Liječenje anemije mora biti usmjereni na specifičan uzrok anemije. Transfuzija se daje kao potporna terapija kako bi se pacijente stabiliziralo dok čekaju tera-

pijsko liječenje, operaciju ili neki drugi oblik protutumorske terapije. Primjena eritropoetina nije indicirana, budući da terapija koja je usmjerena na primarni tumor obično rezultira suzbijanjem anemije (Chun, 2010.).

Hemolitička anemija

Nastaje kada destrukcija eritrocita nadjača njihovu produkciju, a može biti nasljedna ili stecena. Prema mjestu destrukcije eritrocita dijelimo je na intravaskularnu i ekstravaskularnu. Ekstravaskularna hemoliza odvija se u stanicama monocitno-makrofagnog sustava slezene, koštane srži, jetara i limfnih čvorova te rezultira pojačanom sintezom nekonjugiranog bilirubina u krvnoj plazmi te konjugiranog bilirubina u jetrima i nastanka bilirubinemije i bilirubinurije. Intravaskularnu hemolizu odlikuje obilno otpuštanje hemoglobina u plazmu što prouzroči hemoglobinemiju, a poslijedno tome i hemoglobinuriju. Oštećenja organa i tkiva bez obzira na uzrok hemolize, nastaju zbog hipoksije te toksičnog djelovanja bilirubina i hemoglobina, prije svega na tubularni epitel bubrega (Valli, 2007.).

Od stecenih anemija u pasa se najčešće javlja (60%-75% slučajeva) **imunosna hemolitička anemija (IMHA)**. IMHA se može javiti kao primarna bolest ili kao

Tabela 2. Paraneoplastični uzroci anemije

1. Imunosno posredovana hemolitička anemija
2. Anemija prouzročena kroničnim bolestima
3. Anemija zbog krvarenja
4. Anemija zbog kronične kemoterapije
5. Mijeloftiza
6. Aplazija eritrocita

sekundarna reakcija na novotvorine, infekcije, lijekove i cjepiva (Fry i McGavin, 2012.). Tijelo ne prepoznaje vlastite eritrocite, stvara protutijela pa ih makrofagi uništavaju. Protutijela na membranama tumorskih stanica unakrsno reagiraju s eritrocitima. Najčešće je povezana s tumormima hematopoetskog i limfopoetskog tkaiva, npr. limfom i multipli mijelom (Henry, 2010.).

Klinički znaci kod imunosne hemolitičke anemije su: letargija, slabost, tahikardija, bljedilo sluznica, ikterus, hepatosplenomegalija, hemoglobinurija i anoreksija (Chun, 2010.). Dijagnostički pokazatelji su pozitivan Coombsov test i test aglutinacije, sferocitoza i regenerativna anemija (osim u slučajevima kada je imunološko oštećenje na razini koštane srži - neregenerativna anemija). U krvnom serumu prisutno je povećanje bilirubina (nekonjugiranog). Liječenje se provodi korištenjem imunosupresivnih lijekova: prednizon ili prednizolon u kombinaciji s azatioprinom, ciklofosfamidom ili ciklosporinom (Finora, 2003.).

Anemija prouzročena kroničnim bolestima

Anemija koja se javlja prouzročena kroničnim bolestima rijetko uzrokuje znatnu smrtnost. Može biti blaga do umjerena, regenerativna, normokromna i normocitna. Posredovana je citokinima koje proizvode upalne stanice. Kako primarna bolest napreduje dolazi do smanjenog metabolizma i skladištenja željeza. Ukoliko se tome pridoda smanjeni životni vijek eritrocita kao i smanjena

regenerativna sposobnost koštane srži, odnosno smanjeni potencijalni odgovor koštane srži, sve to, doprinijet će razvoju anemije. Liječenje se svodi na liječenje primarne bolesti (Finora, 2003.).

Anemija zbog krvarenja

Krvarenje koje se dovodi u vezu s paraneoplastičnim sindromom, mora biti udaljeno od primarnog tumora. Izvor gubitka krvi može biti poznat kao što je npr. hemangiosarkom kod krvarenja u prsnog i trbušnog šupljini. Gubitak krvi može biti manje očit, kao što su gubitak krvi u mokraćnom ili gastrointestinalnom traktu (Morris, 2008.). Anemija zbog krvarenja je najčešće hipokromna i mikroцитna, na početku bolesti regenerativna ili kasnije, neregenerativna. Liječenje se svodi na liječenje primarne bolesti (Finora, 2003.).

Ostali manje uobičajeni uzroci anemije u pasa su neregenerativne **anemije povezane s kroničnom kemoterapijom**. Ovakva anemija je blaga i supklinička, a potrebno je nekoliko mjeseci da bi se razvila. Serijska pretraga kompletne krvne slike prije svakog davanja kemoterapije kliničaru će omogućiti da uoči eventualni postupni pad koncentracije eritrocita (Gould, 2003.).

Drugi, manje česti uzroci anemije su **mijeloftiza i aplazija eritrocita** (Finora, 2003.). Mijeloftiza nastaje zbog infiltracije koštane srži koja dovodi do smanjene proizvodnje eritrocita te posljedično tome do anemije. Mijeloftiza udružena s limfomom i različitim leukemijama može biti glavni uzrok morbiditeta i

mortaliteta u pacijenata. Multipli mijelom i maligna histiocitoza isto tako mogu dovesti do anemije putem infiltracije koštane srži. Terapija ovakvih pasa mora biti usmjerena na očuvanje preostalih nezrelih oblika eritrocita. Kemoterapeutik koji se koristi za liječenje limfoma i limfocitne leukemije je L-asparaginaza koja ne dovodi do negativnih utjecaja na normalne prekursore unutar koštane srži (Henry, 2010.). Budući da eritrociti cirkuliraju dulje od ostalih krvnih stanica, životinje s mijeloftizičnom anemijom uglavnom imaju i po život opasne druge citopenije. Dugoročne prognoze za životinje s mijeloftizom su nepovoljne, a nju je teško suzbiti (Chun, 2010.). Do aplazijske eritrocita dolazi zbog njihove smanjene proizvodnje u koštanoj srži. Hipoplazija koštane srži rijetko nastaje, a jedan od uzroka je hiperestrogenizam. Tumori Sertolijevih stanica u muškog i tumori granuloza stanica u ženske jedinke psa povezani su s hiperestrogenizmom, a anemija je često značajan simptom. Terapija izbora je kirurško otklanjanje tumora. Psima sa suprimiranom koštanom srži daju se antibiotici širokog spektra i transfuzija pune krvi. Prognoza za oporavak koštane srži je najčešće loša. Ukoliko se pacijent i oporavi, mogu proći tjedni/mjeseci dok se krvna slika ne normalizira (Chun, 2010.).

Policitemija

Policitemija (eritrocitoza) je stanje koje karakterizira povećani udio eritrocita u volumenu krvi, što se mjeri kao povećanje razine hematokrita. Do povećana udjela može doći zbog povećanog stvarajnog eritrocita ("apsolutna policitemija") ili kao posljedica smanjenja volumena krvne plazme ("relativna policitemija"). Relativna policitemija može nastati zbog hemokoncentracije uslijed dehidracije, kontrakcije slezene i hipovolemijske. Obilježava je povećana vrijednost hematokrita dok se apsolutna masa eritrocita ne pove-

ćava (Chun, 2010.). Apsolutnu policitemiju karakterizira povećana masa eritrocita kao rezultat hipoksije tkiva, povećane proizvodnje eritropoetina ili mijeloproliferativnog poremećaja (Morris, 2008.).

Policitemija je rijedak paraneoplastični sindrom. U pasa je najčešće zabilježena kod tumora bubrega, a može se javiti i kod limfoma, tumora jetara, schwannoma, nazalnog fibrosarkoma i transmisivnog veneričnog tumora. Kod sekundarne paraneoplastične policitemije povećana je proizvodnja eritrocita kao odgovor na povećanu razinu eritropoetina (Henry, 2010.).

Hormon eritropoetin je glavni humoralni regulator eritropoeze. On se veže na specifične receptore stanica i stimulira proliferaciju i diferencijaciju eritroidnih prekusorskih stanica. Isto se tako može vezati i na nehematopoetska tkiva i tako izražavati svoj učinak. Proizvodi se prije svega u bubrežima, a u manjoj količini i u jetrima i mozgu. Njegova je koncentracija u plazmi u obrnutom srazmjeru s koncentracijom kisika u plazmi. Eritropoetin može biti proizveden od ektočičnog tkiva tumora ili se može proizvesti u suvišku od strane bubrega uslijed njegove hipoksije (Henry, 2010.). Patogeneza apsolutne policitemije inducirane prekomjernom proizvodnjom eritropoetina od strane tumorskog tkiva nije u potpunosti razjašnjena. Postoje dvije teorije o njenom nastanku. Prva je da tumorsko tkivo bubrega samostalno proizvodi i izlučuje eritropoetin. Druga, alternativna, je da tumor izaziva hipoksiju tkiva putem kompresije normalnog bubrežnog parenhima, oštećenjem bubrežnog protoka krvi ili oboje, do te mjere da normalne stanice povećavaju proizvodnju eritropoetina (Bennet, 2004.).

Klinički nalaz policitemije očituje se eritemom sluznice, polidipsijom i neurološkim znacima poput dezorientiranosti, ataksije i konvulzije uslijed hipervolemije i hiperviskoznosti (Henry, 2010.).

Policitemija se lako uočava u krvnoj slici, ali je svakako potrebno otkriti uzrok, jer se terapija ovisno o njemu razlikuje.

Dijagnostička procjena treba uključivati kompletну krvnu sliku i biokemijski profil kako bi se razlikovalaapsolutna od relativne policitemije, zatim, pretragu plinova iz arterijske krvi, rentgen prsne šupljine i ultrazvuk trbušne šupljine. Potrebno je odrediti razinu eritropoetina, a biopsijom koštane srži se ne može razlikovati primarna od sekundarne policitemije (Couto, 2003.).

Relativna policitemija iziskuje rehidraciju. Kod absolutne policitemije s hematokritom višim od 65% indicirana je terapijska flebotomija i povećanje volumena krvi izotoničnom otopinom. Ukoliko je potrebno ovaj postupak se može ponavljati svaka 2-4 tjedna. U slučaju absolutne policitemije, terapija s hidroksiureom u terapijskim dozama može održati masu eritrocita oko normale (Chun, 2010.).

Neutrofilna leukocitoza

Paraneoplastičnu neutrofilnu leukocitozu karakterizira povećan broj zrelih neutrofila u odsutnosti infekcije ili leukeemije. Zabilježena je kod pasa s karcinomom bubrega, limfomom, hemangiosarkomom, metastatskim fibrosarkomom, adenokarcinomom pluća i rektalnim adenomatoznim polipima (Gould, 2003.). Etiologija je povezana s tumorskom proizvodnjom GM-CSF (engl. *Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor*) stimulirajućeg čimbenika granulocitno makrofagnih kolonija u pasa.

Paraneoplastična neutrofilna leukocitoza je obično slučajan nalaz i neovisna je o kliničkim znacima, a suzbija se uspješnim liječenjem osnovnog tumora (Henry, 2010.).

Eozinofilija

Paraneoplastična eozinofilija je rijetka manifestacija tumora koja se javlja u

pasa s leiomiosarkomom perikarda, crijevnim limfomom, rektalnim polipima i tumorom mlijecne žljezde. Eozinofilija je asimptomatska te manifestacija tumora predstavlja slučajan nalaz (Henry, 2010.).

Trombocitopenija

Trombocitopenija se javlja kao paraneoplastični sindrom u pasa koji boluju od brojnih tumora poput: limfoma, melanoma, hemangiosarkoma, osteosarkoma, mastocitoma (Slika 1). Jedno istraživanje je pokazalo da od 2000 pasa s tumorom, njih 10% je imalo trombocitopeniju koja se u većini slučajeva, nije mogla pripisati sekundarnim čimbenicima kao što su: upale, infekcije, diseminirana intravaskularna koagulacija (DIK) i liječenje (Henry, 2010.).

Mehanizmi koji dovode do trombocitopenije su povećana potrošnja trombocita, njihovo uništenje i smanjena proizvodnja. Do povećane potrošnje trombocita dolazi kod tumora koji izazivaju krvarenje kao što je hemangiosarkom ili kod koagulopatija kao što DIK koja se javlja kod metastatskog hemangiosarkoma. Kao i kod anemije, imunološki posredovano uništavanje trombocita može se vidjeti kod limfoma ili multiplog mijeloma. Smanjena proizvodnja trombocita može biti posljedica mijeloftize zbog maligne infiltracije koštane srži (Argyle i Renwick, 2009.).



Slika 1. Mastocitom u psa.

Klinički znaci obično nisu vidljivi dok vrijednost trombocita ne padne ispod 30 000/ μL . Kada se to dogodi ili ako je trombocitopenija popraćena diseminiranom intravaskularnom koagulacijom, klinički nalaz može uključivati petehije i krvarenje (Henry, 2010.).

Liječenje ovisi o težini i uzroku trombocitopenije. Prije operativnog zahvata odstranjivanja tumora indicirano je dati svježu punu krv. Imunološki posredovana trombocitopenija (engl. *immune-mediated thrombocytopenia - ITP*) zahtijeva primjenu imunosupresivnih doza kortikosteroida uz kemoterapiju (Henry, 2010.).

Trombocitoza

Broj trombocita iznad 500 000/ μL može biti slučajan nalaz te je rijetko od kliničke važnosti. Trombocitoza je opisana u pasa s osteosarkomom, kroničnom mijeloidnom leukemijom kao i u životinja koje primaju terapiju. Iako trombocitoza načelno dovodi do opasanosti od nastanka tromba i hemoragičnih epizoda, postoji samo jedno izvješće koje to potvrđuje, i to kod mačaka s bronhoalveolarnim tumorom. Etiologija paraneoplastične trombocitoze u malih životinja je nepoznata. Pretpostavlja se da povišene razine IL-6, GMCSF, G-CSF-a imaju ulogu u njenom nastanku s obzirom na njihov dokazan utjecaj u ljudskoj paraneoplastičnoj trombocitozi. U dijagnostiranju paraneoplastične trombocitoze potrebno je isključiti druge bolesti koje dovode do trombocitoze kao što su: nedostatak željeza i mijeloproliferativni poremećaji. Liječenje je usmjereno na primarnu bolest (Henry, 2010.).

Trombocitna hiperagregabilnost i hiperkoagulabilnost

Promjene u funkciji trombocita zabilježene su u pasa s različitim tumorima. Mehanizam nastanka trombocitne hi-

peragregabilnosti uključuje: povećanje faktora koji dovode do serumske aglutinacije trombocita, promjene u membranskom sastavu lipida te povećanje broja novonastalih trombocita koji imaju veću aktivnost. U nedavnoj studiji koja je obuhvatila 36 pasa s različitim malignitetima, u 50% ih je utvrđena hiperkoagulabilnost na osnovu tkivnog faktora (engl. *Tissue factor- TF*), određenog TF – aktiviranom tromboelastografijom, dok je u 17% pasa utvrđena je hipokoagulabilnost (Henry, 2010.).

Kliničko značenje trombocitne hiperagregabilnosti i hiperkoagulabilnosti je u tome što može pogodovati razvoju tromboze i metastatskom širenju bolesti. Tromboembolija je uobičajena komplikacija kod ljudi oboljelih od malignih bolesti, dok se u malih životinja javlja znatno rjeđe (Argyle i Renwick, 2009.). Metastaziranje malignih bolesti je uzrok smrti mnogih životinja i ljudi. Svaki metastatski korak uključuje međudjelovanje tumorskih stanica i stanica domaćina. Trombociti mogu pomoći tumorskim stanicama u procesu širenja na nekoliko načina: mogu produžiti preživljavanje stanica koje oslobađaju kemijske glasnine kao što je trombocitni faktor rasta, a mogu onemogućiti imunološko razaranje tumora te ogradići tumorske stanice unutar kapilara (McNeil i sur., 1997.).

Mehanizam koji prouzroči trombocitnu hiperagregabilnost nije poznat. Postoji mnogo objašnjenja za ovakva opažanja. Jedna od mogućnosti je povećanje serumskih faktora koji induciraju agregaciju trombocita. Druga mogućnost je da nastaju promjene u lipidnom sastavu u staničnoj membrani, a dokazano je i da novonastali, mladi trombociti pokazuju povećanu aktivnost u usporedbi sa starijim trombocitima. Skraćeni trombocitni životni vijek je dokumentiran u pasa s različitim malignim bolestima. Nije jasno je li trombocitna hiperfunkcija rezultat tumorskih derivativnih produkata ili je nastala neizravno zbog sekundarnih promjena induciranih

neoplazmama (McNeil i sur., 1997.). Primjena antitrombocitnih lijekova u terapiji je dala različite rezultate (Henry, 2010.).

Diseminirana intravaskularna koagulacija

Diseminirana intravaskularna koagulacija je poremećaj zgrušavanja krvi koji nastaje zbog pretjeranog i abnormalnog stvaranja trombina i fibrina u krvotoku. Naziva se još potrošna koagulopatija ili sindrom defibrinacije. Diseminirana intravaskularna koagulacija razvija se kao posljedica generalizirane aktivacije koagulacijskog sustava s posljedičnim krvarenjima zbog potrošne koagulopatije (potrošna trombocita i čimbenika zgrušavanja), ali i opsežnim trombotičkim komplikacijama zbog intravaskularnog formiranja fibrina (Levi i Cate, 1999.).

Do razvoja DIK-a obično dolazi nakon dodira tkivnog faktora s krvlju. Sindrom je obilježen masivnom proizvodnjom trombina i plazmina, što prouzroči potrošnju trombocita, koagulacijskih čimbenika i inhibitora te sekundarno hiperfibrinolizu. Dakle, DIK pokazuje difuznu mikrotrombozu i tendenciju krvarenjima (Levi i Cate, 1999.).

DIK nije bolest, već sekundarni poremećaj, koji je često dijagnosticiran kod pasa s malignim tumorima, pankreatitom, sepsom, pri imunološki posredovanoj hemolitičkoj anemiji, hepatitisom, kao i kod toplinskog udara i trauma. Ipak, najčešći uzroci DIK-a u pasa su upravo, maligni tumori (Maruyama i sur., 2004.).

Istraživanje koje su proveli Maruyama i sur. (2004.) na 208 pasa s malignim tumorom pokazalo je učestalost DIK-a od 9,6%. Incidencija pojave DIK-a u pasa s hemangiosarkomom, karcinomom mlijecne žljezde i adenokarcinomom pluća bila je znatno viša nego u pasa s drugim malignim tumorima. Morris (2008.b) je u svom istraživanju naveo da čak 83% pasa s malignim tumorima ima razne poremećaje u koagulaciji krvi.

Zanimljivo je da je učestalost DIK-a u pasa s malignim bolestima veća nego kod ljudi. Jedan od mogućih razloga je da aktivnost nekih faktora koagulacije može biti znatno veća u pasa nego od onih u ljudi (Maruyama i sur., 2004.).

DIK može biti akutnog ili kroničnog oblika. Postoje tri faze: prva je faza razdoblje aktiviranja u kojem dobro djeluje sustav kompenzacije. Ovu fazu je teško dijagnosticirati, ali je u slučaju pravovremene terapije prognoza povoljna. Druga je faza kliničke manifestacije, dekompenzacije te se obično radi o akutnom obliku DIK-a. Treća je faza odgođene hiperfibrinolize u kojoj je prisutna hiperaktivacija kompenzacijskog sustava (Vlašin i sur., 2004.).

Dijagnoza DIK-a se postavlja kliničkim pregledom i laboratorijskim pretraga-mama. Laboratorijske pretrage krvi kod hemostatskih promjena pokazuju nizak broj trombocita, produljeno protrombinsko vrijeme (PV), produljeno aktivirano parcijalno protrombinsko vrijeme (APPV), nisku koncentraciju fibrinogena u plazmi, nisku aktivnost plazma anti-trombina III (AT III) kao i visoku koncentraciju razgradnih proizvoda fibrinogena (FDP) (Couto, 2009.). U hemogramu se preporuča tražiti znake hemolitičke anemije, hemoglobinemije (prouzročena intravaskularnom hemolizom), fragmentacije eritrocita ili shistocita, trombocitopenije, neutrofilije i rijetko neutropenije. Biokemijske pretrage serum-a mogu pokazati hiperbilirubinemiju, hiperfosfatemiju, povećanu razinu jetrenih enzima (zbog hipoksemije ili jetrenih mikroembolija), smanjenu ukupnu koncentraciju CO₂ (metabolička acidoza). Pretraga urina može pokazivati hemoglobinuriju, bilirubinuriju te povremeno proteinuriju i cilindruriju (Couto, 2009.).

U pasa s malignim bolestima najčešće se javlja kronični oblik DIK-a. Pri tome obično nema spontanog krvarenja, ali su svi testovi zgrušavanja krvi produljeni, a koncentracija fibrinogena i trombocita je smanjena.

Nakon uspostavljene dijagnoze potrebno je hitno pristupiti liječenju i proaktivno pokušati eliminirati početni uzrok. Intravaskularnu koagulaciju moguće je prekinuti davanjem heparina, aspirina, krvili krvnih produkata koji će pružiti izvor antitrombina (Couto, 2003.). Davanje heparina je terapijski dvojbeno, jer povećava rizik od krvarenja. Ukoliko je ipak potrebno primijeniti heparin onda su niskomolekularne frakcije možda prikladniji izbor, jer visoko molekularna frakcija standardnog heparina ima pro-agregatni učinak (Vlašin, 2004.). Potrebno je održavati perfuziju parenhimskih organa, pokretanjem agresivne tekućinske terapije, zatim, spriječiti sekundarne komplikacije održavanjem oksigenacije, vrjednovanjem acidobaznog statusa i njegovim ispravljanjem ukoliko je potrebno, ispravljanjem mogućih srčanih aritmija te davanjem antibiotika (Couto, 2009.).

Hiperglobulinemija

Hiperglobulinemija nastaje zbog pretjerane proizvodnje monoklonskih imunoglobulina od strane plazma stanica ili limfocita. Najčešće se javlja uz multipli mijelom, limfom, kroničnu limfocitnu leukemiju te kod mnogih drugih neoplazmi (Morris, 2008.b).

Većina životinja s multiplim mijelomima ima IgG ili IgA monoklonsku gammopatiju, a klinički se znaci odnose na djelovanje suviška globulina u cirkulaciji (Chun, 2010.). Klinički znaci su nespecifični. Organizam nema koristi od monoklonskih imunoglobulina, a proizvodnja normalnih imunoglobulina može biti smanjena što će dovesti do čestih infekcija. Može nastupiti hiperviskozni sindrom kao posljedica hiperproteinemije. Povećan perfuzijski tlak i hipervolemija povećavaju srčano opterećene i prouzroče kardiomegaliju. Klinički znaci zbog loše perfuzije mogu uključivati zatajenje srca i bubrega, očne te neurološke poremećaje kao što su pospanost, demencija i ataksija. Javlja se tendencija krvarenjima

zbog smanjenog prianjanja trombocita na oštećenu površinu endotela. Ona su posljedica smanjene adhezije trombocita zbog oblaganja trombocita imunglobulinima i miješanjem s normalnim faktorima zgrušavanja krvi kao i njihove potrošnje uslijed više epizoda krvarenja (Chun, 2010.).

Dijagnoza se postavlja testom elektroforeze bjelančevina u serumu i urinu. Uspješno liječenje životinje s paraneoplastičnom hiperglobulinemijom oslanja se na uklanjanje temeljnog tumora te često uz to i primjenu kemoterapije. U pasa kod kojih je prisutna serumska hiperviskoznost potrebno je primijeniti plazmoferezu, kako bi se smanjila koncentracija paraproteina (Henry, 2010.).

Kožni paraneoplastični sindromi

Superficijalni nekrolitički dermatitis

Superficijalni nekrolitički dermatitis (SND) je izraz koji se koristi za opisivanje erozivne krustozne dermatopatije s karakterističnom topografskom distribucijom. Bolest je prvi puta opisana 1986. godine u četiri psa koji su bolovali od dijabetesa zbog čega je bolest dobila naziv dijabetička dermatopatija (Gross i sur., 1993.). Najčešće je povezan s adenokarcinomom pankreasa, hepatopatijama, glukagonomima i dijabetesom melitusom. Superficijalni nekrolitički dermatitis, kao paraneoplastičan sindrom je izuzetno rijedak u pasa (Mircean i sur., 2009.).

Patogeneza ove dermatopatije kod pasa kao ni kod ljudi nije poznata. Smatra se da hiperglukagonemija rezultira kontinuiranom glukoneogenezom. Isto je tako predloženo mišljenje da je glukagon, uključen u katabolizam aminokiselina i kroničnu povišenost hormona što se može vidjeti kod glukagonomona. Sve to može biti direktni uzrok hipoamnioacidemiji koja može dovesti do proteinskog epidermalnog osiromašenja i posljedično do nekrolize keratinocita (Mircean i sur., 2009.).

U pasa se obično prvo pojave dermatološke promjene. Kutane lezije karakterizira eritem, kruste, erozije, eksudacije, alopecije bez pruritisa i ulceracije. Krustozne promjene se mogu vidjeti na mukokutanim spojevima (usne, kapci, nos, anus i spolni organi) kao i na točkama pritiska (laktovi, stopala, trbuš i aksila) (Gross i sur., 1993.). Šape su zadebljane i na njima su prisutne kruste i fisure. Lezije su obično bolne i sekundarno inficirane bakterijama i gljivicama. Klinički simptomi su nespecifični i pojavljuju se kasnije. Životinja je lošeg općeg stanja, gubi na težini, javlja se letargija, anoreksija, vrućica, žutica, poliurijska, polidipsija i polifagija (Muller i sur., 2011.).

Dijagnoza se temelji na dermatološkim, a ponekad i na kliničkim simptomima. Potrebno je napraviti biopsiju kože, ultrazvuk i biopsiju gušterače, hematološke i biokemijske pretrage krvi (McEwen, 1994.).

Specifična terapija za paraneoplastični SND ne postoji. Zasniva se na liječenju lezija kože i sprječavanje sekundarnih infekcija. Poželjno je davanje aminokiselina (npr. žutanjak ili aminokiselinski drip), esencijalnih masnih kiselina i cinka (Zn-glukonat). Kod pasa s glukagonom bez metastaza kirurško liječenje je metoda izbora: lezije kože se povlače tijedan dana nakon operacije, a potpuno zacješuju nakon 45 dana (Muller i sur., 2011.).

Nodularna dermatofibroza

Nodularna dermatofibroza je paraneoplastični sindrom koji uključuje multiple kožne čvorice. Javlja se u pasa s bilateralnim adenokarcinomom bubrega. Prvi je put zabilježena kod njemačkog ovčara, a kasnije i u zlatnog retrivera. Da bi oboljeli, psi s ovim tumorom imaju genetske predispozicije. Genetske studije su lokalizirale mutacije na Hogg-Dube lokusu na petom kromosomu u njemačkog ovčara. Javlja se u starijih pasa neovisno o spolu. Čvorići mogu biti prisutni nekoliko mjeseci ili čak godina (3-5 godina) prije nego što se stanje dijagnosticira (Muller i sur., 2011.).

Veza između kožnih čvorića i adenokarcinoma bubrega nije u potpunosti razjašnjena. Teško je ustvrditi javljaju li se istovremeno ili jedan prethodi drugom. Postoji mogućnost da se javljaju samostalno, neovisno jedan o drugom, ali preko istog nasljednog mehanizma (Turek, 2003.). Druga teorija je da izlučivanje različitih čimbenika rasta od strane tumora (TGF- α i TGF- β), može unaprijediti sintezu kolagena i posljedično paraneoplastični sindrom (Muller i sur., 2011.).

Dermatološki znaci su prisutni u vidu papula i nodula na udovima (karpalnom, tarzalnom, metkarpalnom i metatarzalnom dijelu) kao i na području oko prstiju i jastučića i glavi, a rijedje na leđima. Nodule mogu biti dermalne ili subkutane; veličine su u promjeru od 0,5-5 cm, čvrste su, bezbolne i nepomične na podlozi, a nekada su bez dlake, hiperpigmentirane i ulcerirane. Mogu se javiti u nakupinama i od 10 do 50 komada na području oko prstiju i jastučića, zbog čega se javlja bolnost i hromost (Muller i sur., 2011.). Nodule su građene od dobro diferenciranog i gusto raspoređenog kolagena.

Klinički simptomi su povezani sa sekundarnom insuficijencijom bubrega, koja se može razviti mnogo kasnije, a ponekad i godinama nakon nastanka čvorića. Može se javiti depresija, mršavljenje, letargija, dehidracija, poliurijska, polidipsija i povraćanje. Palpacija abdomena može otkriti jednu ili dvije velike mase.

Dijagnoza se temelji na dermatološkim i eventualno drugim kliničkim simptomima znacima, uzimajući u obzir gensku predispoziciju kod njemačkog ovčara. Preporuča se biopsija kože i ultrazvuk bubrega. Liječenje nije specifično. Noduli koji su ulcerirani ili smetaju (npr. pri hodu) mogu se resecerati bez kasnijeg recidiva.

Prognoza je dosta loša i ovisi o osnovnoj bolesti. Nove spoznaje o genetskoj povezanosti s ovim poremećajem mogu pomoći u iskorjenjivanju ove bolesti izdvajanjem bolesnih životinja iz uzgoja (Henry, 2010.).

Sažetak

Kako broj veterinarskih pacijenata, pogotovo pasa, koji boluju od malignih bolesti, raste, životni vijek se produžuje, a zahtjevi vlasnika za liječenjem izjednačuju onima u humanoj praksi, istraživanja usmjerena na prepoznavanje i liječenje malignih bolesti u veterinarskoj medicini imaju sve veće značenje. Uz poremećaje izazvane direktnim bujanjem i prorastanjem tkiva, maligne bolesti bitno određuju i paraneoplastični znaci, odnosno znaci povezani na udaljene učinke tumora. U načelu ti su učinci posljedica tumorskog izlučivanja hormona, peptida ili citokina te imunoške međureaktivnosti između malignog i normalnog tkiva. Paraneoplastični znaci obuhvaćeni su u više točno definiranih sindroma od kojih su najznačajniji hematološki (anemija, policitemija, neutrofilna leukocitoza, trombocitopenija, koagulopatijs, diseminirana intravaskularna koagulacija, hiperglobulinemija), endokrinoški (hiperkalcemija, hipoglikemija, hiperestrogenizam, sindrom ektopičnog stvaranja adrenokortikotropnog hormona, sindrom neodgovarajućeg izlučivanja antidiuretskog hormona), kožni (superficijalni nekrolički dermatitis, nodularna dermatofibroza), gastrointestinalni (tumorska kaheksija, gastrointestinalne ulceracije), bubrežni (glomerulonefritis i nefropatijs) i neurološki (mijastenija gravis, periferne neuropatijs) paraneoplastični sindrom te hipertrofična osteopatija i grozničica. Nekada se mogu pojaviti tjednima i mjesecima prije nego što se klinički dijagnosticira maligna bolest. Prepoznavanje određenog paraneoplastičnog sindroma je značajno, jer primjećeni poremećaj može biti prvi znak odredene vrste tumora te se na taj način može olakšati rano utvrđivanje dijagnoze i postavljanje terapije. Pomaže nam u praćenju odgovora organizma na primjenjenu terapiju, a to nam omogućava procjenu rekurentnosti ili progresije maligne bolesti. Utvrđivanje paraneoplastičnog sindroma može promijeniti klinički pristup u dijagnostici i liječenju. Paraneoplastični sindromi često prouzroče znatan morbiditet, koji je značajniji od morbiditeta prouzročenog direktnim rastom i invazijom primarnog tumora. Suvremeni medicinski postupci rezultirali su boljim razumijevanjem, preciznjom dijagnostikom i uspješnjim liječenjem paraneoplastičnih sindroma u pasa. Unaprijeđenje prepoznavanja i liječenja paraneoplastičnih poremećaja ima znatan utjecaj

na klinički ishod malignih bolesti, od ranije dijagnoze preko češće primjene specifične ciljane terapije do poboljšanja kvalitete te produljenja života. Zaključno treba naglasiti da je kontrola primarnog tumora najbolje rješenje u suzbijanju paraneoplastičnih sindroma. Često je, da bi to bilo moguće, potrebno stabilizirati pacijenta potpornom terapijom koja ovisi o kliničkom stanju pacijenta (infuzija, transfuzija, antibiotici i dr.).

Ključne riječi: *paraneoplastični sindrom, pas*

Literatura

- ARGYLE, D. J. and M. RENWICK (2009): Paraneoplastic Syndromes. In: Decision Making in Small Animal Oncology. (Argyle, D. J., M. J. Brearley, M. M. Turek, Eds.), Wiley Blackwell, Ames, pp. 19-44.
- BENNETT, F. (2004): Unilateral renal cell carcinoma in a Labrador retriever. Can. Vet. J. 45, 860-862.
- BERGMAN, P. J. (2013): Paraneoplastic syndromes. In: WITHROW S. J., D. M. VAIL and R. L. PAGE: Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, (83-97).
- CHUN, R. (2010): Paraneoplastic Syndromes. In: HENRY, J. C. and M. L. HIGGIBOTHAM: Cancer Management in Small Animal Practice, (94-100).
- COUTO, C. G. (2003): Oncology. In: NELSON, R. W. and C. G. COUTO: Small Animal Internal Medicine, (1093-1151).
- COUTO, C. G. (2009). Disseminated intravascular coagulation in dogs and cats. Vet. Med. 94, 547-553.
- FINORA, K. (2003): Common paraneoplastic syndromes. Clin. Tech. Small Anim. Pract. 18, 123-126.
- FRY, M. M. and M. D. MCGAVIN (2012): Bone marrow, blood cells and lymphatic system. In: ZACHARY J. F. and M. D. MCGAVIN: Pathologic Basis of Veterinary Disease, (721-763).
- GOULD, S. (2003): Paraneoplastic syndromes. In: DOBSON, J. M. and B. D. X. LASCELLES: Manual of Canine and feline oncology, (61-67).
- GROSS, T. L., M. D. SONG, P. J. HAVEL and P. J. IHRKE (1993). Superficial necrolytic dermatitis (necrolytic migratory erythema) in dogs. Vet. Path. Online 30, 75-81.
- HENRY, C. J. (2010): Paraneoplastic syndrome. In: ETTINGER, S. J. and E., C., FELDMAN: Textbook of Veterinary Internal Medicine, Diseases of the Dog and Cat, (789-798).
- LEVI, M. and H. T. CATE (1999): Disseminated Intravascular Coagulation. N. Engl. J. Med. 341, 586-592.
- MARUYAMA, H., T. MIURA, M. SAKAI, H. KOIE, Y. YAMAYA, H. SHIBUYA, T. SATO, T. WATARI, A. TAKEUCHI, M. TOKURIKI and A. HASEGAWA (2004): The Incidence of Disseminated Intravascular Coagulation in Dogs with Malignant Tumor. J. Vet. Med. Sci. 66, 573-575.

14. McEWEN, B. J. (1994): Superficial necrolytic dermatitis (hepatocutaneous syndrome) in a dog. Can. Vet. J. 35, 53-54.
15. McNIEL, E., G. K. OGILVIE, M. J. FETTMAN and M. D. SALMAN (1997): Platelet Hyperfunction in Dogs With Malignancies. J. Vet. Intern. Med. 11, 178-182.
16. McNIEL, E., G. K. OGILVIE, M. J. FETTMAN and M. D. SALMAN (1997): Platelet Hyperfunction in Dogs With Malignancies. J. Vet. Intern. Med. 11, 178-182.
17. MICREAN, V., V. M. MICREAN, C. CĂTOI and A. TITILINCU (2009): Metabolic Epidermal Necrosis in Dog: a Case Report. Bulletin, UASVM. 66, 119-126.
18. MORRIS, J. (2008): Hematopoietic system. In: MORRIS J. and J. DOBSON: Small Animal Oncology, (228-252).
19. MORRISON, W. B. (2002): Paraneoplastic Syndromes and the Tumors that Cause Them. In: CAN C. C., S. L. HUNSBERGE and C. J. ROANTREE: Cancer in Dogs and Cats Medical and Surgical Management, (732-744).
20. MULLER, A., F. DEGORCE-RUBIALES and E. GUAGUERE (2011): Metastatic calcinosis (including calcinosis cutis) in a young dog with multiple urinary tract abnormalities. Vet. Dermatol. 22, 279-283.
21. PELOSO, L. C. and D. E. GERBER (2010): Paraneoplastic Syndromes: An Approach to Diagnosis and Treatment. Mayo. Clin. Proc. 85, 838-854.
22. TUREK, M. M. (2003): Cutaneous paraneoplastic syndromes in dogs and cats: a review of the literature. Vet. Dermatol. 14, 279-296.
23. VALLI, V. E. O. (2007): Hematopoietic system. In: MAXIE, M. G.: Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of domestic animals, (433-478).
24. VLAŠIN, M., P. RAUŠER, T. FICHTEL and J. NOVOTNY (2004): Disseminated Intravascular Coagulopathy of the Dog. Acta Vet. Brno. 73, 497-505.

Paraneoplastic Syndrome in Dogs – (Part I.)

Sonja KOZMA, DVM, Croatia; Martina CRNOGAJ, DVM, PhD, Senior Assistant, Nada KUČER, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia

As the number of veterinary patients, especially dogs, suffering from malignant disease grows and owners demand human-care quality for their pets, research on the identification and treatment of malignant diseases in veterinary medicine is growing in importance. Malignant diseases are not only connected with the direct thickening and ingrowth of tissue, but also with paraneoplastic syndromes, i.e. the remote effects of tumors. In general, these are caused by hormones, peptides, and cytokines secreted by tumors or immune cross-reactivity between malignant and normal tissue. Paraneoplastic syndromes can be divided into several well-defined categories, the most important being: hematological (anemia, polycythemia, neutrophilic leukocytosis, thrombocytopenia, coagulopathy, disseminated intravascular coagulation, hyperglobulinemia), endocrine (hypercalcemia, hypoglycemia, hyperestrogenism, ectopic adrenocorticotrophic hormone syndrome, syndrome of inappropriate anti-diuretic hormone secretion), mucocutaneous (superficial necrolytic dermatitis, nodular dermatofibrosis), gastrointestinal (cancer cachexia, gastrointestinal ulcers), renal (glomerulonephritis and nephropathy) and neurological paraneoplastic syndrome (myasthenia gravis, peripheral neuropathy), as well as hypertrophic osteopathy and fever. Sometimes, these can occur weeks or months before clinically diagnosed malignancy. Identifying

a specific paraneoplastic syndrome is of great significance, since the observed disorder can be the first sign of certain types of tumors, and thus may facilitate early diagnosis and identification as well as proper therapy. It is also useful for monitoring the response to therapy, which allows us to estimate the recurrence or progression of malignancies. Identification of paraneoplastic syndrome may alter the clinical approach to diagnosis and treatment. Paraneoplastic syndromes often cause considerable morbidity, which is more important than morbidity caused by the direct invasion and growth of the primary tumor. All these syndromes significantly affect the presentation, clinical course, and available treatment for the primary malignancies that they are related to. Recent diagnostic and therapeutic advances in the identification and treatment of paraneoplastic disorders have had a great impact on the clinical outcome of malignant diseases, ranging from earlier cancer diagnosis, to improved quality of life and extended life expectancy. In conclusion, it should be noted that the control of the primary tumor is the best solution for repressing paraneoplastic syndromes. Often, to make this possible it is necessary to stabilize the patient with supportive therapy, which depends on the clinical condition of the patient (infusions, transfusions, antibiotics, etc.).

Key words: Paraneoplastic syndrome, Dog

NOVO U PONUDI

CEFQUINOR® DC

150 mg intramamarna mast

za krave u suhostaju

Cefkvinom (u obliku sulfata)



- liječenje subkliničkih mastitisa prilikom zasušenja i sprječavanje novih infekcija vimena tijekom zasušenja u muznih krava
- karencija
meso i jestive iznutrice: 2 dana
mljeko: 1 dan nakon telenja ako suhostaj traje duže od 5 tjedana
36 dana nakon primjene ako suhostaj traje 5 tjedana ili kraće

GENERA d.d.

Svetonedeljska 2, Kalinovica, 10436 Rakov Potok, Hrvatska
tel: +385 1 33 88 888, fax: +385 1 33 88 600, e-mail: info@genera.hr
www.facebook.com/GeneralInc

 **GENERA**

www.genera.hr

Patofiziologija pretilosti pasa i mačaka



Mirna Robić*, Maja Belić i Romana Turk

Uzroci pretilosti kod pasa i mačaka

Svjetska zdravstvena organizacija pretilost definira kao stanje prekomjernog nakupljanja masnog tkiva s pogubnim utjecajem na zdravlje. U pasa i mačaka pretilost počinje predstavljati sve veći problem, a prema novijim istraživanjima, u razvijenim se zemljama procjenjuje da je oko trećine pasa i mačaka pretilo (McGreevy i sur., 2005.). Glavni je razlog pretilosti pasa i mačaka promjena načina prehrane i životnih navika, osobito mačaka kod kojih je došlo do drastičnih restrikcija kretanja i stalne dostupnosti hrane. Pretilost je pasa povezana i s pasminom te su neke pasmine sklonije debeljanju od drugih. Kod mačaka nije ustanovljena pasminska predispozicija, a najčešće su pretile domaće mačke (križanci bez pasminske pripadnosti) (Diez i Nguyen, 2006.). Pogodovni čimbenik je i dob, budući da brzina metabolizma s dobi opada i mijenja se odnos mišićnog i masnog tkiva (Speakman i sur., 2003.). Nadalje, sterilizacija povećava rizik pretilosti te je ustanovljeno da sterilizirane kuje imaju dvostruko veću mogućnost postati pretile (Edney i Smith, 1986.), a sterilizirane mačke, osobito kastrirani mačci imaju i tri do četiri puta veći rizik razvoja pretilosti od intaktnih životinja (Diez i Nguyen, 2006.).

Uloga adipokina u patofiziologiji pretilosti

Iako se masno tkivo dugo smatralo inertnim organom, danas je poznato da je endokrinološki aktivno te da preko izlučivanja adipokina ima učinke na staničnu diferencijaciju, energijski metabolizam, remodeliranje tkiva, upalne procese i imunosne odgovore (Wang i sur., 2008.). Danas je poznato pedesetak adipokina koje stvara bijelo masno tkivo, a koji su uključeni u brojne fiziološke i patofiziološke procese, uključujući metabolizam, imunost i upalne procese (Lago i sur., 2007.) Leptin je adipokin koji se ponajprije stvara u masnom tkivu, a razina mu je u pretilih životinja povišena (Sagawa i sur., 2002.). Leptin djeluje smanjujući volju za jelom vežući se za receptor u centru za sitost u hipotalamusu (Houseknecht i Portocarrero, 1998.). Osim toga, leptin ima sposobnost stimuliranja angiogeneze, suprimira apoptozu i djeluje kao mitogen, što može imati ulogu u kancerogenezi u ljudi (Garofalo i Surmacz, 2006.). Nadalje, regulira funkcije reproduktivnog i imunosnog sustava i modulira inzulinsku osjetljivost. Rezistin je adipokin koji je povišen u pretilih pasa (Wakshlag i sur., 2011.). Rezistin potiče stvaranje proupatnih citokina koji potiču inzulinskiju rezistenciju (Kaser i sur., 2003.). Adiponektin, gotovo isključivo proizvod masnog tkiva, snižene je razine

Dr. sc. Mirna ROBIC*, dr. med. vet., izvanredna profesorica (dopisni autor, e-mail: mrobic@vrf.hr), dr. sc. Maja BELIĆ, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Romana TURK, mag. med. biochem., docentica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

kod pretilih pasa i koristi se kao biljeg u prevenciji pretilosti (Ishioka i sur., 2006.). Adiponektin povećava osjetljivost na inzulin, ima protuupalne učinke i prevenira aterosklerozu (Hopkins i sur., 2007.). Osim toga, adiponektin promiče vazorelaksaciju preko porasta aktivnosti dušik oksid sintaze i prostaciklin sintaze u endotelnim stanicama (Fesus i sur., 2007.) i time poboljšava osjetljivost na inzulin, a ima i protuupalne učinke preko suprimiranja stvaranja TNF α od strane makrofaga (Yokota i sur., 2000.).

U masnom se tkivu stvaraju i proupalni citokini TNF α , IL-1 i IL-6 s lokalnim i sustavnim proupalnim učincima (Bullo i sur., 2003.), a inzulinskoj rezistenciji doprinosi stimulacija lipolize i visoka koncentracija slobodnih masnih kiselina u krvotoku pod djelovanjem TNF α (Patton i sur., 1986.). IL-6 djeluje kao lokalni regulator djelovanja inzulina (Kern i sur., 2001.) i kontrolira stvaranje CRP (C-reaktivnog proteina) u jetri koji je važan upalni biljeg povezan s pretilošću (Bullo i sur., 2007.). Smatra se da je pretilost uzrok kroničnih uplanih procesa u organizmu u kojem se u prekomjerno nakupljenom masnom tkivu infiltriraju makrofagi koji izlučuju proupalne citokine, čija koncentracija u cirkulaciji poraste (Zeyda i sur., 1997.). Upala je povezana s inzulinskog rezistencijom preko još nedovoljno poznatih mehanizama (Liang i sur., 2007.). TNF α ima i lokalne učinke na masno tkivo jer inhibira diferencijaciju masnih stanica i smanjuje skladišni kapacitet za lipide, promiče lipomobilizaciju i suprimira funkciju smeđeg masnog tkiva. Ti učinci kod pretilih potiču hiperlipidemiju i lipotoksičnost u parenhimskim organima (Sethi i Vidal-Puig, 2007.). Smatra se da su mačke, kao isključivi mesojedi manje osjetljive na inzulin te stoga slabije podnose velike količine ugljikohidrata u prehrani. Aktivnost glukokinaze u jetri mačaka je vrlo niska, jer je količina glukoze koja dolazi iz probavnog

sustava preko portalne vene zanemariva, stoga se u odraslim mačaka glikemija prvenstveno namiruje preko procesa glukoneogeneze (Kirk i sur., 2000.). Ta osobitost metabolizma mačaka vjerojatno ih predisponira razvoju dijabetesa tipa 2, jer je i pokusno ustanovljeno da su mačke manje osjetljive na inzulin od pasa (Mori i sur., 2009.).

U patofiziologiji pretilosti u mesojeda sudjeluje i jetra kao ključni organ održavanja glikemije u organizmu. Inzulinu sličan čimbenik rasta-1 (IGF-1) koji se stvara u jetri, prisutan je u višoj koncentraciji u pretilih pasau pretilih pasa, a koncentracija u krvi pada nakon gubitka tjelesne težine (Blanchard i sur., 2004.). U pretilih ljudi i mačaka povećana je učestalost inzulinske rezistencije i dijabetesa tipa 2, budući da gubitak osjetljivosti na inzulin u masnom i mišićnom tkivu i jetri dovodi do poremećaja intermedijarnog metabolizma, jer inzulinska rezistencija u masnom tkivu onemogućuje supresiju lipoproteinske lipaze, potrebne za esterifikaciju slobodnih masnih kiselina te se kao posljedica toga poveća nakupljanje lipida u stanicama skeletnog mišića zbog smanjenog unosa masnih kiselina i smanjene beta oksidacije (Cahova i sur., 2007.). Povećan sadržaj lipida u mišićnim stanicama kao posljedicu ima poremećaje u signalizaciji inzulina, najvećim dijelom preko disfunkcije fosforilacije akcesornih proteina, inzulinskih receptora 1 i 2 (IRS-1 i IRS-2) pa navedene stanice ne mogu translocirati inzulinski prijenosnik GLUT-4 iz citosola na apikalnu membranu i u zahvaćenim je stanicama smanjena aktivnost sintaze glikogena, što dodatno pogoršava stanje (de Godoy i Svanson, 2013.). Inzulinska rezistencija dovodi do hiperglikemije i hiperinzulinemije koje mogu prijeći u dijabetes tipa 2, a nakon iscrpljivanja βstanica Langerhansovih otočića gušterače u dijabetes tipa 1.

Bolesti povezane s pretilošću kod mesojeda

Iako u mesojeda ne postoje sindromi povezani s pretjerano povećanom tjelesnom težinom, kao što je metabolički sindrom ljudi i metabolički sindrom konja, prekomjerno nakupljanje masnog tkiva predisponira životinje nizu bolesti i poremećaja.

Endokrinološki poremećaji povezani s pretilošću su šećerna bolest tip 2, hiperadrenokorticizam i inzulinom (Burkholder i Toll, 2000.). U mačaka je pretilost najvažniji rizični čimbenik za razvoj inzulinske rezistencije i dijabetesa tip 2 (Nelson i sur., 1990.). U pretilih pasa dolazi i do poremećaja metabolizma lipida s povиšenim razinama kolesterola, triglicerida i fosfolipida, ali još uvijek u referentnom intervalu (Chimakune i sur., 1995.). Međutim, moguća komplikacija dugotrajne hiperlipidemije u pasa je pankreatitis (Xenoulis i Steiner, 2010.).

U pasa se kao komplikacija pretilostijavljaju traumatske i degenerativne ortopediske bolesti (Edney i Smith, 1986.), i u većem su riziku za razvoj osteoartritisa (Kealy i sur., 1997.). Pretili psi skloni su i poremećajima funkcije respiratornog sustava, u malih pasmina pasa pretilost je rizični faktor za razvoj trahealnog kolapsa (White i William, 1994.), laringealne paralize i sindroma opstrukcije dišnih puteva kod brahiocefaličnih pasa (German, 2006.). Pretilost utječe i na srčanu funkciju, može dovesti do poremećaja srčanog ritma, povećanja volumena lijeve komore i krvnog tlaka, povezuje se s trombozom portalne vene (Van Winkle i Bruce, 1993.) i hipoksijom miokarda (Baba i Arakawa, 1984.).

U kuja i mačaka pretilost se povezuje i s inkontinencijom uretralnog sfinktera nakon ovariohisterektomije (Gregory, 1994.). Povećana je i učestalost oksalatnih mokraćnih kamenaca (Leckharoensuk i sur., 2000.). Pretilje životinje češće imaju težak porod, vjerojatno zbog gomilanja

masnog tkiva oko porođajnog kanala i u njemu (Edney i Smith, 1986.). Pretilje životinje češće pate od dermatoloških bolesti kao posljedice smanjene sposobnosti čišćenja dlake i smanjenog imunosnog odgovora, a kod jako pretilih mogu se javiti i dekubitalne rane od ležanja (German, 2006.). Pretili su psi u većem riziku od oboljevanja karcinoma prijelaznih stanica u mokraćnom mjehuru (Glickman i sur., 1989.). Čak i ako se ne razbole od navedenih bolesti, pretili mesojedi imaju lošiju kvalitetu života i kraći životni vijek (Kealy i sur., 2002.).

Nažalost, vlasnici često ne shvaćaju pretilost ljubimaca kao problem, osobito ako je životinja klinički zdrava. Pretilost se liječi individualnim programima koji uključuju promjenu sastava hrane, manji unos hrane i povećanu tjelesnu aktivnost (Fleeman i sur., 2006.).

Sažetak

U posljednjih dvadesetak godina problem pretilosti pasa i mačaka sve je veći, a prouzroči ga najvećim dijelom promjena načina života i promjena načina prehrane. U razvijenom svijetu procjenjuje se da je 30% mesojeda kućnih ljubimaca pretilo. Kod pasa su pretilosti sklonije neke pasmine, dok su kod mačaka pretilosti najsklonije domaće mačke, križanci bez pasmske pripadnosti. Učestala pretilost kod mačaka posljedica je činjenice da je kod ove vrste u evolucijski kratkom razdoblju došlo do potpune promjene načina života s lovačkog na sesilni, a većini pretilih mačaka vlasnici omogućuju stalni pristup hrani. Iako pretilost u mesojeda ne dovodi do pojave specifičnih simptoma koje čine metabolički sindrom, kao što je slučaj u ljudi i konja, pretilost je i u mesojeda povezana s nizom poremećaja. Ti su poremećaji posljedica endokrinološkog disbalansa koji nastaje zbog izlučivanja adipokina koji u mačka, posebice kastriranih mužjaka mogu izazvati inzulinskiju rezistenciju i dijabetes tip 2, osobito zato jer su mačke kao isključivi mesojedi i prirodno slabije osjetljive na inzulin. U pretilih pasa povišena je razina leptina, koji regulira funk-

cije imunosnog i reproduktivnog sustava i modulira inzulinsku osjetljivost i rezistinu, koji dovodi do povećanog stvaranja proučalnih citokina koji potiču inzulinsku rezistenčiju. Nadalje, kod pretilih životinja snižena je razina adiponektina, koji povećava inzulinsku osjetljivost i ima protuupalne učinke. Prekomjerno nakupljeno masno tkivo izlučuje niz citokina koji imaju proučalni učinak i dovode do kroničnih upalnih procesa u organizmu: TNF α , IL-1 i IL-6, te kao posljedica toga i C-reaktivnog proteina koji je važan biljeg upale u pasa i mačaka. U pretilih životinja povišena je i razina inzulinu sličnog čimbenika rasta -1 (IGF-1). Nastali endokrinološki disbalans dovodi do smanjene osjetljivosti na inzulin u mišićnim, masnim i jetrenim stanicama i dovodi do poremećaja intermediarnog metabolizma. Posljedica inzulinske rezistenčije je hiperglikemija s hiperinzulinemijom koje mogu prijeći u dijabetes tip 2, a nakon iscrpljivanja β stanica Langerhansovih otočića u dijabetes tip 1. I sam mehanički utjecaj velike količine masnog tkiva predisponira mesojeđe poremećajima lokomotornog sustava, kolapsu traheje kod brahiocefaličnih pasmina, kardiovaskularnim poremećajima, otežanom porodu, dermatološkim poremećajima, a veća je učestalost bolesti mokraćnog sustava, uključujući mokraćne kamence, inkontinenčiju i karcinom mokraćnog mjehura. Nažalost, vlasnici često ne prepoznaju pretilost kao bolesno stanje, osobito ako životinja nema kliničkih znakova. Međutim, kvaliteta života i životni vijek im je skraćen. Pretilost se mesojeđa lijeći i prevenira restriktivnom prehranom i povećanjem tjelesne aktivnosti.

Ključne riječi: pretilost, psi, mačke, patofiziologija, adipokini

Literatura

- BABA, E., A. ARAKAWA (1984): Myocardial hypoxia in an obese beagle. *Vet. Med. Sm. Anim. Clin.* 79, 788-791.
- BLANCARD, G., P. NGUYEN, C. GAYET, I. LERICHE, B. SILIART and B. M. PARAGON (2004): Rapid weight loss with high-protein low-energy diet allows the recovery of ideal body composition and insulin sensitivity in obese dogs. *J. Nutr.* 134, 2148-2150.
- BURKHOLDER, W. J. and P. W. TOLL (2000): Obesity. In: HAND, M. S., C. D. THATCHER, R. L. REIMILLARD, P. ROUDEBUSH, M. L. MORRIS, B. J. NOVOTNY: Small animal clinical nutrition, Topeka, Mark Morris Institute (401-430).
- BULLO, M., P. GARCIA-LORADA, I. MEGIAS and J. SALAS-SALVADO (2003): Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. *Obes. Res.* 11, 525-531.
- BULLO, M., P. CASAS-AGUSTENCH, P. AMIGO-CORREIG, J. ARANCETA and J. SALAS-SALVADO (2007): Inflammation, obesity and comorbidities: The role of diet. *Public Health Nutr.* 10, 1164-1172.
- CAHOVA, M., H. VAVRINKOVA and L. KADZOVA (2007): Glucose-fatty acid interaction in skeletal muscle and adipose tissue in insulin resistance. *Physiol. Rev.* 56, 1-15.
- CHIMAKUNE, T., H. KATAMOTO, F. OHASHI and J. SHIMADA (1995): Serum lipid and lipoprotein concentrations in obese dogs. *J. Vet. Med. Assoc.* 57, 595-598.
- DE GODOY, M. R. C. and K. S. SWANSON (2013): Companion animal symposium: Nutrigenomics: using gene expression and molecular biology data to understand pet obesity. *J. Anim. Sci.* 91, 2949-2964.
- DIEZ, M. and P. NGUYEN (2006): The epidemiology of canine and feline obesity. *Waltham focus* 16, 2-8.
- EDNEY, A. T. B. and P. M. SMITH (1986): Study of obesity in dogs visiting veterinary practices in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 118, 391-396.
- FESUS, G., G. DUBROVSKA, K. GORZELNAIK, R. KLUGE, Y. HUANG, F. C. LUFT and M. GOLLASCH (2007): Adiponectin is a novel humoral vasodilatator. *Cardiovasc. Res.* 75, 719-727.
- FLEEMAN, L. M., E. J. SETON and J. RAND (2006): Obesity management in dogs and cats. *Waltham focus* 16, 9-15.
- GAROFALO, C. and E. SURMACZ (2006): Leptin and cancer. *J. Cell Physiol.* 207, 12-22.
- GERMAN, J. A. (2006): The growing problem of obesity in dogs and cats. *J. Nutr.* 136, 1940-1946.
- GLICKMAN, L. T., F. S. SCOFER, L. J. MCKEE, J. S. REIF and M. H. GOLDSMITH (1989): Epidemiologic study of insecticide exposure, obesity, risk of bladder cancer in household dogs. *J. Toxicol. Environ. Health.* 28, 407-414.
- GREGORY, S. P. (1994): Developments in the understanding of the pathophysiology of urethral sphincter mechanism incompetence in the bitch. *Br. Vet. J.* 150, 135-150.
- HOPKINS, T. A., N. OUCHI, R. SHIBATA and K. WALSH (2007): Adiponectin actions in the cardiovascular system. *Cardiovasc. Res.* 74, 11-18.
- HOUSENKNECHT, L. K. and C. P. PORTOCARRERO (1998): Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. *Dom. Anim. Endocrinol.* 15, 457-475.
- ISHIOKA, K., A. OMACHI, M. SAGAWA, H. SHIBATA, T. HONJOH, K. KIMURA and M. SAITO (2006): Canine adiponectin: cDNA structure, mRNA expression in adipose tissues and reduced plasma levels in obesity. *Res. Vet. Sci.* 80, 127-132.

20. KASER, S., A. KASER, A. SANDHOFER, C. F. EBENBICHLER, H. TILG and J. R. PATSCH (2003): Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 309, 286–290.
21. KEALY, R. D., D. F. LAWLER, J. M. BALLAM, S. L. MANTZ, D. N. BIERY, E. H. GREELEY, G. LIST, M. SEGRE, G. K. SMITH and H. D. STOWE (2002): Effects of diet restriction on life span and age-related changes in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220, 1315–1320.
22. KEALY, R. D., D. F. LAWLER, J. M. BALLAM, G. LUST, G. K. SMITH, D. N. BIERY and S. E. OLSSON (1997): Five-year longitudinal study on limited food consumption and development of osteoarthritis in coxofemoral joints of dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 210, 222–225.
23. KERN, P. A., S. RANGANATHAN, C. LI, L. WOOD and R. GOURI (2001): Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 280, E745–E751.
24. KIRK, C. A., J. DEBRAEKELEER, P. J. ARMSTRONG (2000): Normal cats. In: HAND, M. S., C. D. THATCHER, R. L. REMILLARD and P. ROUDEBUSH: *Small animal clinical nutrition*. Mark Morris Institute, Topeka (292–347).
25. LAGO, F., C. DIEGUEZ, J. GOMEZ-REINO and O. GUALILLO (2007): Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. *Nature Clin. Pract. Rheumatol.* 3, 716–724.
26. LECKHAROENSUK, C., J. P. LULICH, C.A. OSBORNE, R. PUZOONTHORNTUM, T. A. ALLEN, L. A. KOEHLER, L. K. URLICH, K. A. CARPENTER and L. L. SWANSON (2000): Patient and environmental factors associated with calcium oxalate urolithiasis in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 217, 515–519.
27. LIANG, C. P., S. HAN, T. SENOKUCHI and A. R. TALL (2007): The macrophage at the crossroads of insulin resistance and atherosclerosis. *Circ. Res.* 100, 1546–1555.
28. MORI, A., P. LEE, H. TAKEMITSU, E. IWASAKI, N. KIMURA, M. YAGISHITA, M. HAYASAKA and T. ARAI (2009): Decreased gene expression of insulin signalling genes in insulin sensitive tissues of obese cats. *Vet. Res. Commun.* 33, 315–329.
29. MCGREEVY, P. D., P. C. THOMSON, C. PRIDE, A. FAWCETT, T. GRASSI and B. JONES (2005): Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. *Vet. Rec.* 156, 695–707.
30. NELSON, R. W., C. A. HIMSEL, E. C. FELDMAN and G. D. BOTTOMS (1990): Glucose tolerance and insulin response in normal weight and obese cats. *Am. J. Vet. Res.* 51, 1357–1362.
31. PATTON, J. S. H. M. SHEPARD, H. WILKING, G. LEWIS, B. B. AGGARWAL, T. E. EESSALU, L. A. GAVIN and C. GRUNFELD (1986): Interferons and tumor necrosis factors have similar catabolic effects on 3T3-L1 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 83, 8313–8317.
32. SAGAWA, M. M., F. NAKADORO, T. HONJOH, K. ISHIOKA and M. SAITO (2002): Correlation between plasma leptin concentration and body fat content in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 63, 7–10.
33. SETHI, J. K. and A. J. VIDAL-PUIG (2007): Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. *J. Lipid. Res.* 48, 1253–1262.
34. SPEAKMAN, J. R., A. VAN ACKER and E. J. HARPER (2003): Age-related changes in the metabolism and body composition of three dog breeds and their relationship to life expectancy. *Aging Cell* 2, 265–275.
35. VAN WINKLE, T. J. and E. BRUCE (1993): Thrombosis of the portal vein in eleven dogs. *Vet. Pathol.* 30, 28–35.
36. WAKSHLAG, J. J., A. M. STRUBLE, C. B. LEVINE, J. J. BUSHEY, D. P. LAFLAMME and G. M. LONG (2011): The effects of weight loss on adipokines and markers of inflammation in dogs. *Br. J. Nutr.* 106, S11–S14.
37. WANG, P., E. MARIMAN, J. RENES and J. KEIJER (2008): The secretory function of adipocytes in the physiology of white adipose tissue. *J. Cell. Physiol.* 216, 3–13.
38. WHITE, R. A. S. and J. M. WILLIAM (1994): Tracheal collapse in the dog – is there really a role for surgery? A survey of 100 cases. *J. Small Anim. Pract.* 35, 191–196.
39. XENOULIS, P. G. and J. M. STEINER (2010): Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs. *Vet. J.* 183, 12–21.
40. YOKOTA, T., K. ORITANI, I. TAKAHASHI, J. ISHIKAWA, A. MATSUYAMA, N. OUCHI, S. KIHARA, T. FUNAHASHI, A. J. TENNER, J. TOMYJAMA and Y. MATSUZAWA (2000): Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood* 96, 1723–1732.
41. ZEYDA, M., D. FARMER and J. TODORIC (2007): Human adipose tissue macrophages are of an anti-inflammatory phenotype but capable of excessive pro-inflammatory mediator production. *Int. J. Obes.* 31, 1420–1428.

Pathophysiology of Obesity in Dogs and Cats

Mirna ROBIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Maja BELIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Romana TURK, Mag. Med. Biochem., PhD, Assistant Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia

In the last two decades obesity in dogs and cats became a growing problem, caused mostly by changes in lifestyle and nutrition. In developed countries about 30% dogs and cats are obese. Some canine breeds are more prone to develop obesity, in feline population obesity is most frequently diagnosed in domestic cats (crossbreeds). The main reason for obesity in house cats are dramatic changes of lifestyle which occurred in evolutionary short time: from hunters to sedentary animals, moreover, owners give their pets unlimited access to food. Although obesity in dogs and cats does not induce specific symptoms and metabolic syndromes as in humans and horses, it is connected with many health disturbances, as a consequence of endocrinological imbalance caused by adipokines secretion, which in cats, especially castrated males, can induce insulin resistance and type 2 *diabetes mellitus*, since cats are real carnivores and have lower insulin sensitivity. In obese dogs elevated levels of leptin, adipokine that regulates functions of immunological and reproductive system and modulates insulin resistance are observed. Also, obese animals have elevated levels of resistin, causing increased production of pro-inflammatory cytokines which contribute to insulin resistance. In obese animals lower levels of adiponectin, which increases insulin

sensitivity and has anti-inflammatory effects are observed. Excessive fat tissue secretes cytokines with pro-inflammatory effects leading to chronic inflammatory processes in organism: TNF α , IL-1 and IL-6, consequently levels of C-reactive protein, important inflammatory marker are elevated in obese pets. Also, levels of insulin-like growth factor-1 (IGF-I) are elevated. Hormonal imbalance leads to decreased insulin sensitivity in muscular, fat and liver cells and disturbances in intermediary metabolism. Consequence of insulin resistance is hyperglycemia and hyperinsulinemia which can progress to type 2 *diabetes mellitus*, and after exhaustion of pancreatic β cells to type 1 *diabetes mellitus*. Mechanical impact of increased body weight of obese animals predisposes to orthopedic disorders, tracheal collapse in brachycephalic dogs, cardiovascular disturbances, distocia, dermatological problems and diseases of urinary tract, including bladder stones, incontinence and bladder carcinoma. Unfortunately, owners often neglect obesity, especially if clinical signs of illness are absent. Nevertheless, the quality of life and life expectancy is shorter in obese animals. Obesity is treated with food restriction and increased physical activity.

Key words: Obesity, Dogs, Cats, Pathophysiology, Adipokines

Osnove deskriptivnih i opservacijskih analitičkih istraživanja u epidemiologiji

Miroslav Benić* i Željko Mihaljević



Uvod

Epidemiologija proučava distribuciju bolesti i determinante koje određuju distribuciju bolesti u populaciji. Ovisno o tome na što je usmjeren primarni fokus istraživanja epidemiologija se može podijeliti na deskriptivnu i analitičku. Deskriptivna epidemiologija promatra distribuciju bolesti unutar populacije, dijela određene populacije, odnosno proučava u kojim populacijama ili njihovim podskupinama je vjerojatnije pojavljivanje neke bolesti; u kojim geografskim područjima je vjerojatnija pojava određene bolesti te kako se frekvencija pojavljivanja neke bolesti mijenja tijekom vremenskih razdoblja. Priključene informacije o ovim značajkama promatrane bolesti služe kao temelj za formuliranje epidemiološke hipoteze koja mora biti u skladu s postojećim znanjem o pojavi bolesti. Analitička epidemiologija fokusira se na proučavanje determinanti povezanih s promatranom bolešću testirajući hipotezu formuliranu u deskriptivnim istraživanjima. Primarni cilj analitičkih epidemioloških istraživanja je prosudba utječe li izloženost nekom čimbeniku na veću ili manju učestalost određene bolesti u promatranoj populaciji. Pod pojmom čimbenik rizika smatra se individualna karakteristika ili izloženost koja je povezana u pozitivnom ili negativnom smislu s pojmom bolesti (Thrusfield, 1995.).

Deskriptivna istraživanja proučavaju i opisuju općenite značajke distribucije

bolesti u odnosu na jedinku, mjesto i vrijeme. Pod pojmom jedinka podrazumijeva se: vrsta, pasmina, dob, spol, bređost (u humanoj epidemiologiji: rasa, bračno stanje, zanimanje, stil života itd.) Značajke mjesta odnose se na geografsku distribuciju bolesti, uključujući varijacije između zemalja, između ruralnih i urbanih područja itd. U odnosu na vrijeme, deskriptivno epidemiološko istraživanje promatra razlike u pojavnosti bolesti između različitih sezona ili uspoređuje pojavnost promatrane bolesti u sadašnjem vremenu s razdobljem prije određenog broja godina.

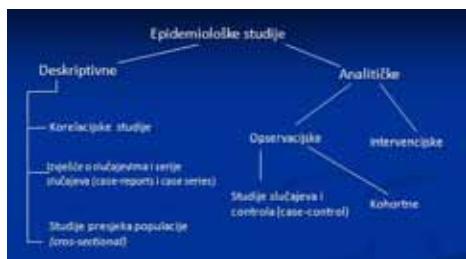
Informacije vezane za jedinke, mjesto i vrijeme pojavljivanja određene bolesti često su na dohvrat ruke (pogotovo u humanoj medicini) pa se deskriptivne studije mogu relativno brzo i uz mali trošak provesti. Rezultati ovih studija mogu biti od pomoći tijelima koje donose odluke vezane za programe kontrole bolesti u suzbijanju bolesti, planiranju preventivnih mjera i edukaciji. Nadalje, rezultati ovih istraživanja često daju naslutiti i moguće determinante bolesti. Međutim, zbog njihove ograničenosti, korisne su u formuliranju hipoteze koja će kasnije biti testirana korištenjem analitičkog dizajna istraživanja.

Deskriptivna istraživanja koriste podatke iz različitih baza podataka: statističkih ljetopisa, registara, medicinskih

Dr. sc. Miroslav BENIĆ*, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, naslovni docent (dopisni autor, e-mail: benic@veinst.hr), dr. sc. Željko MIHALJEVIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

kartona u bolnicama, klinikama i zdravstvenim ustanovama. Nadalje, koriste se nacionalni podaci o npr. potrošnji lijekova. Obzirom da su spomenuti izvori lako dostupni, a neke se informacije rutinski prikupljaju, deskriptivna se istraživanja relativno brzo mogu provesti uz male troškove izvođenja u usporedbi s analitičkim istraživanjima.

U deskriptivne studije ubrajaju se korelacijske studije, izvješća o slučajevima (*case reports*) i serijama slučajeva (*case series*).



Slika 1. Podjela epidemioloških studija

Korelacijske studije

U korelacijskim studijama mjere koje predstavljaju značajku cijele populacije koriste se kako bi se opisala pojavnost određene bolesti u odnosu na neki čimbenik rizika.

Koeficijent korelacije (r) je deskriptivna mjeru iskazivanja povezanosti u korelacijskim studijama. Koeficijent kvantificira linearnu povezanost izloženosti čimbeniku rizika i pojavnosti bolesti, odnosno iskazuje povećava li se sa svakim povećanjem stupnja izloženosti nekom čimbeniku pojavnost bolesti proporcionalno. Koeficijent korelacije kreće se u rasponu od -1 do 1.

Prednosti korelacijskih studija. Glavna prednost koja je ujedno i razlogom što su korelacijske studije najizvođenije u humanoj epidemiologiji i prvi korak u rasvjetljavanju uzročno-posljedičnih veza između određene izloženosti s bolešću je ta što se mogu relativno brzo provesti uz niske troškove, korištenjem već postojećih informacija. Državne i privatne ustanove/organizacije/agencije rutinski prikupljaju osnovne podatke o populaciji

i bolestima, a dostupni su i podatci s rezultatima nacionalnih programa kontrola/iskorjenjivanja bolesti. Ovi se podatci mogu upotrijebiti kako bi se usporedila pojavnost bolesti između regija pa i između različitih zemalja.

Glavni nedostatak korelacijskih studija je nemogućnost ekstrapolacije rezultata na pojedinačne jedinke. Rezultati se odnose na čitavu populaciju uključenu u studiju, ali ne i na jedinku. Nadalje, bitan nedostatak dizajna korelacijskih studija je što ne može kontrolirati tzv. *confounding factor*.

Podatci koji se koriste u korelacijskim studijama predstavljaju prosječnu izloženost određenom čimbeniku, a ne stupanj izloženosti pojedinačne jedinke te iste populacije. Stoga se pri prvom pogledu na rezultat korelacijske studije može činiti da je ukupna korelacija između čimbenika rizika i bolesti/stanja linearno povezana s pozitivnim ili negativnim predznakom. Međutim u stvarnosti takva povezanost može zamaskirati puno složeniju povezanost bolesti i promatranoj čimbeniku. Primjer jedne takve „zamršenosti“ iz humane epidemiologije je istraživanje korelacije između prosječne potrošnje alkohola i smrtnosti zbog srčanih i krvožilnih bolesti u kojemu je utvrđena izrazita negativna korelacija između bolesti i čimbenika (prosječna potrošnja alkohola). Podatci su ukazivali da su populacije s najvećom potrošnjom alkohola po glavi stanovnika u najmanjem riziku od smrtnosti izazvane bolestima srca i krvožilnog sustava, a da su populacije s najmanjom potrošnjom u najvećem riziku. Analitičko istraživanje na pojedincima koje je uslijedilo, ukazalo je na ne baš jednostavnu negativnu linearnu povezanost, već je ta povezanost grafički najbolje prikazana oblikom slova J. Odnosno, jedinke s najvišom konzumacijom bile su i u najvećem riziku od smrtnosti, dok su osobe koje su dnevno konzumirale malu do umjerenu količinu u manjem riziku od osoba koje nikad nisu konzumirale alkohol. Ovakva ne-linearna povezanost teško može biti identificirana u korelacijskim studijama u kojima je prosječna potrošnja prikazana za cijelu populaciju i ne odnosi se na pojedinca.

Izvješća o slučajevima (*case reports*) i serijama slučajeva (*case series*)

Dok korelacijske studije promatraju cijele populacije, izvješća o slučajevima ili serijama slučajeva opisuju jedinke ili skupine jedinki sa sličnom dijagnozom. Ovaj tip studije u kojoj pronicljivi kliničar pronalazi neuobičajene značajke bolesti ili detalje u povijesti bolesti, može dovesti do formuliranja nove hipoteze. U tom smislu ove studije predstavljaju prijelaz između klinike i epidemiologije.

Izvješća o slučajevima (*case reports*) su među češćim tipovima objavljenih studija. Dokumentiraju neuobičajene medicinske pojave i mogu predstavljati prvi trag u identifikaciji novih bolesti ili popratnih učinaka uslijed izloženosti nekim čimbenicima rizika. U humanoj epidemiologiji *case reports* su odigrali ključnu ulogu u postavljanju hipoteze kojom su razjašnjene brojne opasnosti fizičke aktivnosti na zdravlje (npr. *frisbee fingers, joggers whiplash*). Na temelju jednog slučaja formulirana je hipoteza o povećanju rizika od venske tromboembolije u žena koje su koristile oralnu kontracepciju koja je kasnije i dokazana.

Serijske slučajeva (*case series*) su kolekcija pojedinačnih slučajeva koje se mogu pojaviti u relativno kratkom vremenu. Ovaj dizajn ima povijesnu važnost jer je često korišten kao rani znak početka i/ili postojanja epidemije. I danas podatci o slučajevima koji se prikupljaju u rutinski izvođenim akcijama nadzora nad bolestima mogu ukazivati na pojavljivanje novih ili nekih bolesti koje su prividno iščezle. Istraživanje usmjereni na aktivnosti jedinki iz serije slučajeva može dovesti do formulacije nove hipoteze koju tada treba istražiti prikladnom analitičkom studijom.

U bliskoj prošlosti serija slučajeva infekcije gljivicom *Pneumocystis carinii* u ljudi dovela je do formulacije hipoteze i otkrića do tada nepoznate bolesti ljudi – infekcije HIV-om, odnosno AIDS-a.

Prednost izvješća o slučajevima i serijama slučajeva je što mogu poslužiti kao nit

vodilja u postavljanju hipoteze. Glavna zamjerka im je što se rezultati ovih studija ne mogu koristiti za izražavanje validne statističke povezanosti. Osnovni nedostatak *case report* studija je činjenica da se temelje na iskustvu samo jedne jedinke. Zapažanje prisutnosti bilo kojeg čimbenika rizika može biti čista koincidencija. Ponekad je broj pojedinačnih slučajeva u nekoj seriji slučajeva dovoljan da dopusti kvantifikaciju izloženosti nekom čimbeniku rizika. Međutim interpretacija istog je dvojbena budući da ne postoji prikladna kontrolna skupina.

Analitička epidemiologija

Analitičke studije koncipirane su na način koji omogućava istraživaču izravnu usporedbu između skupina jedinki u odnosu na izloženost nekom čimbeniku rizika te izvođenje zaključka o tome razlikuje li se učestalost promatrane bolesti/stanja u jedinkama koje su izložene čimbeniku rizika u odnosu na jedinke koje nisu izložene čimbeniku. Odnosno u istraživanje je uključena skupina za komparaciju učinka čimbenika rizika („kontrolna“ skupina) čime je omogućeno testiranje postavljene hipoteze.

Na temelju uloge samog istraživača analitičke studije podijeljene su u opservacijske i intervencijske. U opservacijskim studijama istraživač samo promatra prirodni tijek stvari koji se događa unutar promatranih skupina, bilježeći koje su jedinke izložene, a koje nisu izložene čimbeniku rizika te u kojih se pojavila bolest, a u kojih nije. U intervencijskim studijama istraživač je taj koji svrstava jedinke u skupinu izloženu čimbeniku rizika ili u skupinu koja nije izložena čimbeniku rizika (Hennekens i Buring, 1987.).

Opservacijske studije Studije presjeka populacije (cross-sectional)

U studijama presjeka populacije ili studijama prevalencije kako ih se još naziva, informacije o postojanju/nepostojanju bo-

lesti u pojedinačnih jedinki uključenih u studiju te informacije o izloženosti čimbeniku rizika uzimaju se istovremeno. Ove se studije smatraju prijelaznim tipom između deskriptivnih i analitičkih. U slučajevima kada se vrijednost varijable koja predstavlja izloženost riziku ne mijenja tijekom vremena, odnosno kada je vrijednost ista u trenutku mjerjenja kao i u vrijeme nastanka bolesti, ove se studije svrstavaju u analitičke. Ove varijable prisutne su već pri rođenju, npr. spol, boja dlake/krzna, krvna grupa i sl. Međutim, u većini studija presjeka populacije čimbenici rizika mogu se mijenjati kao posljedica razvoja bolesti. U takvim situacijama podatci se mogu koristiti za opis jedinki i formuliranje hipoteze, ali ne i za testiranje hipoteze. Vrijeme izvođenja studije može biti vezano uz neki vremenski okvir ili je to definirana vremenska točka. Podatci dobiveni ovim studijama mogu se stoga usporediti s fotografskom snimkom koja je „uhvatila“ određeni trenutak. Studije presjeka populacije osiguravaju podatke vezane uz proširenost bolesti te o njegovim karakteristikama. Podatci važni za studiju mogu se dobiti putem strukturiranog upitnika i/ili kliničkim pretragama jedinki uključenih u studiju. Oni potom služe za prosudbu prevalencije ciljanih bolesti i/ili stanja. Studije presjeka populacije mogu također poslužiti za prosudbu prevalencije bolesti u određenih podskupina populacije, kategorija životinja, pasmine, ili u humanoj epidemiologiji u ljudi određenog zanimanja (Pfeiffer, 2010.).

Prednosti studija presjeka populacije u odnosu na neke druge dizajne je što su brzo izvedive uz relativno niske troškove u usporedbi s drugim tipovima analitičkih studija. Nedostaci studija presjeka populacije proizlaze iz činjenice što se podatci o bolesti i izloženosti čimbenicima rizika uzimaju istovremeno pa nije moguće utvrditi što čemu prethodi, rizik bolesti ili bolest riziku (dilema „kokoš ili jaje“). Stoga se iz rezultata ovih studija ne može sa sigurnošću utvrditi uzročno-posljedična veza između čimbenika rizika i bolesti.

Studije slučajeva i kontrola (*case-control studies*)

U ovaj tip opservacijskih analitičkih studija uključuju se odabране jedinke na temelju činjenice imaju li (slučajevi) ili nemaju (kontrole) istraživanu bolest/stanje. Ove dvije podskupine jedinki uključenih u studiju uspoređuju se potom s obzirom na to jesu li bile izložene promatranim čimbenicima rizika ili posjeduju neke značajke od važnosti za pojavu bolesti. Ovaj dizajn otvara niz prednosti kada je u pitanju prosudba povezanosti između bolesti i izloženosti mogućem rizičnom čimbeniku za pojavu promatrane bolesti. Osmišljen je u razvijenim zapadnim zemljama u dva desetom stoljeću. Razlozi poduzimanja ovog tipa studije leže u činjenici što su u razvijenim zemljama akutne bolesti, koje su stoljećima bile glavni problem javnog zdravstva, ustupile mjesto kroničnim. Ovaj dizajn studija također nudi rješenje za poteškoće u istraživanjima bolesti s dugim latentnim periodom. Naime, nakon što istraživač identificira zahvaćene (slučajevi) i nezahvaćene (kontrole) jedinke, uzimanjem podataka o događajima koji su se već dogodili, može utvrditi koje su od jedinki uključenih u studije bile izložene rizičnim čimbenicima. Na taj način istraživač izbjegava čekanje koje bi bilo potrebno da se neka bolest razvije. Stoga su *case-control* studije u usporedbi s ostalim analitičkim studijama vremenski brže izvedive uz manje finansijske troškove. Budući da se jedinke odabiru na temelju toga imaju li ili nemaju bolest koja se istražuje, istraživač je u mogućnosti identificirati potreban broj slučajeva i kontrola koji će biti uključeni u studiju. Ovaj je dizajn naročito prikladan za istraživanje bolesti koje se rijetko pojavljuju. Naime, odabiranje nasumičnog uzorka iz opće populacije zahtijevalo bi enormno veliki uzorak kako bi se u odabranom skupu našlo dovoljno jedinki koje će razviti bolest/stanje koje je predmet istraživanja. Ovaj dizajn isto tako omogućava prosudbu povezanosti bolesti/stanja koje je predmet istraživanja sa širokim

spektrom mogućih čimbenika rizika kao i međuodnose između samih čimbenika rizika. Stoga se primjenom ovog dizajna istraživanja može provjeriti specifična hipoteza, ili u nedostatku *a priori* hipoteze, istražiti povezanost s čimbenicima rizika unutar odabranih podskupina, odnosno slučajeva i kontrola. Naročito je koristan u početnom stadiju prikupljanja znanja o nekoj bolesti ili stanju.

Glavni problem u provedbi *case-control* studija je činjenica da su se oba događaja važna za istraživanje već dogodila u vrijeme početka same studije: bolest i izloženost čimbeniku rizika. Stoga je ovaj dizajn izrazito podložan otklonu rezultata (*bias*) ukoliko se primjenjuju različiti kriteriji odabira između slučajeva i kontrola ili se stanje izloženosti čimbeniku rizika prosudjuje prema različitim kriterijima između ovih dviju skupina jedinki unovačenih u studiju, to jest ako pripadnost jednoj ili drugoj skupini utječe na primjenu različitih kriterija za prosudbu izloženosti. Premda se opasnost od otklona rezultata u ovim studijama ne može zanemariti, pažljivim planiranjem i uzimanjem u obzir mogućih izvora, ta se opasnost može smanjiti ili potpuno izbjegći. Zbog prednosti ovog dizajna nad drugim analitičkim studijama u smislu uštede vremena i mogućnosti prosudbe utjecaja čimbenika rizika godinama nakon izlaganja, ovaj analitički pristup istraživanju najčešće se primjenjuje u medicini.

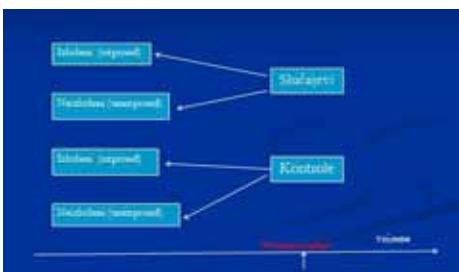
Jedna od prvih zadaća u *case-control* studijama je definiranje „slučaja“. Pod pojmom slučaj u epidemiologiji se podrazumijeva bolest u užem smislu, ali i neki drugi događaj ili stanje koje je predmet istraživanja. Bitno je da predmet istraživanja predstavlja u smislu bolesti jedinstveni entitet. Naime, neke kliničke i/ili patološke pojave imaju vrlo sličnu vanjsku manifestaciju unatoč posve različitoj etiologiji. Stoga je prije samog novačenja u studiju nužno precizno definirati kriterije bolesti. Kada su takvi kriteriji postavljeni, može početi odabiranje slučajeva iz izvora kao što su npr. klinike, bolnice

ili druge medicinske ustanove tijekom određenog vremena ili iz opće populacije u jednom trenutku ili u strogo definiranom vremenskom periodu. Odabiranje slučajeva iz bolnica (*hospital-based case-control study*) češće se koristi u planiranju i izvedbi ovih studija, jer je relativno jednostavan i jeftiniji od dizajna koji se temelji na odabiru iz opće populacije (*population-based case-control study*) i u kojem se slučajevi odabiru slučajnim odabiranjem iz unaprijed definiranog dijela opće populacije. Prednost studija temeljenih na odabiru slučajeva iz opće populacije ogleda se u činjenici što se izbjegava otklon rezultata (*bias*), odnosno izbjegnuti su seleksijski kriteriji na temelju kojih se jedinke koje su odabrale određenu medicinsku ustanovu i/ili liječnika/veterinara mogu razlikovati od opće populacije. Nadalje, rezultati studija temeljenih na populacijskom uzorkovanju predstavljaju potpuniju sliku čitave populacije. Zbog velikih troškova populacijske *case-control* studije se ne provode rutinski.

Bez obzira iz kojeg izvora potječu, slučajevi bolesti predstavljaju ili prevalentne (prisutne u jednoj vremenskoj točki) ili incidentne (novodijagnosticirane) slučajeve promatrane bolesti. Uključivanje prevalentnih slučajeva povećava veličinu uzorka, ali ujedno komplikira interpretaciju konačnih rezultata, budući da nije moguće razgraničiti period nastanka, odnosno razvoja bolesti od vremena trajanja bolesti. Ukoliko učinak izloženosti čimbeniku rizika na trajanje bolesti nije otprije poznat, u prevalentnih slučajeva nije moguće razgraničiti prognozu bolesti od duljine izlaganja potrebne da se bolest razvije (inkubacija). Budući da je vremenski slijed između izloženosti riziku i nastanka bolesti predmet istraživanja u ovim studijama, uvjek treba težiti odabiru incidentnih slučajeva, unovačenih u studiju u određenom vremenskom roku.

Izbor odgovarajućih kontrola u *case-control* studijama predstavlja najizazovniji

ji korak ovog dizajna studije. Kontrolna skupina neophodna je za prosudbu je li izloženost definiranim čimbenicima rizika ili posjedovanje određenih značajki u jedinki iz skupine slučajeva različito od očekivanih vrijednosti opaženih u skupini jedinki koje nisu bolesne. Pri izboru kontrola u obzir se uzima više elemenata: iz kojeg izvora su unovačeni „slučajevi“, usporedivost skupina, ali isto tako i cijenu koštanja. Bez obzira na način kako su unovačene bolesne jedinke, iz jedne ordinacije ili iz čitave populacije, izbor odgovarajućih kontrola mora se provesti na način ne da predstavlja čitavu populaciju, nego onaj njezin dio koji bi, da je razvio promatrano bolest, imao istu vjerojatnost za otkrivanje bolesti kao što ga imaju slučajevi uključeni u studiju. Odnosno, jedinke odabrane u kontrolnu skupinu moraju biti usporedive s jedinkama iz skupine slučajeva. Dobro dizajnirana i provedena *case-control* studija osigurava validnu prosudbu povezanosti između izloženosti čimbeniku rizika i same bolesti i u takvom slučaju rezultati se lako mogu generalizirati za čitavu populaciju. Nasuprot tomu, ako se validnost studije ugrozi pokušajem da se postigne generalizacija studije, sam manjak validnosti unaprijed isključuje mogućnost primjene rezultata na populaciju.



Slika 2. Shematski prikaz *case-control* studije

Postoji više mogućih izvora iz kojih se odabiru jedinke za kontrolnu skupinu. Bolničke kontrole predstavljaju skupinu jedinki dopremljenih u istu zdravstvenu ustanovu iz kojih su unovačene bolesne jedinke, ali zbog drugih medicinskih/

zdravstvenih razloga. Prednosti ovog načina odabira su višestruke. Prije svega, kandidati za novačenje u kontrolnu skupinu su nadohvat ruke i u dovoljnom broju pa su troškovi izvođenja manji. Nadalje, budući da su hospitalizirani, vjerojatnije je da je njihovo sjećanje o izloženosti čimbenicima rizika i događajima iz prošlosti bolje u usporedbi s potpuno zdravim jedinkama, čime je umanjena vjerojatnost otklona rezultata (*recall bias*). Nапослјетку, bolničke kontrole, baš kao i jedinke zahvaćene bolešću od interesa („slučajevi“) sklonije su suradnji i uključivanju u studiju u usporedbi sa zdravim jedinkama što opet smanjuje mogućnost otklona rezultata (*non-response bias*).

Glavna zamjerka upućena bolničkim kontrolama je činjenica da se ipak radi o bolesnim jedinkama koje se u mnogome razlikuju od zdravih jedinki, a baš te razlike mogu biti povezane s bolešću koja je predmet istraživanja. Odnosno, distribucija izloženosti čimbeniku rizika u skupini bolničkih kontrola ne mora biti pouzdani pokazatelj izloženosti tom istom čimbeniku u općoj populaciji.

Novačenje kontrolne skupine iz opće populacije izvodi se u slučajevima kada bolničke kontrole nisu poželjne iz znanstvenih razloga ili ih nije moguće novačiti iz drugih razloga. Pored toga, ako odabrani „slučajevi“ potječu iz opće populacije odabir kontrolne skupine također iz opće populacije osigurava najveći mogući stupanj usporedivosti između skupina. Izbor kontrole iz opće populacije tehnički se izvodi na više načina: iz istog domaćinstva/dvorišta odakle potječu i slučajevi, iz susjedstva, slučajnim odabirom telefonskog broja, s biračkih ili popisa pučanstva. Nedostaci novačenja iz opće populacije su višestruki. Skuplji su od bolničkog novačenja, a kvaliteta informacija dobivenih od zdravih jedinki lošija je jer se zdrave jedinke slabije sjećaju događaja iz prošlosti koji bi mogli biti važni za nastanak bolesti. Naposljetku, zdrave jedinke (odnosno, vlasnici zdravih jedinki) slabije su motivirane za sudjelovanje u ovim studijama. Jedinke

koje su voljne sudjelovati u studiji mogu se sustavno razlikovati od onih nisu voljne na način koji može biti povezan s rizikom za nastanak promatrane bolesti, što ugrožava validnost studije.

Izvori jedinki za kontrolnu skupinu mogu biti krvni srodnici, prijatelji i susjedi bolesnih jedinki. Prednosti odabirajedinki iz ovih izvora su veća zainteresiranost za sudjelovanje u usporedbi s kandidatima iz opće populacije te lakša kontrola *confounding čimbenika*. Glavni nedostatak ovog pristupa je podcjenjivanje učinka čimbenika rizika ako su krvni srodnici i/ili prijatelji uključeni kao kontrole u studiju izloženi istom čimbeniku rizika (Dos Santos Silva, 1999.).

Prednosti *case-control* studija su relativno brza izvedivost uz manje troškove u odnosu na druge analitičke dizajne; prikladne su za istraživanje bolesti s dugom latencijom te bolesti koje se rijetko pojavljuju. Mogu istražiti učinke više čimbenika rizika za jednu bolest.

Nedostatci: neprikladne su za istraživanje čimbenika rizika kojima je izložen mali dio populacije; iz rezultata se ne mogu izračunati incidencije bolesti u izloženih i neizloženih; u nekim slučajevima vremenski slijed između izloženosti i nastupa bolesti ne može se odrediti. Izrazito su sklone otklonu rezultata (*bias*) u usporedbi s drugim dizajnjima, pogotovo u selekciji jedinki i prikupljanju podataka (*selection i recall bias*).

Kao primjer CC studije iz koje se može pobliže objasniti više pojmove napisanih u ovom članku navodimo članak pod naslovom *Which dogs bite? A case-control study of risk factors*, autora Gershman-a i sur. objavljenog u časopisu *Pediatrics* (1994.). Autori su proveli CC studiju čiji je cilj bio ustvrditi čimbenike specifične za pse koji su ugrizli osobu koja nije pripadala domaćinstvu u kojem je pas držan. Predmet istraživanja dakle nije bila bolest u užem smislu riječi, nego „neki drugi događaj“, u ovom primjeru ugriz psa. Slučaj je definiran kao ugriz psa zbog kojeg je žrtva ugriza morala

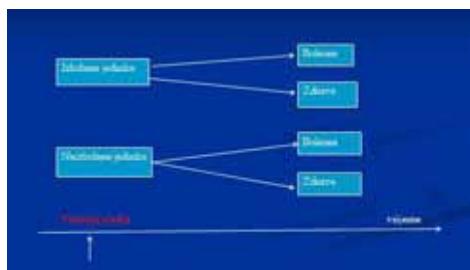
zatražiti medicinsku pomoć, a nije član obitelji kojoj pas pripada. Slučajevi su odabrani iz registra prijavljenih ugriza u Denver Animal Control u 1991. godini od pasa kojima je to bio prvi prijavljeni ugriz. Kontrolna skupina sastavljena je od pasa koji nisu imali povijest ugriza. Odabrana je u susjedstvu slučajnim odabirom telefonskih brojeva vlasnika. Prvih pet znamenki telefonskog broja moralno je biti identično u vlasnika psa odabranog u kontrolnu skupinu kao i u vlasnika čiji je pas odabran kao slučaj. Vlasnici pasa obiju skupina pasa unovačenih u istraživanje intervjuirani su telefonski.

Jedan od istraženih čimbenika rizika za sklonost psa ka ugrizu bilo je držanje psa na lancu. Vezanje psa na lanac je promjenjiv čimbenik i mogao je nastupiti kao posljedica ugriza (zbog opreza vlasnika), a ne kao pojava koja mu je prethodila. Stoga odabiranjem u studiju slučajeva iz dalje prošlosti (prevalentni slučajevi) istraživač može pogrešno protumačiti vremenski slijed između događaja koji istražuje i čimbenika rizika za njegov nastanak. Premda je u spomenutom istraživanju doista i utvrđena povezanost držanja psa na lancu sa sklonošću ka ugrizu, odabiranjem slučajeva iz daljnje prošlosti postojala bi mogućnost da ta povezanost bude statistički puno jača nego što stvarno jest. U istraživanje su stoga uključivani slučajevi iz relativno kraćeg i bližeg vremenskog perioda (incidentni slučajevi), kako su već prijavljivani u Denver Animal Control pa je sprječena mogućnost otklona rezultata.

Kohortne studije

Kohortne studije su skupina opservacijskih studija u kojima su jedinke podijeljene u skupinu izloženih i skupinu neizloženih čimbeniku rizika čiji se učinak želi istražiti. U trenutku kada je definirano stanje izloženosti čimbeniku rizika, sve uključene jedinke moraju biti slobodne od bolesti koje se istražuju. Istraživač

prati jedinke uključene u studiju tijekom određenog vremenskog perioda i bilježi pojave bolesti.



Slika 3. Shematski prikaz prospektivne kohortne studije

Kohortne studije pružaju brojne prednosti nad ostalim tipovima studija. Na početku istraživanja kada je stanje izloženosti riziku definirano, sve uključene jedinke slobodne su od bolesti pa se vremenski slijed između izloženosti i nastupa bolesti može jasnije odrediti. Nadalje, kohortne studije prikladne su za istraživanje učinka onih čimbenika rizika kojima je izložen mali dio ukupne populacije. Naime, čimbenicima rizika koji su specifični za određene skupine populacije npr. u ljudskoj populaciji su to neka rijetka zanimanja, izložena je određena skupina pa bi odabirom uzorka iz opće populacije udio izloženih jedinki bio jako malen i nedovoljan za daljnju statističku obradu i interpretaciju. Budući da se u kohortnu studiju novače jedinke na temelju njihove izloženosti čimbeniku rizika, istraživač je u mogućnosti odabrat dovoljan broj izloženih i neizloženih jedinki u studiju. Naposljetku izloženost nekom čimbeniku rizika može rezultirati s više različitih krajnjih ishoda, a kohortne studije dizajnirane su tako da ih mogu uočiti.

U kohortnim studijama obično se prati veliki broj uključenih jedinki tijekom dužeg vremenskog perioda pa su ove studije skupe i vremenski zahtjevne. Premda se ovaj dizajn smatra logičnjim, izravnijim i superiornijim u izvođenju zaključaka, ne treba smetnuti s umu da poput ostalih studija ima svoje prednosti i nedostatke. Kohortne studije manje su

sklone otklonu rezultata zbog pogreške u odabiranju jedinki (*selection bias*) nego što je to slučaj u *case-control* studijama. S druge strane, kohortne studije izložene su otklonu rezultata zbog jedinki koje napuštaju studiju (*loss to follow-up*), a što se neminovno događa ako jedinke treba pratiti duži period.

Odabiranje izložene populacije. Skupina jedinki koje će predstavljati izloženu populaciju može doći iz različitih izvora. Prilikom njihova odabira treba uzeti u obzir izvedivost studije, znanstvenu opravdanost, uključujući učestalost izloženosti koja se želi istražiti u studiji. Nadalje, treba prosuditi mogu li se za jedinke prikupiti potpune i pouzdane informacije o izloženosti te može li ih se pratiti tijekom cijelog trajanja studije.

Ukoliko se namjerava istražiti učinak čimbenika rizika koji je čest (kao što je npr. u ljudskoj populaciji pušenje), dovoljan broj jedinki može se odabrati iz brojnih dijelova populacije. Međutim ako se radi o čimbeniku kojem je izložen mali dio populacije ili neki specifični dio populacije, uputno je uključiti čitavu takvu skupinu. U populaciji ljudi to su osobe specifičnih zanimanja izložene nekim čimbenicima čiji se učinak želi istražiti (kemikalije, radni uvjeti...). U populaciji životinja to mogu biti npr. životinje na farmi izložene čimbenicima rizika koji nisu uobičajeni, a želi se istražiti njihov učinak, npr. utjecaj buke u farmama smještenima blizu velikih prometnica. Nadalje predmet istraživanja može biti učinak nekih čimbenika iz okoliša u određenim geografskim lokalitetima pa će skupinu predstavljati jedinke iz tog specifičnog lokaliteta.

Odabiranje jedinki u kontrolnu skupinu s kojom će se usporediti izložena skupina jednako je zahtjevan kao i u prethodno opisanom dizajnu. Glavno načelo pri odabiru kojim se istraživač mora voditi je sljedeće: kontrolna skupina mora u svemu biti što sličnija skupini izloženoj riziku, osim po izloženosti čimbeniku čiji se učinak istražuje. Drugim riječima, ukoliko čimbenik rizika koji je predmet istraživanja nije povezan

s određenom bolešću, učestalost bolesti bit će približno ista u objema praćenim skupinama. Pored toga, važno je osigurati prikupljanje podataka iz neizložene skupine na način i u mjeri koja jamči usporedivost s podatcima izložene skupine.

Dizajn kohortne studije može biti temeljen na odabiru samo jedne opće skupine u kojoj su odabrane jedinke podijeljene u kategorije s različitim stupnjevima izloženosti promatranom čimbeniku rizika. Prikupljeni podaci uspoređuju se između skupine koja je izložena čimbeniku s podacima iz neizložene skupine ili skupine izložene istom čimbeniku, ali drugačijeg stupnja izloženosti.

U određenim slučajevima kohortnih studija promatra se učinak više čimbenika rizika istovremeno. U tom slučaju jedinke odabrane u kontrolnu skupinu ne smiju biti izložene niti jednom od promatranih čimbenika.

U studijama koje uključuju specifične skupine izloženih jedinki (izloženost povezana sa zanimanjem) ili skupine izložene nekom čimbeniku iz okoliša, često nije moguće pronaći dio odabrane skupine za koji se sa sigurnošću može tvrditi da je neizložen čimbeniku. U takvim okolnostima u kontrolnu skupinu odabiru se jedinke iz opće populacije koja obitava u području u kojem žive i jedinke izložene čimbeniku koji se istražuje.

Izvori podataka o izloženosti odabranih jedinki su raznoliki, uključujući podatke nevezane za studiju koja se poduzima (registri, medicinska dokumentacija), informacije dobivene upitnikom ili intervj uom, podatci dobiveni testiranjem jedinke te mjerenjem na mjestu gdje odabrane jedinke žive ili rade. Podatci o bolestima/stanjima jedinki također se mogu prikupiti iz postojećih zabilješki, upitnika, intervjua ili putem pretrage. Za određene bolesti pouzdane i sigurne informacije mogu se dobiti periodičkim medicinskim pregledima. Važno je da osoblje koji provodi pregled ne zna je li jedinka koju pregledava izložena ili neizložena čimbeniku rizika koji je predmet istraživanja.

Kakav god način prikupljanja informacija o nastanku bolesti u studijskoj skupini bio odabran, važno je da bude isti i jednak primjenjen na obje podskupine, odnosno i na izložene i na neizložene članove kohorte. Primjena različitog pristupa otkrivanja bolesti između izloženih i neizloženih jedinki vodi k otklonu krajnjih rezultata (*bias*). Primjer takvog otklona rezultata iz humane epidemiologije događa se u slučaju kada se pripadnici određenog specifičnog zanimanja podvrgavaju redovitim medicinskim pregledima radi naruvi samog posla, a rezultati se uspoređuju s rezultatima poredbene skupine iz opće populacije. Krajnji rezultat je iskrivljen jer u pripadnika izložene skupine bolest ima veću mogućnost biti dijagnosticirana nego u općoj populaciji. Ukoliko je jedini podatak koji se može dobiti o poredbenoj skupini uzet iz opće populacije mrvozorničko izvješće i uzrok smrti tada se i za jedinke iz izložene skupine može uzeti samo isti takav podatak, premda za ovu skupinu mogu postojati puno opsežniji podatci.

U kohortnim studijama istraživač prati uključene jedinke određeno vrijeme od trenutka kada su bile izložene čimbeniku rizika i bilježi pojavljuje li se bolest od interesa za istraživanje. Nemogućnost prikupljanja podataka o bolesti u svake odabrane jedinke ili barem u većem dijelu, bilo u izloženoj ili neizloženoj skupini, najčešći je razlog otklona rezultata (*bias*) u kohortnim studijama. Stoga su praćenje i prikupljanje podataka o odabranim jedinkama (*follow up*) najveći izazov s kojim se suočavaju ove studije.

Period u kojem treba pratiti odabrane jedinke, odnosno interval od trenutka izlaganja čimbeniku rizika do pojave određene bolesti i/ili poremetnje različit je i ovisi o samoj bolesti/poremetnji. Kod bolesti s dugim periodom latencije taj period može biti izražen u godinama. U pravilu, što je duži period u kojem odabrane jedinke treba pratiti to je i veća potreškoća s praćenjem tih jedinki. Naročito je to izraženo u kohortnim

studijama koje se izvode u humanoj epidemiologiji zbog preseljenja, mijenjanja poslova tijekom radnog vijeka, promjena imena, gubitka kontakata s istraživačem koji provodi studiju itd. Ukoliko je podjednak broj jedinki „izgubljen“ iz obiju skupina, izložene i neizložene, rezultati su i dalje validni.

Analizom podataka dobivenih primjennom dizajna kohorte moguće je izračunati incidenciju bolesti unutar skupina uključenih u studiju. Učestalost se potom uspoređuje između izložene i neizložene skupine ili između podskupina s različitim stupnjevima izloženosti čimbeniku rizika.

Glavna prednost kohortnih studija u usporedbi s drugim tipovima dizajna je u tome što može istražiti učinke čimbenika rizika koji se rijetko pojavljuju ili im je izložen mali dio ukupne populacije. Nadalje ovim studijama može se istražiti pojавa više različitih patoloških učinaka istog čimbenika rizika i na taj način prikazati spektar posljedica koji nastupa izlaganjem jednom čimbeniku rizika. Budući da su jedinke unovačene u studiju na početku slobodne od bolesti, rezultati daju uvid u vremenski slijed u nastanku bolesti pod utjecajem čimbenika koji se istražuje. S obzirom da na početku studije još nema slučajeva bolesti značajnih za studiju, otklon rezultata (*bias*) je minimalan. Naposljetku, rezultati kohortnih studija omogućuju izravno računanje incidencije bolesti u izloženoj i neizloženoj skupini (Petrie i Watson, 2013.).

Nedostatci. Kohortna studija nije najbolji izbor za prosudbu bolesti koje se rijetko pojavljuju u općoj populaciji, osim ukoliko kohorta nije ekstremno ve-

lika ili je bolest česta u jedinki izloženih čimbeniku rizika. Ovaj tip istraživanja financijski je skup i vremenski zahtjevan u usporedbi s drugim tipovima analitičkog dizajna. Dizajn je sklon otklonu konačnih rezultata zbog jedinki koje napuste studiju tijekom njezinog trajanja. Ukoliko je udio jedinki koje napuste studiju velik (više od 30%) ili je malen, ali je na napuštanje studije utjecala saznanje o izloženosti riziku, ili pojavi bolesti, validnost rezultata studije je upitna.

Sažetak

U članku su iznesena temeljna načela deskriptivnih i opservacijskih analitičkih dizajna istraživanja u epidemiologiji. Navedeni su osnovni koraci u dizajniranju studija, načela novačenja jedinki, opasnosti u pojedinim fazama izvođenja studije te prednosti i nedostatci pojedinih studija.

Ključne riječi: epidemiologija, analitička istraživanja, dizajn studija

Literatura

- DOS SANTOS SILVA, I. (1999): Cancer epidemiology: principles and methods. International agency for research on cancer, WHO.
- GERSHMAN, K. A., J. J. SACKS and J. C. WRIGHT (1994): Which dogs bite? A case-control study of risk factors. Pediatrics 93, 913-917.
- HENNEKENS, C. H. and J. E. BURING (1987): Epidemiology in Medicine. Lippincott Williams & Wilkins, First ed.
- PETRIE, A. and P. WATSON (2013): Statistics for Veterinary and Animal Science. A John Wiley & Sons, Ltd., Publication. Third Edition.
- PFEIFFER, D. (2010): Veterinary epidemiology – An introductuion. Wiley Blackwell.
- THRUSFIELD, M. (1995): Veterinary epidemiology. Blackwell science, Second edition.

Basic Principles of Descriptive and Observational Analytic Studies in Epidemiology

Miroslav BENIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Assistant Professor, Željko MIHALJEVIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia

The article describes basic principles of descriptive and observational analytic study designs in epidemiology. The article also gives a short overview of necessary steps in designing of different types of studies, principles of

the recruitment into the study, critical points of different designs as well as advantages and shortcomings of each study design.

Key words: Epidemiology, Analytic research, Study design

POEZIJA I PRIPOVIJESTI

“Kolaž s maznice”

i „Nema sunca za sve dovoljno“

mr. sc. Stanko Petrović, dr. med. vet.

Unutar naše struke kroz povijest se spominju: sportaši, likovni umjetnici, pripovjedači, pjesnici, glazbenici itd., a ni jedan od njih nije imao u sebi toliko raznolikih umjetničkih sklonosti kao što ima kolega Stanko Petrović. U njemu su sadržane istodobno kulturno-umjetničke vrijednosti: slikarstva, kiparstva, glazbenog obrazovanja, pjesništva i na kraju pripovjedača. Uz sve te aktivnosti nije zapostavio svoju struku. Radio je kao terenski veterinar u Ivanić Kloštru u vrijeme kad su postojala bogata individualna gospodarstva s krupnom stokom. Terenska praksa i noćna dežurstva nisu ga sprječili da vrlo malo preostalog slobodnog vremena posveti svojim kulturnoumjetničkim aktivnostima u Ivanić-Gradu u kojem je u zajednici s mnogo njegovih srodnih duša. Imao je sreću da se na svom životnom putu nađe u tako velikoj i šarolikoj kulturno-umjetničkoj sredini.

Stanko Petrović, dvanaesto dijete zagrebačke radničke obitelji, rođen je 5.10.1947. Svoj je životni put posvetio prirodnim znanostima. Nakon završene gimnazije studirao je, diplomirao i magistrirao na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Nakon gimnazije školuje se za koncertnog pjevača. Školovanje financira pjevajući u profesionalnom ansamblu RTV-a, u SKUD-u „Ivan Goran Kovačić“ (solist i savjetnik za programe) i u ansamblu „Koralisti“ Zagrebačke katedrale. S KUD-om Posavec nastupao je preko 30 godina i pjevao kao solist na brojnim koncertima.



Lijepom našom iz Ivanić-Grada // Stanko Petrović // "Naš kaj"

Ljubav prema umjetnosti, posebno glazbi, naslijedio je kao obiteljski znamen. Poeziju i kratke priče piše od gimnazijskih dana i svoje rade objavljuje u raznim časopisima: Kaj, Marulić, Školske novine i drugim literalnim publikacijama. Kao doktor veterinarske medicine u neposrednom je dodiru s ljudima, prirodom i selom, što itekako ostavlja trag u njegovim pjesmama i pripovijetkama, naročito kajkavskog narječja. Sudjelovao je na susretima pjesnika: „Zeleni bregi Zeline“, u Bedekovčini – „Susreti riječi“. Piše i haiku poeziju i sudjeluje na susretima haiku pjesnika. Haiku pjesme uvrštene su mu u zbirke haiku pjesama World Haiku 2007. godine (Japan) i Mooset 2009. (Oregon, SAD) te u časopisu Iris. Član je likovne grupe „Forma 2000“ u kojoj se ostvaruje u amaterskom slikarstvu i kiparstvu.



Udruga TRI RIJEKE - haiku

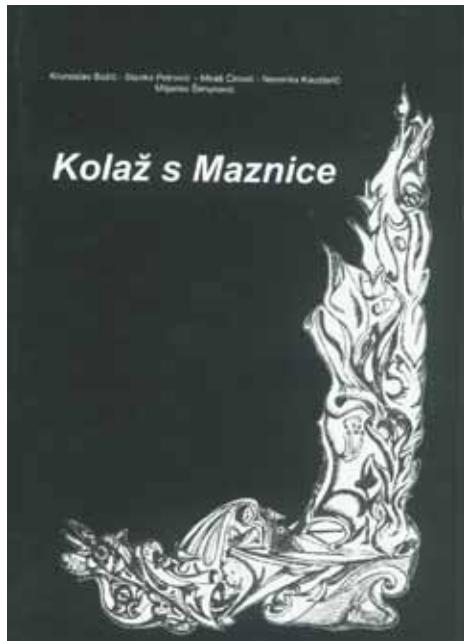
Rijeka Lonja u gradu Ivanić-Gradu
(Foto: Stjepan Rožić), Skela na Savi,
Lijevi Dubrovčak ... Stanko Petrović,
Predstavljanje knjige sjećanja na
Vladimira Devidé, ...

Posljednjih godina objavio je i predstavio svoja djela i široj publici. Godine 2010. objavljena je njegova zbirka poezije "Zrnje na vjetru" na kajkavskom narječju i na standardnom hrvatskom književnom jeziku. Kratak prikaz te knjige poezije objavljen je u časopisu Vet. Stanica (2011.) 42, 203-204. (Mensur Šehić). Nekoliko godina kasnije je jedan od autora u zbirci poezije "Kolaž s maznice". Godine 2013. u zajednici s Krunoslavom Božić, Mirašom Čirović, Nevenkom Kauzlarić i Miljenkom Šimunović objavljuje 30 pjesama. One svojim sadržajem odaju duboki i vrijedan pjesnikov duh s takvom raznolikošću koja predstavlja bogatstvo pjesnikovih misli i želja da ih prikaže na osebujan i specifičan način. Svoj bogati pjesnički dar jednim dijelom s velikom blagonaklonošću, počastio je i podario vrijednu pjesmu svom učitelju i prijatelju: Mensuru Šehiću

ODZIV

Iznad zlata
Na obzoru rumenilo.
Nije se samo suncu trudno podastrijet
uzdignutih vijeđa.
ONI ŠTO SVIJETLE uvijek, pozlate nam
pute
Pa kako nam onda misli letjet k izvoru
svjetla neće...

Kažeš li da si svjetlo, vjerujem, i ja tako višekratno tvrdih
Zbog okružja djetinje radosti što nas tobom prožima,
Okružja mira gdje nesto dah straha.
Čutim kuraž drugih tvojih nesebičnih mogućnosti,
Mrska je svaka pomisao skrnavljenja izvor – vode.
Ja sasvim siguran
Tvoj sam sljednik!
Sakupljaš nas u spiralama zajedništva
I to nisam sanjama ukrao!
U tvrdoj vjeri nit vještičja sijela, nit bilo koja sjenska rđa
Iz tih arija tmuša, naudit mi neće...
Tako mnijem uz puno štovanja Tvoje
nebrige o veličinama
i dokazima relacija,
Jer nevažno je tko je veći onome, kom
možeš se uteći
Ko uzoru!



"Kolaž maznice", je zbirka pjesama koja se osvrće na sve ono lijepo što čovjeka čini u mladosti ispunjenim te do

zrelih godina kada u čovjeka- pjesnika ulazi društveni život i socijalni nemir te kako se pjesnici nose sa svojim intimnim svijetom.



U četvrtak 28. svibnja 2015. u Ivanić-Gradu predstavljena je knjiga "Nema

sunca za sve dovoljno" koja donosi četiri priповijesti (u kojima Petrović, kao i u svojim pjesmama, pokazuje jezično bogatstvo i jednaku sposobnost izražavanja riječima u različitim dijalektima.

Stanko Petrović, pisac zbirke priповijedaka „**Nema sunaca za sve dovoljno**“ osjetio je mračnu prazninu rata ispunjenu jadom, pogledao je u oči zla, slušao njegov suludi cerek. Bio je svjedokom ubijanja iz obijesti, iz sitne osobne koristi.

Ovim priповijestima Stanko govori o trpljenju onih koje je Stvoritelj stvarao za život, govori o borbi čovjeka da sačuva čovječnost, o nastojanju plemenite životinje da sačuva svoju vrstu. Dvije priповijesti ove zbirke, *Miran i Garo*, svjedoče dirljive priče o životinjama koje u svojoj prirodi nose više ljubavi i plemenitosti nego mnogi koji sebe nazivaju ljudima. Druge dvije priповijesti *Sigrid i Magdina sreća* pričaju o ljudima u posebnim danima njihova života, onim danima koji u trenutku znaju preokrenuti sudbinu.

Mensur ŠEHIC

IN MEMORIAM Stanko Petrović, dr. med. vet.

Pripremom i predajom ovog teksta u tisak bila mi je želja da ugodno iznenadim mog dragog velikog prijatelja i kolegu Stanka. No, na našu najveću žalost zamolio sam urednika da odgodi objavu ovog teksta zbog nenadanog pogoršanja Stankovog zdravlja. Svi smo očekivali njegov brzi oporavak i povratak svojoj dragoj obitelji i prijateljima. Stanko se borio svim srcem da ostane među nama, ali na žalost izgubio je i posljednju bitku. Svaki trenutak njegova fizičkog umora popraćen je intelektualnim radom i stvaralaštvom. U prošloj godini iskazao je svoje posljednje aktivnosti u nizu manifestacija i događanja u svom voljenom Ivaniću. Onim danom velikog prijatelja na posljednjem ispraćaju voljenog Stanka očitovala se njegova vrijednost, popularnost i poštovanje svih građana Ivanića i okolnih mjesta koji su svojim tužnim i žalosnim licima zajedno s njegovom krasnom obitelji ispratili našeg dragog Stanka. U četvrtak, 14. 01. 2016. u 69. godini Stanko nas je fizički zauvijek ostavio, a u našim srcima on ostaje trajno s ljubavlju i sjećanjima na sve ono iskazano u bogatom duhu njegova zagrljaja i stvaralaštva.



1933

Zagreb

zagrebački

®

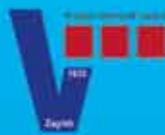
MASTITIS REAGENS



Zagrebačkim mastitis reagensom u terenskim uvjetima,
može se veoma pouzdano utvrditi zdravstveno stanje
mlijecne žljezde tj. da li je sekrecija vimena normalna ili
poremećena (patološka).



Proizvodi : Laboratorij za mastitise i kakvoću sirovog mlijeka



Savska cesta 143, 10 000 Zagreb
telefon: 01/6123666
fax: 01/6190841
e-mail: ured@veinst.hr

BRUCELOZA

Autor: Željko Cvetnić

Naslov: BRUCELOZA

Izdavači: Medicinska naklada Zagreb i Hrvatski veterinarski institut Zagreb

Godina izdanja: 2015., tvrdi uvez



Svi veterinari znaju da je brucelozza važna zoonoza, da se čovjek inficira u izravnom dodiru sa sekretima i ekskretima bolesnih životinja, putem ozlijedene kože i sluznica, inhalacijom i konzumacijom hrane podrijetlom od bruceloznih životinja. Najčešće se inficira vrstom *B. melitensis*, rjeđe *B. abortus* i *B. suis*. No samo oni koji prate recentnu stručnu literaturu znaju da su otkrivene nove vrste brucela, dokazani novi rezervoari uzročnika te da se mijenja epidemiologija ove bolesti. O tome, između ostalog, piše prof. Željko

Cvetnić, u svojoj petoj, netom objavljenoj knjizi.

Iako je brucelozza poznata još iz antičkog doba (a postoje i vrlo uvjerljivi dokazi da je utjecala na naše izravne pretke još prije 2,3 do 1,5 milijuna godina!) i danas predstavlja znanstveni izazov. U prvom dijelu knjige autor donosi najnovije spoznaje o patogenezi, imunologiji i molekularnoj tipizaciji uzročnika. Pri tome se obilato služi brojnih shematskim prikazima, dijagramima i filogenetskim stablima uzročnika te kartama njihove geografske rasprostranjenosti. Najveći dio knjige posvetio je opisu svih 11 do sada dokazanih vrsta iz roda *Brucella*, osobito bogato slikovno potkrepljujući najnovije nalaze bolesti u morskih sisavaca. Radeći godinama na dijagnostici bruceloze, kolega Cvetnić je prikupio veliku zbirku fotografija različitih vrsta oboljelih životinja kao i laboratorijskih dijagnostičkih metoda. U ovoj ih je knjizi nesebično podijelio sa čitateljima.

Zbog svojih bioloških svojstava, brucele opstaju u više različitih domaćina i raznom okruženju, što rezultira različitim načinima prijenosa. Širenje bruceloze s kopnene divljači na domaće životinje, a s njih i na ljude, moguća opstojnost na tlu te aktivni prijenos na gledavce ili potencijalno na hladnokrvne domaćine, daje brucelozu još veće značenje. Prema statističkim podatcima svake godišnje oboli oko 500 000 ljudi, no smatra se da je taj broj 25 puta veći (neprijavljeni slučajevi)! Budući da su veterari zbog prirode svoga posla ugrožena skupina, korisno se informirati o kliničkim znakovima bolesti i izloženosti različitim vrstama brucela preko životinja koje su prirodni nositelji i rezervoari, što prof. Cvetnić detaljno opisuje u ovoj knjizi.

Vlasta HERAK-PERKOVIĆ

Enrotron 100 mg/ml

Otopina za injekciju za goveda i svinje

ANIMEDICA

Što je Enrotron?

- Enrotron je injekcijski proizvod čija je aktivna tvar enrofloksacin, veterinarima dobro poznat fluorokinolon, koji se uspješno koristi u veterinarskoj praksi širom svijeta.

Enrotron 100 mg/ml, otopina za injekciju za goveda i svinje.

Sastav: 1 ml sadržava 100 mg djelatne tvari Enrofloksacina i 30 mg pomoćne tvari 1-Butanol-a.

Indikacije:

Goveda - Bolesti dišnog i probavnog sustava uzrokovane bakterijama i mikoplazmama (npr. pastereliza, mikoplazmoza, kolibaciloza, koliseptikemija i salmoneloze) i sekundarne bakterijske infekcije koje uslijede nakon virusnih infekcija (npr. virusna upala pluća), gdje kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrnjepljeno nalazom antibiograma uzročnika, upućuje da je enrofloksacin lijek izbora. Liječenje lokalnih znakova (upala, kvaliteta i količina mlijeka) pridruženih perakutnom/akutnom mastitisu mlijecnih krava u laktaciji uzrokovanih s E.coli, gdje povijest stada i raniji nalazi antibiograma upućuju da je enrofloksacin lijek izbora.

Svinja - Bolesti dišnog i probavnog sustava uzrokovane bakterijama i mikoplazmama (npr. pastereliza, mikoplazmoza, kolibaciloza, koliseptikemija i salmoneloze) i multifaktorske bolesti (koje su atrofični rinitis i enzootska pneumonija, gdje kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrnjepljeno nalazom antibiograma uzročnika, upućuje da je enrofloksacin lijek izbora).

Doze: Pročitati uputu VMP prije primjene.

Primjena tijekom graviditeta, laktacije ili

nesenja: Može se primjenjivati tijekom graviditeta i laktacije.

**PROČITATI UPUTU O VMP
PRIJE PRIMJENE**

Enrotron

Injekcijska otopina enrofloksacina
100 mg/ml

☒ Višestruke indikacije

☒ Kratka karenca za meso i mlijeko

☒ Različite mogućnosti aplikacije
(s/c, i/m, i/v)

☒ Ekonomičnost

Enrotron 100 mg/ml

Goveda, s/c:	meso i iznutrice
	12 dana
	mlijeko - 4 dana
Goveda, i/v:	meso i iznutrice
	5 dana
	mlijeko - 3 dana
Svinje, i/m:	meso i iznutrice
	13 dana

**CIJENA
90,00 kn**

**U SVIM BOLJIM
VELEDROGERIJAMA**

Savjetovanje hrvatskih veterinarskih inspektora, Opatija, 1998.

Marijan Sabolić



U organizaciji Uprave za veterinarstvo Ministarstva poljoprivrede i šumarstva Republike Hrvatske, održano je u Opatiji, od 30. do 31. ožujka 1998., Savjetovanje

hrvatskih veterinarskih inspektora. Na fotografiji su učesnici iz Varaždina. U prvom planu je dragi i uvijek rado viđeni prijatelj Veterinarske stanice Varaždin.



S lijeva na desno: Krešimir SAMOBOR, dr. med. vet., Milan VELIMIROVIĆ, dr. med. vet., dr. sc. Marijan KRAJNC, dr. med. vet., u prvom planu mr. sc. Stanko POPOVIĆ, dr. med. vet.

Mr. sc. Marijan SABOLIĆ, dr. med. vet., Veterinarska stanica Varaždin, Hrvatska



Harmonija druženja

Dehinel® Plus & Dehinel® Plus XL

1 tableta
sadržava:

flavour
tablete

febantel 150 mg
pirantel embonat 144 mg
prazikvantel 50 mg

Dehinel® Plus XL

tablete

1 tableta sadržava:

febantel 525 mg
pirantel embonat 504 mg
prazikvantel 175 mg

Antiparazitik za pse (nematocid, cestocid)

- Za pse male i srednje veličine
- Preporučena doza – 1 tableta na 10 kg tjelesne mase.
- Za uobičajen tretman dovoljna je jedna aplikacija.
- Bez veterinarskog recepta.

- Za velike i vrlo velike pse
- Preporučena doza – 1 tableta na 35 kg tjelesne mase.
- Za uobičajen tretman dovoljna je jedna aplikacija.
- Bez veterinarskog recepta.

Prije korištenja pripravka pročitajte cijelu verificiranu uputu za uporabu o glavnim karakteristikama proizvoda.



Naša inovativnost i znanje
za djelotvorne i neškodljive
proizvode vrhunske kakvoće.

In memoriam – prof. dr. sc. Aleksandar Lutkić



Prof. dr. sc. Aleksandar Lutkić rođen je u Zagrebu 16. listopada 1934. godine. Po završetku osnovnog i srednjeg obrazovanja upisao je Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Kemijski odsjek, gdje je diplomirao s odličnim uspjehom 1958. godine. Godine 1959. zaposlio se u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada JAZU u Zagrebu. Zbog vojne obvezе 1960. godine prekida znanstveno-istraživački rad, a 1961. godine izabran je za asistenta na Odjelu za biofiziku u Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada, gdje radi na istraživanjima metabolizma minerala. Tijekom 1963. godine odlazi kao asistent u Zavod za fiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Godine 1969. stekao je doktorat znanosti iz područja biokemije na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, obranivši doktorsku disertaciju pod naslovom „Struktura glikogena u različitim metaboličkim stanjima“. Potom je izabran u znanstveno-nastavno zvanje docenta obranivši habilitaciju pod naslovom „Struktura glikogena“. Tijekom 1971. i 1972. godine boravio je kao stipendist Zaklade Alexander von Humboldt, na postdoktorskom studiju u Njemačkoj, gdje je razvijajući vlastiti znanstveno-istraživački program stekao nova iskustva i znanja u okviru svog znanstvenog i stručnog interesa.

U zvanje izvanredni profesor izabran je 1974. godine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, a od 1. travnja 1978. godine radi kao redoviti profesor biokemije u Zavodu za kemiju i biokemiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Autor je brojnih znanstvenih radova, poglavlja u međunarodnim izdanjima udžbenika iz biokemije, kao i domaćeg 6. izdanja sveučilišnog priručnika Biokemija objavljenog u izdanju Medicinske naklade 2008. godine. Bio je nekoliko puta predstojnik Zavoda za kemiju i biokemiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Prof. dr. sc. Aleksandar Lutkić odlazi u mirovinu 30. rujna 2000. godine. Preminuo je u Zagrebu 26. studenoga 2015. godine.

Osoblje Zavoda za kemiju i biokemiju

Menbutil®

Menbuton 100 mg/ml

Otopina za injekciju za goveda, konje,
svinje, ovce i koze

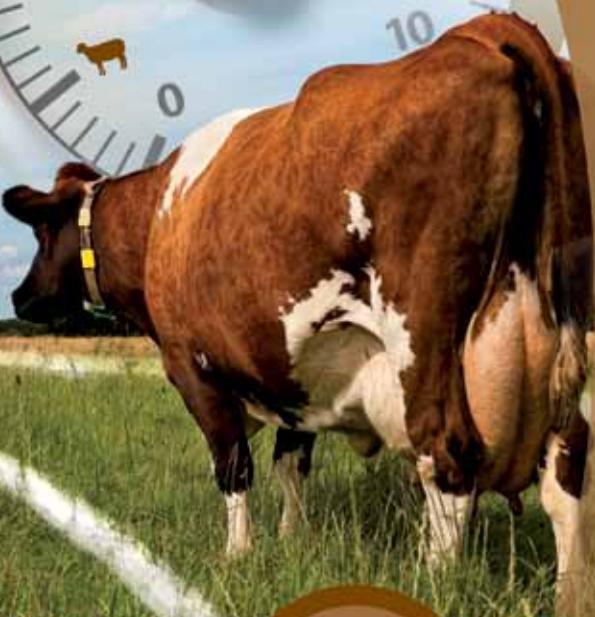
Menbutil® -djelatna tvar, menbuton, stimulira jetreno-probabavnu aktivnost kod probavnih smetnji i nedostatne funkcije jetre.

Menbuton potiče izlučivanje žuči i probavnih enzima tripsina i pepsina od strane gušterice i probavnog trakta. Pojačano izlučivanje žuči potiče bolje izbacivanje otpadnih tvari probave i optimizira metabolizam masti. Hrana, stoga, može biti bolje probavljena i učinkovitije metabolizirana. Mnoge bolesti kod životinja za posljedicu imaju smanjenje iskoristivosti hrane i probavne smetnje. Primjena Menbutila omogućava optimizaciju probave u takvim situacijama.

ANIMEDICA

CIJENA

80,00 kn



KARENCE
ZA MESO I
MLIJEKO
O DANA

Menbutil, 100 mg/mL, otopina za injekciju, za goveda, svinje, konje, ovce i koze.

Sastav: 1 mL otopine sadržava - djelatna tvar: Menbuton 100,0 mg; pomoćne tvari: Klorokrezol 2,0 mg, Natrijev metabisulfit (E223) 2,0 mg. Bistra bijelo-žuta otopina.

Indikacije: Poticanje jetreno-probabavne aktivnosti u slučajevima probavnih poremećaja i nedostatne funkcije jetre. **Doze:** Ako se u mišić daje više od 20 mL lijeka, dozu treba rasporediti na nekoliko mjestra. Kod konja je preporučena isključivo polagana primjena u venu. **Telad do 6 mjeseci, svinje, ovce i koze:** 10 mg menbutona na kg tjelesne mase treba primijeniti duboko u mišić ili polako u venu, što je jednako 1mL otopine za injekciju na 10 kg tjelesne mase. **Goveda:** 5-7,5 mg menbutona na kg tjelesne mase primijeniti polako u venu, što je jednako 1 mL otopine za injekciju na 15-20 kg tjelesne mase (npr. govedo težine 400 kg = 20-27 mL Menbutila). **Konji:** 2,5-5 mg menbutona na kg tjelesne mase primijeniti polako u venu, što je jednako 1 mL otopine za injekciju na 20-40 kg tjelesne mase. Ukoliko je potrebno, primjena se može ponoviti nakon 24 sata.

**U SVIM BOLJIM
VELEDROGERIJAMA**

**PROČITATI UPUTU O VMP
PRIJE PRIMJENE**

CILJEVI I DJELOKRUG

Cilj je časopisa pružiti međunarodnu platformu za objavljivanje članaka u području veterinarskih i životinjskih znanosti i biotehnologije. Sadržaj časopisa posebno je posvećen veterinarskoj praksi, ali i svim znanstvenicima kao i sveučilišnim nastavnicima u cilju ohrabrenja da podijele svoje znanje i istaknu na ovoj platformi. Rukopisi poslani u časopisu mogu uključivati: izvorne znanstvene radove, pregledne članke, kratka priopćenja, stručne članke, prikaze slučajeva i kongresna priopćenja te literarne zapise kao i osvrte novih knjiga na hrvatskom ili engleskom jeziku.

Tekstovi originalnih znanstvenih radova, preglednih članaka i stručnih rasprava mogu imati do 20 stranica (pisanih u MS Wordu, Times New Roman, veličina fonta 12, prored 1,5), međutim, u iznimnim slučajevima prihvatiće se i veći broj stranica. Kratka priopćenja i prikazi slučajeva do 7 stranica, a kongresna priopćenja, literarni zapisi i osvrte novih knjiga do 3 stranice.

Autore treba u tekstu citirati na sljedeći način:

- ako je jedan autor: Cvetnić (2015.).
- ako su dva autora: Džaja i Severin (2012.).
- ako su tri ili više autora: Dobranić i sur. (2008.); (Vince i sur., 2009.).

Uredništvo može zahtijevati od autora da popravi svoj rad bez da ga pošalje na istorazinsku recenziju ili ga može odmah odbiti.

Svaki originalni znanstveni rad, pregledni članak, stručna rasprava, kratko priopćenje i prikaz slučaja mora imati sažetak na engleskom jeziku, od najmanje 300-500 riječi, a ostali rukopisi moraju imati sažetak do najviše 300 riječi. Ključne riječi trebaju biti također napisane, minimalno 3-6.

Ističemo napose da svi grafikoni moraju biti izrađeni u Microsoft programima na računalu, a fotografije (analogne i digitalne) takve kvalitete da se mogu uspješno reproducirati.

Popratno pismo autora mora sadržavati:

- Izjavu o sukobu interesa

Autori su dužni objaviti svaki potencijalni sukob interesa, kao što su konsultantske, finansijske uključenosti, vlasništvo patenta, itd. Autori originalnih znanstvenih članaka moraju u trenutku podnošenja objaviti finansijski aranžman koji imaju s tvrtkom čiji je proizvod istaknut u dostavljenom rukopisu, ili s tvrtkom s kojom izrađuju kompetitivni proizvod. Takve informacije će se povjerljivo čuvati sve dok je članak na recenziji i neće utjecati na uređivačku odluku, ali ako je članak prihvaćen za objavljivanje, takvi se podatci moraju priopćiti čitatelju.

- Izjavu o etičnosti

Autori moraju potvrditi da materijal dostavljen za objavljivanje nije objavljen niti posлан za objavljivanje nigdje drugdje osim, eventualno u obliku sažetka. Uredništvo neće dopustiti objavljivanje radova koji opisuju pokusne postupke na živim životinjama za

koje se može razumno prepostaviti da su im nanijeli nepotrebnu bol ili nelagodu. Kako bi za objavljivanje bili prihvatljivi, pokusi na živim kralješnjacima ili *Octopus vulgaris* trebaju biti u skladu s propisima Europske unije te su u skladu sa smjernicama koje je donio Odbor za istraživanje i etičkim pitanjima IASP. Uredništvo zahtjeva da svaki originalni znanstveni članak dostavljen časopisu uključuje izjavu da je za istraživanje dobiveno etičko odobrenje nadležne institucije ili izjavu da isto nije bilo potrebno.

Rukopisi se ne vraćaju.

Oglasavanje veterinarsko-medicinskih proizvoda u časopisu "Veterinarska stanica" mora biti sukladno člancima 75-78 Zakona o veterinarsko-medicinskim proizvodima (Narodne novine 84/2008.) i Pravilniku o načinu oglašavanja veterinarsko-medicinskih proizvoda (Narodne novine 146/2009.). U slučaju veterinarsko-medicinskih proizvoda koji nemaju odobrenje za stavljanje u promet, od oglašivača se obvezno traži suglasnost za oglašavanje izdana od nadležnog tijela.

U pregledu literature potrebno je navoditi samo autore koji se citiraju u radu i to prema uputama koje se prilaže:

Knjiga: HAFEZ, E. S. E. (1986): Adaption of domestic animals. Philadelphia: Lea and Febinger.

Poglavlje u knjizi: MAURER, F. D., R. A. GRIESEMER and T. C. JONES (1959): African swine fever. In: DUNNE, H. W.: Diseases of swine. Ames, Iowa (145 - 158).

Dizertacija: FOLNOŽIĆ, I. (2014): Utjecaj tjelesne kondicije i pariteta na energetski, antioksidacijski i reproduksijski status visoko mlječnih krava tijekom prijelaznog razdoblja. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Zbornik referata: SANKOVIĆ, F. (1986): Kirurške bolesti u intenzivnom uzgoju preživača. Izvješća sa X. znanstvene konferencije "Veterinarska biomedicina i tehniku" (Zagreb, 15. i 16. studenoga 1984). Zbornik referata. Zagreb (suppl. S1 - S8).

Zbornik sažetaka: ČAJAVEC, S., Ljiljana MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odziv svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcincu bolesti Aujezskoga. Kongres mikrobiologa Jugoslavije (Poreč, 24. - 28. rujna 1985). Zbornik plenarnih predavanja i sažetaka priopćenja. Zagreb (104).

Časopis: CERUNDOLO, R. (2004): Generalized Microsporum canis dermatophytosis in six Yorkshire terrier dogs. Vet. Dermatol. 15, 181-187.

Predaja rukopisa:

Rukopise na hrvatskom ili engleskom jeziku treba poslati elektroničkom poštom na adresu glavnog urednika na e-mail: smarko@gef.hr

U svakom članku treba navesti:

Dopisnog autora, njegov akademski stupanj, naziv i adresu organizacije u kojoj radi, broj telefona, telefaksa i elektroničku adresu (e-mail). Isto tako treba navesti akademski stupanj i organizaciju u kojoj rade svi ostali autori.

AIMS AND SCOPE

The goal of the journal is to provide an international platform for the publication of articles in the fields of veterinary and animal sciences, and biotechnology. The content of the journal is particularly dedicated to veterinary practitioners, but also to veterinary scientists and university professors, to encourage them to share their knowledge and experience on this platform. Manuscripts submitted to the journal may include: original scientific papers, review articles, short communications, professional articles, case reports, conference reports and literary records and reviews of new book either in Croatian or English languages.

Original research papers, review articles and expert discussions may have up to 20 pages (written in MS Word, Times New Roman, font size 12, spacing 1.5); however, in exceptional cases, a larger number of pages may be accepted. Case reports may be up to 7 pages and conference reports, literary records and reviews of new books may be up to 3 pages.

In the text, references should be cited as follows:

- a) single author: Cvetnić (2015)
- b) two authors: Džaja and Severin (2012)
- c) three or more authors: Dobranić et al. (2008); (Vince et al., 2009).

The Editorial Board may require authors to improve their work without submitting it to the peer review process or may immediately reject it.

Original scientific papers, review articles, and expert discussions must have an abstract in English between minimum 300 to 500 words, while other papers must have an abstract of up to 300 words. A minimum of 3 – 6 keywords should also be provided.

All figures should be prepared using Microsoft programs, and photos (analogue and digital) should be of such quality that allows for successfully reproduction.

The Covering letter authors must include:

- a) Conflict of interest statement

Authors are required to disclose any potential conflict of interest such as consultancies, financial involvement, patent ownership, etc. Authors of research articles must disclose at the time of submission any financial arrangement they have with the company whose product features prominently in the submitted manuscript, or with a company making a competing product. Such information will be held in confidence while the paper is under review and will not influence the editorial decision, but if the article is accepted for publication, such information must be communicated to the reader.

- b) Ethical statement

The authors must certify that the material submitted for publication has not been published except in abstract form, and is not being considered for publication elsewhere. The Editorial Boards will not allow the publication of papers describing

experimental procedures on living animals which may reasonably be presumed to have inflicted unnecessary pain or discomfort upon them. To be acceptable for publication, experiments on living vertebrates or *Octopus vulgaris* should conform to the European Union's legislation and are in accordance with guidelines set by the Committee for Research and Ethical Issues of IASP. We require every research article submitted to the Journal to include a statement that the study obtained ethics approval or a statement that it was not required.

Manuscripts will not be returned.

Advertising of veterinary medicinal products in the journal Veterinarska Stanica must be in accordance with Articles 75-78 of the Act on Veterinary Medicinal Products (Official Gazette 84/2008) and the Ordinance on the advertising of veterinary medicinal products (Official Gazette 146/2009). For veterinary medicinal products that have not been granted marketing authorisation, advertisers are required to request consent for advertising from the competent authority.

The literature citations may list only the papers cited in the manuscript and according to the instructions below:

Book: HAFEZ, E. S. E. (1986): Adaption of domestic animals. Philadelphia: Lea and Febinger.

Book chapter: MAURER, F. D., R. A. GRIESEMER and T. C. JONES (1959): African swine fever. In: DUNNE, H. W.: Diseases of swine. Ames, Iowa (145 - 158).

Dissertation: FOLNOŽIĆ, I. (2014): Effect of body condition and parity on energetic, antioxidative and reproductive status in high yielding dairy cows during transition period. Dissertation. Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb.

Proceedings manuscripts: SANKOVIĆ, F. (1986): Kirurške bolesti u intenzivnom uzgoju preživača. Izvješća sa X. znanstvene konferencije "Veterinarska biomedicina i tehnika" (Zagreb, 15. i 16. studenoga 1984). Zbornik referata. Zagreb (suppl. S1 - S8).

Proceeding abstracts: ČAJAVEC, S., Lj. MARKUŠ CIZELJ, S. CVETNIĆ i M. LOJKIĆ (1985): Serološki odziv svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcincu bolesti Aujeszkoga. Kongres mikrobiologa Jugoslavije (Poreč, 24. - 28. rujna 1985). Zbornik plenarnih predavanja i sažetaka priopćenja. Zagreb (104).

Journal: CERUNDOLLO, R. (2004): Generalized Microsporum canis dermatophytosis in six Yorkshire terrier dogs. Vet. Dermatol. 15, 181-187.

Manuscripts submission:

Manuscripts should be submitted either in Croatian or English languages by electronic mail to the chief editor via e-mail: smarko@vrf.hr

All submissions should include:

Academic degree, Affiliation, Phone number, Fax number and e-mail of Corresponding author. It should also specify the Academic degree and Affiliation for all other authors.