

Akademik Slavko Cvetnić

(1929. - 2016.)

- život i djelo

Josip Madić



Akademik Slavko Cvetnić blago je u Gospodinu preminuo u subotu 30. siječnja 2016. u 87. godini života. Od njega se, po njegovoj želji, oprostila samo njegova obitelj na župnome groblju u Vukovini u ponedjeljak 1. veljače 2016.

Akademik Slavko Cvetnić bio je jedan od najistaknutijih i najuglednijih hrvatskih veterinarskih znanstvenika i stručnjaka čiji je znanstveni ugled daleko prešao okvire veterinarske struke. Njegovi suradnici i prijatelji posvjedočit će da je bio čovjek inspirativne snage

duha, jake osobnosti i samosvojnosti s postojećim životnim stavovima i moralnim načelima; čovjek iz žarišta hrvatske intelektualne sfere posvećen pregalačkom radu za opće dobro, znanstvenik izuzetno njegovane metodičnosti i prirodne sposobnosti uočavanja onoga što je bitno, naglašene nadarenosti usustavljanja svega čime se bavio ili što bi poduzimao, osoba s vrlo jakim komponentom duhovne snage i odvažnosti što ga je dovelo do pozicije glavnog tajnika Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti (HAZU). Ostavio je markantan i neizbrisiv trag u hrvatskom veterinarstvu i biomedicinskim znanostima.

Akademik Slavko Cvetnić rođen je u Mracinu 26. ožujka 1929. Još kao dječak ostao je bez oca Nikole, a kao dijete umro mu je i brat Nikola. O njegovu školovanju brinula se majka Jana. Pučku školu pohađao je u Mracinu od 1936. do 1940. Klasičnu naobrazbu stekao je u II. klasičnoj gimnaziji u Zagrebu gdje je maturirao 1948. godine. Diplomirao je 1954. na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija bio je demonstrator u Zavodu za patologiju i nagrađen je Rektorovom nagradom za studentski rad. Kadrovski rok u Jugoslavenskoj narodnoj armiji odslužio je kao rezervni vodnik 1955. u Ljubljani i Pljevljima (Crna Gora). Godinu dana (1955./1956.) bio je zaposlen u Veterinarskoj stanici Sisak. Od 1956. do umirovljenja 1994. radi na Zavodu za mi-

Dr. sc. Josip MADIĆ, dr. med. vet., akademik, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

krobiologiju i zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Doktorat iz veterinarskih znanosti stekao je 1961. na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Za docenta je bio izabran 1967., za izvanrednog profesora 1973., a za redovitoga 1978. godine. Držao je nastavu iz predmeta „Zarazne bolesti domaćih životinja“ i „Tropske zarazne bolesti životinja“ na diplomskom studiju te nastavu iz različitih kolegija na mnogim poslijediplomskim studijima.

Usavršavao se na studijskim boravcima u nekoliko inozemnih znanstvenih ustanova: Univerza Edvard Kardelj u Ljubljani – Virološki laboratorij, Tierärztliche Hochschule Hannover – Virologie (1962.), Department of Virology University of Uppsala (1964.), Bundesforschungsanstalt für Viruserkrankheiten der Tiere Tübingen (1967.), u Nizozemskoj (1968.) i Ludwig Maximilian Universität München (1977.).

Akademik Slavko Cvetnić ima izuzetno bogat znanstveni, nastavni i stručni opus. Objavio je 220 znanstvenih i stručnih radova. Od toga 79 u časopisima s međunarodno priznatom recenzijom i 13 radova na međunarodnim znanstvenim skupovima. Samostalno je napisao 7 knjiga, a 4 u suautorstvu. K tome treba pribrojiti suautorstvo i uredništvo dvaju izdanja Veterinarskog priručnika i jednu memoarsku knjigu. Sudjelovao je u radu mnogih međunarodnih znanstvenih skupova. Održao je više od 90 pozvanih predavanja ili referata, od toga 12 na međunarodnim skupovima. Ima objavljena dva patenta, a neka njegova otkrića našla su primjenu u proizvodnji cjepiva i drugim gospodarskim djelatnostima. Recenzirao je više od 800 različitih projekata, knjiga te radova u domaćim i stranim časopisima. Visoka znanstvena razina njegovih radova priskrbila mu je brojnu citiranost u međunarodnim znanstvenim časopisima.

Detaljnija analiza cjelokupne znanstveno-stručne djelatnosti akademika

Slavka Cvetnića i opširniji prikaz sadržaja njegovih znanstvenih radova i postignuća daleko bi prešao okvire ovog prikaza i iziskivao puno više prostora. Ukratko, valja naglasiti da se naročito isticao po svojim radovima s područja veterinarske infektologije, virologije i vakcinologije. Međunarodno su prepoznatljivi njegovi radovi o epizootičkim aspektima enterovirusa, ortomiksovirusa i paramiksovirusa te radovi o pripremi i provjeri učinkovitosti subjediničnih (tzv. „split vaccines“) cjepiva protiv influence te herpesvirusnih i paramiksovirusnih zaraza životinja, koji su našli svoju primjenu u praksi. Bio je među prvima i malobrojnim u svijetu koji su istraživali imunogenost HN glikoproteina virusa newcastleske bolesti, a objavio je i pionirske radove na području antivirusne kemoterapije. Posebne vrsnoće su njegova istraživanja etiologije infekcija dišnog sustava goveda, koja su rezultirala objavom mnogih znanstvenih i stručnih radova u domaćim i stranim časopisima.

Suvremenim znanstvenim štitom pokrio je područje veterinarske infektologije. Opisao je 290 zaraznih bolesti životinja te pružio cjelovitu suvremenu nastavnu građu studentima veterinarske medicine i srodnih područja objavivši knjige: Virusne bolesti domaćih životinja, Sveučilišna naklada Liber, Zagreb 1975. – 219 stranica; Virusne bolesti životinja, Sveučilišna naklada Liber, Zagreb 1977. – 337 stranica; Virusne bolesti životinja, Stvarnost – JAZU, Zagreb 1984. Ilustrirana sa 75 originalnih slika u boji – 439 stranica; Epizootiologija, Školska knjiga, Zagreb 1993. – 234 stranice; Virusne bolesti životinja, Školska knjiga, Zagreb 1997. Ilustrirana slikama u boji – 492 stranice; Bakterijske i gljivične bolesti životinja, Medicinska naklada, Zagreb 2002. – 473 stranice.

Kao vrstan i jezgrovit profesor s ogromnim iskustvom u kliničkom i laboratorijskom radu, akademik Slavko Cvetnić posvetio je veliku pozornost odgoju mladih znanstvenika. Pod njegovim vod-

stvom izrađeno je 13 znanstvenih magistarskih i 14 doktorskih radova. Većina njegovih doktoranada kasnije su se dokazali kao sveučilišni profesori te znanstvenici u timovima različitih znanstvenih instituta ili farmaceutskih tvrtki.

Bio je suosnivač triju viroloških laboratorija, član Organizacijskog odbora mnogih međunarodnih i domaćih znanstvenih skupova, voditelj 10 domaćih i dvaju međunarodnih znanstvenih projekata.

Posebno treba istaknuti mnogostruku aktivnost akademika Slavka Cvetnića u HAZU. Njegova gotovo četrdesetgodišnja povezanost s Akademijom, a posebice njegov zamašan i pregalački znanstveni i organizacijski rad i doprinos u svojstvu glavnog tajnika (2004. - 2010.) te tajnika Razreda za medicinske znanosti (1991. - 1997.) u najuglednijoj našoj znanstvenoj i umjetničkoj ustanovi ostat će na ponos svekolikoj hrvatskoj znanosti, a ponajviše hrvatskoj veterinarskoj struci. Za člana suradnika tada Jugoslavenske akademije znanosti i umjetnosti (JAZU) izabran je 1977., a reizabran 1983. godine. Za izvanrednog člana JAZU izabran je 1986., a redovitoga člana HAZU 1991. godine. Njegov izbor za glavnog tajnika HAZU je prije svega njegov veliki osobni uspjeh i njegova ogromna zasluga, ali je tim izborom na ugledu mnogo dobila i hrvatska veterinarska znanost. Nećemo pogriješiti ako ustvrdimo da mu je zadaća tajnika Razreda za medicinske znanosti povjerenja zahvaljujući njegovoj staloženosti, odlučnosti i konciznosti. S tim je svojim odlikama također stekao povjerenje akademijske zajednice da bude izabran za predsjednika Odbora za nagrade HAZU, odnosno predsjednika Odbora za dodjelu nagrada „Josip Juraj Strossmayer” – HAZU i Zagrebački Velesajam, za člana predsjedništva HAZU, člana Počasnoga odbora Europskog projekta HAZU te člana Odbora za medicinsku leksikografiju HAZU. Kao dugogodišnji voditelj Odbora za animalnu i komparativnu patologi-

ju HAZU davao je osnovni smjer aktivnostima veterinaru redovitih i suradnih članova Akademije.

Obnašao je različite dužnosti u mnogim domaćim i stranim tijelima. Bio je predsjednik Upravnog odbora Instituta za fiziologiju i patologiju animalne proizvodnje Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (1968. - 1972.), Sekcije za mikrobiologiju Saveza društava veterinaru i veterinarskih tehničara SR Hrvatske (1974.), Matične komisije za veterinu zajednice Sveučilišta SR Hrvatske (1982. - 1987.), Izvršnog odbora Društva mikrobiologa Jugoslavije (1984. - 1986.), Predsjedništva saveza društava mikrobiologa Jugoslavije (1985. - 1989.), Komisije za virusne bolesti Saveznog komiteta za poljoprivredu SR Jugoslavije (1986.), Komisije za znanstveni rad Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (1989.-), Savjeta Veterinarskog fakulteta, prisjednik (asessor) Obnoviteljskoga spravišća Plemenite općine Turopolje (1991.-), Znanstvenog vijeća Ministarstva znanosti i tehnologije R. Hrvatske (1994.), Odbora za nagrade HAZU (2001.-), Prosudbene komisije – znanstveno područje biomedicinske znanosti Ministarstva znanosti i tehnologije R. Hrvatske (2002.) te Odbora za nagrade Josip Juraj Strossmayer (2004. - 2010.).

Obnašao je i dužnost tajnika Sekcije za mikrobiologiju Saveza društava veterinaru Hrvatske, Društva veterinaru grada Zagreba te zamjenika direktora Instituta za fiziologiju i patologiju animalne proizvodnje Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

U dva je mandata bio predstojnik Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta u Sveučilišta u Zagrebu (1976. - 1981; 1993. - 1995.).

Isticao se članstvom u međunarodnim društvima i tijelima: World Association of Veterinary Microbiologists, Immunologists and Specialists in Infectious Diseases, Delegate – International Union of Microbiology Societies (IUMS), Delegate – European Federation of Biotechnology,

National representative - International Committee on Taxonomy of Viruses - Virus Data Subcommittee, National delegate of Federal Assembly of the IUMS (Berlin), Član Upravnog odbora International Union of Microbiology Societies (IUMS), WHO/FAO Committee on Bovine and Equine Picornaviruses i European Society for Veterinary Virology.

Kao član radio je u brojnim državnim, sveučilišnim i fakultetskim tijelima i povjerenstvima. Bio je član Savjeta Veterinarskog instituta Zagreb, Upravnog odbora Instituta za fiziologiju i patologiju animalne proizvodnje Veterinarskog fakulteta, Savjeta Instituta za fiziologiju i patologiju animalne proizvodnje Veterinarskog fakulteta, Savjeta Veterinarskog fakulteta, Komisije za znanstveni rad Veterinarskog fakulteta, Komisije za nagrade i odlikovanja Veterinarskog fakulteta, Komisije za knjižnicu i znanstvenu informatiku Veterinarskog fakulteta, Komisije za nagrade "Ruđer Bošković" SR Hrvatske, Predstavnik Saveza društava mikrobiologa Jugoslavije u Europskoj federaciji biotehnologa, delegat Veterinarskog fakulteta u Skupštini Sveučilišta u Zagrebu, član Vijeća savjetnika „Genetsko inženjerstvo i biotehnologija (GIBIT)" – SR Hrvatske, član Savjetodavne komisije Društva veterinara R. Hrvatske, Stalnog veterinarskog savjeta Ministarstva poljoprivrede i šumarstva R. Hrvatske, Područnog ureda za Biomedicinske znanosti Ministarstva znanosti i tehnologije R. Hrvatske, član Prosudbene skupine Ministarstva znanosti i tehnologije R. Hrvatske, član Znanstvenog područnog vijeća za biomedicinske znanosti Ministarstva znanosti i tehnologije R. Hrvatske te vanjski suradnik Plive, tvornice lijekova, Zagreb.

Akademika Slavka Cvetnića neobično je zanimala sveukupna izdavačka djelatnost u hrvatskom veterinarstvu. Uvijek je s ponosom naglašavao da naša veterinarska struka, iako brojčano mala,

ima intelektualne snage, iznimno dobro obrazovane stručnjake i materijalne mogućnosti da izdaje pet znanstveno-stručnih časopisa u kojima je u tri bio djelatnik kao predsjednik ili član znanstvenog ili savjetodavnog odbora. Posebnu brigu posvećivao je znanstvenom časopisu *Veterinarski arhiv* čiji je član Uredničkog odbora bio od 1982. do 1993., a od 1994. sve do svoje smrti bio je predsjednik Savjetodavnog odbora toga časopisa. Povrh toga založeno je radio u Uredničkom odboru (1976. – 1994.) i Izdavačkom savjetu (1995. – 2002.) časopisa *Praxis veterinaria*, Uredničkom kolegiju časopisa *Veterinarska stanica* (1978. – 2008.) te u Uredništvu sekundarnog časopisa *Veterinarstvo* (1982. –). Bio je i član Savjetodavnog odbora časopisa „Research Reports Veterinary Faculty University Ljubljana" te glavni urednik *Vjesnika Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti*.

Nemjerljiv je njegov iznimno velik trud i doprinos kao člana Uredništva Rječnika medicinskog (humanog i veterinarskog) nazivlja - Leksikografski zavod "Miroslav Krleža", Zagreb, jednog od vrlo znamenitih i velikih pothvata HAZU.

Za svoje pregalaštvo, nesebičan rad i izvanrednu znanstvenu aktivnost primio je mnoga ugledna priznanja, plakete, odlikovanja, medalje, pohvalnice i nagrade od kojih valja izdvojiti Odlikovanje predsjednika Republike dr. Franje Tuđmana Redom Danice Hrvatske s likom Ruđera Boškovića 1995., Državnu nagradu za znanost za životno djelo 2003. i Nagradu za životno djelo povodom 90. obljetnice osnutka i rada Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu 2009. godine.

Javni nastupi akademika Slavka Cvetnića na stručnim i prigodnim sastancima, radiju i televiziji zaslužuju poseban osvrt. Govorio je o različitim znanstvenim, stručnim i drugim aktualnim temama sudjelujući u 18 televizijskih i 6 radijskih emisija, a u različitim prigodama održao

je 50 predavanja ili izlaganja, najčešće na skupovima u organizaciji veterinarskih stanica te Društva veterinara i veterinarskih tehničara, Društva mikrobiologa Hrvatske, Republičke uprave za veterinarstvo – Veterinarske inspekcije i dr.

Bio je član Hrvatskog veterinarskog društva, Hrvatskog mikrobiološkog društva, International Union of Microbiology Societies, Federation of European Societies i European Society for Veterinary Virology.

Uvršten je u nekoliko izdanja knjige TKO JE TKO, Enciklopedije i drugdje. Hobi su mu bili čitanje, naročito beletristike i memoara te šetnja u prirodi.

Svoj je život proživio u sretnom i intelektualnom obiteljskom ozračju sa suprugom dr. Bosiljkom Cvetnić r. Šimić, liječnicom specijalicom oftalmologije, sinom Ratkom, književnikom i dvostrukim dobitnikom nagrade "Ksaver Šandor Gjalski", kćerima prof. dr. sc. Sanjom Cvetnić, redovitom profesoricom na Odjeku za povijest umjetnosti Filozofskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te Marijom Cvetnić, dipl. filozof, etnolog i bibliotekar, zaposlenom u Američkom veleposlanstvu u Zagrebu.

Pri kraju iznesimo i to da se akademik Slavko Cvetnić u mirovini posvetio esejističkim zapisima koje je ostavio u obliku mjestopisnih i povijesnih crtica u knjizi "Mraclin – kak je negda bilo" (Mraclin, 2009.), a govore o njegovu mladenaštvu i školovanju. U predgovoru te knjige piše: „Svoje djetinjstvo, momaštvo i cijelo školovanje, od pučke škole do gimnazije i fakulteta u Zagrebu, proveo sam u svome domu u Mraclinu. Najljepše razdoblje života svakog čovjeka – rascvjetala proljeća, topla ljeta, bogate jeseni, i snjegovite zime – mnoge radosti, ali i tuge, proveo sam uz ljude koje sam poznao i volio, koji su mene znali i prihvaćali. Uz proljetni šum nabujale Obdine, natjeravajući se bosonog s vršnjacima po mraclinskim uskim stazama, grudajući se zimi ozebljih ruku, provodio sam bezbrižne rane godine ži-

vota. Neizbrisive su uspomene na đачko i momačko doba, iako je palo u neljudsko i sumorno poslijeratno vrijeme. ... Probudile su se prve ljubavi, dogodili su se nespretni međusobni zagrljaji i prvi potajni sastanci. Živjelo se punim životom kao što se jedino živi u zreloj mladosti.”

Na drugom mjestu u istoj knjizi zapis je o njegovu školovanju: „Svakodnevno putovanje vlakom, u ono nesređeno vrijeme, znalo je biti pravi podvig. U školi su nas zvali *vlakashi*, tj. skupina učenika vezanih uz neprilagođeni red vožnje, s dolascima i odlascima vlakova katkada satima prerano, a tijekom Drugog svjetskog rata satima prekasno, a nerijetko i nikako. Naše izostanke i kašnjenja profesori nisu upisivali prvih sati nastave, a mi bismo bezglavo jurili prema školi s potvrđama o kašnjenju vlaka. ... Sjećam se dolaska na šesti (zadnji) sat nastave (tj. u 18,15 sati), a od kuće sam krenuo na vlak oko podneva. Ipak, putujući vlakom mogli smo ubrzo osjetiti kako pripadamo posebnoj, povlaštenoj skupini putnika. Učenička je čekaonica na zagrebačkom kolodvoru bila odvojena od ostalih čekaonica (II. i III. razreda). Tu smo u miru još jednom mogli pregledati zadaće ili, pogotovo u snenim jutarnjim satima, hvatati prije nastave koji trenutak uskraćena sna, odvojeni od kolodvorskih protuha i u to vrijeme uvijek prisutna mnoštva svakojakih putnika. Bilo je razdoblja kada je nastava počinjala u 8,15, a vlak (jedini ujutro za Zagreb) je već prije 6,00 bio na Kolodvoru. Da bi se stiglo na petaka (vlak koji je stizao u Mraclin u pet satu ujutro) trebalo je iz topla kreveta ustati u pola pet.”

Akademik Slavko Cvetnić mirno je i racionalno prihvatio činjenicu da mu je zloćudnost preuzela tijelo, ali nije dao da mu shrva duh i bude prepreka njegovim intelektualnim aktivnostima gotovo do zadnjeg trenutka njegova života. Njegovim preminućem izgubili smo još jednoga vrsnog znanstvenika, pregaoca na mnogim područjima hrvatske veterinar-

ske struke i biomedicinskih znanosti, obdarena vrlinama liderstva, odlučnošću, čvrstinom stavova, mudrim promišljanjem, upornošću i staloženošću. Uživao je izniman autoritet među suradnicima s naglašenom intuicijom da brzo procijeni njihovu osobnost i prepozna njihov znanstveni potencijal. Svježinu duha i prirodenu sustavnost u poslu sačuvao je do kraja što svjedoče potanke upute obitelji i suradnicima o postupanju s njego-

vom intelektualnom baštinom. Posebno je volio Turopolje i svoj Mraclin, gdje bi gotovo redovito provodio subotnji i nedjeljni odmor.

Akademika Slavka Cvetnića upamtit ćemo kao jednog od simbola Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Svojim se djelom i ugledom uvrstio u najznačajnije osobe koje su svim svojim sposobnostima promicale ugled hrvatske veterinarske znanosti i struke.



Slika 1. Izlaganje na 7. internacionalnom kongresu bujatričara. London, Royal Garden Hotel (31. srpnja 1972.)



Slika 2. Primanje državne nagrade za znanost za životno djelo Hrvatskog sabora. Nagradu predaje predsjednik Hrvatskoga sabora Zlatko Tomčić (3. srpnja 2003.)



Slika 3. Tajnik Razreda za medicinske znanosti Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti (1991. – 1997.)



Slika 4. Djelatnici Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod predstojništvom akademika Slavka Cvetnića (1979.). U prvom redu s lijeva na desno prof. dr. sc. Željko Župančić, viša laborantica Vlatka Kraft, akademik Slavko Cvetnić, viša laborantica Lucija Fingerhut, akademik Eugen Topolnik i bolničar Stjepan Ferenčak; u drugom redu su viša laborantica Dragica Živković, bolničar Slavek Vuk, bolničarka Vera Matanović, prof. dr. sc. Zvonimir Modrić, bolničarka Zlata Vuković, prof. dr. sc. Danko Hajsig, viša laborantica Katarina Trumbetaš i prof. dr. sc. Tomo Naglić.



Slika 5. Uprava Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti 2004. – 2010. Akademik Slavko Cvetnić, akademikinja Alica Wertheimer-Baletić, akademik Milan Moguš, predsjednik, akademik Pavle Dešpalj, prof. dr. sc. Slobodan Kaštela, tajnik i član suradnik



Slika 6. Posjet Istraživačkom institutu PLIVA – Kalinovica (ožujak, 2003.). Dr. sc. Stanko Čajavec, dr. sc. Ljiljana Markuš-Cizelj, akademik Slavko Cvetnić, dr. sc. Zdravka Belčić, prof. dr. sc. Josip Madić

NOVO



FYPRYST[®] combo

fipronil, S-metopren

Učinkovit na



Zaštita na pravi način!

Sastav Pipeta (0,67 ml) sadržava 67 mg fipronila i 60,3 mg S-metoprena. Pipeta (1,34 ml) sadržava 134 mg fipronila i 120,6 mg S-metoprena. Pipeta (2,68 ml) sadržava 268 mg fipronila i 241,2 mg S-metoprena. Pipeta (4,02 ml) sadržava 402 mg fipronila i 361,8 mg S-metoprena. Pipeta (10,5 ml) sadržava 50 mg fipronila i 60 mg S-metoprena. **Indikacije** Liječenje buhavalosti (*Ctenocephalides* spp.) u pasa, mačaka i tvorova. Lijek sprječava razvoj jajelaca (izvicično djelovanje), ličinki i kukuljica (servicidno djelovanje). Liječenje krpeljivosti (kodov ricinus, *Dermacentor variabilis*, *Dermacentor reticulatus*, *Rhipicephalus sanguineus*) u pasa i mačaka. Eliminacija krpelja (kodov ricinus) sa tvorova. Liječenje ušljivosti u pasa (*Trifodectes canis*). Liječenje ušljivosti u mačaka (*Felicola subrostratus*). Lijek se može koristiti u sklopu liječenja alegenjskog dermatitisa uzrokovanog buhama prethodno dijagnostičnog od veterinara. **Ciljne životinjske vrste** Psi, mačke, tvorovi. **Kontraindikacije** Preparat ne smijete uporabiti na mladunčadi mlađoj od 8 tjedana i/ili lakih od 1 kg, jer u uporabi u toj dobi nema podataka. Lijek ne smijete uporabiti na tvorovima mlađim od 6 mjeseci. Ne koristite ga na bolesnim životinjama (npr. sustavne bolesti, vrućica) i životinjama tijekom operacija. Ne koristite na kunićima jer može doći do narušavanja čak i sa smrtnim ishodom. Ne preporuča se uporaba proizvoda na nećimim životinjama vjstarna zbog nedostatka ispitivanja.

Samo za stručnu javnost.
Pažljivo pročitatte priloženu uputu prije uporabe lijeka.

KRKA-FARMA d.o.o., Radnička cesta 48/II, 10000 Zagreb
Telefon (01) 63 12 100, Telefaks (01) 61 26 739
E-mail: info@krka-farma.hr, www.krka-farma.hr

www.krka-farma.hr



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

Najčešći uzročnici mastitisa u krava i koza u Republici Hrvatskoj



L. Cvetnić, M. Benić, B. Habrun, G. Kompes, Maja Stepanić i M. Samardžija*

Uvod

Mastitis, bez obzira na uzrok, odlikuju fizičke, kemijske i bakteriološke promjene u mlijeku i parenhimu vimena (Radostits i sur., 2000.). Upala mliječne žlijezde je složena bolest prouzročena djelovanjem mikroorganizama, a na pojavu utječe i okoliš, otpornost domaćina i loš management farme (Cergolj, 2003.). Prouzroči ga najčešće široka paleta gram pozitivnih i gram negativnih bakterija i gljivica (Deb i sur., 2013.).

Upale vimena stvaraju velike štete u govedarskoj proizvodnji, industriji mlijeka i mliječnih prerađevina. Mastitis je bolest koja mliječnom govedarstvu stvara najveće gubitke (Benić, 2001.). Štete se očituju smanjenjem proizvodnje mlijeka u vimenu, prijevremenim izlučenjem krava iz uzgoja zbog propadanja dijelova (četvrti) vimena, naglim uginućem i klanjem iz nužde oboljelih krava, velikim utroškom lijekova za liječenje upale vimena i napokon, neupotrebljivošću mlijeka za prehranu i industrijsku preradu tijekom trajanja i još nekoliko dana nakon liječenja. Mlijeko (patološki sekret) iz bolesnog vimena može štetiti zdravlju ljudi jer sadrži patogene mikroorganizme i njihove toksine

(Rupić, 2010.). Pojavi bolesti doprinosi odstupanje od temeljnih zoohigijenskih i zootehničkih mjera te nepoštivanje osnovnih postulata za higijensku mužnju i veoma loše tehničko funkcionalno stanje muznih aparata (Benić, 2011.). Etiologija mastitisa je multikauzalna, nije realno očekivati da će liječenje mastitisa ikada biti u cijelosti riješeno (Cergolj, 2003.).

U literaturi se navodi da je do danas iz slučajeva mastitisa izdvojeno više od 150 različitih vrsta mikroorganizama. Najveći broj pripada bakterijama, a bolest mogu prouzročiti i gljivice (Stepanić i sur., 2014.). Cilj našeg rada je prikazati učestalost pojedinih mikroorganizama koji prouzroče pojavu mastitisa i njihovu identifikaciju u uzgojima goveda i koza u Republici Hrvatskoj u 2015. godini.

Materijali i metode

Uzimanje i dostava uzoraka mlijeka. Uzorke za mikrobiološku pretragu uzimali su veterinari na terenu ili na farmama mliječnih krava te ih slali u Hrvatski veterinarski institut, Zagreb. Tijekom 2015. u Laboratorij za mastitise i kvalitetu mlijeka dostavljeno je 3 905

Luka CVETNIĆ*, dr. med. vet., asistent, (dopisni autor, e-mail: lcvetnic@veinst.hr), dr. sc. Miroslav BENIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, naslovni docent, dr. sc. Boris HABRUN, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, naslovni izvanredni profesor, dr. sc. Gordan KOMPES, dr. med. vet., viši znanstveni suradnik, Maja STEPANIĆ, dr. med. vet., stručni suradnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet, redoviti profesor, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

sekreta vimena krava iz 10 županija i Grada Zagreba te 375 sekreta vimena koza iz Međimurske županije. Uzorci su transportirani na ledu i do obrade čuvani na +4 °C, a obrađeni su u laboratoriju unutar 12 sati od uzimanja.

Metode - obrada uzoraka u laboratoriju

Mastitis test. Svaki uzorak testirali smo Zagrebačkim mastitis reagensom, a rezultate smo prosudili prema priloženoj shemi.

Testiranjem se otkriva stupanj poremećenosti sekrecije na osnovi indirektnog dokazivanja broja somatskih stanica u sekretu mliječne žlijezde. S pomoću testatora na kojem su ugrađene četiri plitice, odjednom se mogu ispitati sve četvrti vimena. Reakcija se procjenjuje prema graduiranoj skali (Tabela 1.).

Mikrobiološka pretraga. Mikrobiološku pretragu proveli smo u skladu s opće prihvaćenim preporukama opisanima u *Laboratory handbook on bovine mastitis* (National mastitis council, 1999.).

Iz uzorka svake pojedinačne četvrti nacijepili smo količinu od 0,01 mL na četvrtinu površine Petrijeve zdjelice s hranjivom podlogom eskulin-krvni agar. Pritom smo koristili mikrobiološku

ušicu promjera 10 mm za jednokratnu uporabu.

Nacijepljene hranjive podloge inkubirali smo u termostatu pri + 37 °C tijekom 24 sata nakon čega smo pristupili kontroli porasta kolonija na površini hranjive podloge. Ostatak uzorka čuvali smo u hladnjaku pri temperaturi od 4 °C do kraja pretrage. Uzorke koji su mastitis testom reagirali pozitivno, a u kojima nije bilo porasta mikrobne kulture nakon 24-satne inkubacije, nacijepili smo još jednom na polovicu površine Petrijeve zdjelice u količini od 0,1 mL, a kontrolu porasta obavljali smo u istim vremenskim razmacima.

Nakon inkubiranja nacijepljene hranjive podloge pristupili smo determinaciji poraslih bakterijskih kolonija. Pri tome smo u obzir uzimali morfološke (oblik, veličinu i strukturu kolonija) i fiziološke osobine (stvaranja pigmenta, izazivanje CAMP fenomena, razgradnja eskulina, sposobnost zgrušavanja kuniće plazme, bojanje po Grammu).

Rezultati

Tijekom 2015. godine obrađeno je 3 905 uzoraka sekreta vimena iz 11 županija i grada Zagreba, a pozitivne reakcije utvrđene su u 767 (19,6%) dostavljenih uzoraka (Tabela 2).

Tabela 1. Prosudba rezultata mastitis testa

Prosudba reakcije	Izgled mješavine mlijeka i reagensa	BSS (*10 ³ /mL)	Prosudba
Negativna	Mješavina ostaje jednolično tekuća ili se uočavaju tanke, jasno vidljive niti.	<300	Zdravo vime
Slabo pozitivna (+)	Unutar jedne minute nastaje mnoštvo krpičastih tvorbi bez stvaranja gela.	300 - 500	Supklinički mastitis
Pozitivna (++)	Nakon nekoliko sekundi opaža se zgrušavanje poput bjelanjaka koje se daljnjim pokretanjem plitice kida po rubovima.	500 - 2 000	
Jako pozitivna (+++)	Zgrušavanje želatinoznog karaktera nastaje naglo i daljnjim pokretanjem plitice smjesa ostaje kompaktna.	2 000 - 15 000	Klinički mastitis

Tabela 2. Prikaz broja obrađenih i pozitivnih uzoraka sekreta vimena krava u 2015. godini.

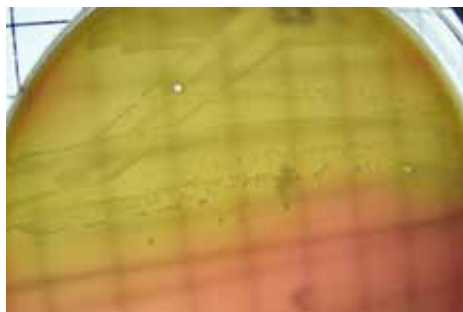
ŽUPANIJA	Broj obrađenih sekreta vimena krava u 2015. godini	Broj pozitivnih uzoraka [% pozitivnih]
Bjelovarsko - bilogorska	36	20 [55,6%]
Brodsko - posavska	7	5 [71,4%]
Grad Zagreb	2359	354 [15%]
Krapinsko - zagorska	268	70 [26,1%]
Karlovačka	19	13 [68,4%]
Ličko - senjska	1	0 [0%]
Osječko - baranjska	158	85 [53,8%]
Požeško - slavonska	10	7 [70%]
Sisačko - moslavačka	78	8 [10,3%]
Varaždinska	9	4 [44,4%]
Virovitičko - podravska	5	4 [80%]
Zagrebačka	955	197 [20,6%]
Ukupno	3 905	767 [19,6%]

Tabela 3. Izdvojeni uzročnici mastitisa u krava u Republici Hrvatskoj u 2015. godini

Izdvojeni uzročnici bakterija		Broj pozitivnih uzoraka sekreta vimena krava	% pozitivnih uzoraka sekreta vimena krava
1.	<i>Arcanobacterium (Trueperella) pyogenes</i>	39	5,1%
2.	<i>Bacillus</i>	2	0,3%
3.	<i>Citrobacter</i> spp.	1	0,1%
4.	<i>Corynebacterium bovis</i>	1	0,1%
5.	<i>Corynebacterium</i> spp.	66	8,6%
6.	<i>Enterobacter</i> spp.	5	0,7%
7.	<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0,1%
8.	<i>Enterococcus</i> spp.	45	5,9%
9.	<i>Escherichia coli</i>	34	4,4%
10.	<i>Escherichia coli</i> – β hemolitična	1	0,1%
11.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0,1%
12.	<i>Klebsiella</i> spp.	7	0,9%
13.	<i>Pasteurella</i> spp.	15	2%
14.	<i>Proteus</i> spp.	5	0,7%
15.	<i>Pseudomonas</i> spp.	8	1%
16.	<i>Serratia</i> spp.	5	0,7%
17.	<i>Staphylococcus aureus</i>	119	15,5%
18.	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	0,1%
19.	<i>Staphylococcus</i> spp.	3	0,4%
20.	<i>Staphylococcus</i> spp. [CNS]	37	4,8%
21.	<i>Streptococcus agalactiae</i>	3	0,4%
22.	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	16	2,1%
23.	<i>Streptococcus</i> spp.	106	13,8%
24.	<i>Streptococcus uberis</i>	221	28,8%
25.	Patogeni kvasci - uzročnici mastitisa	25	3,3%
Ukupno		767	100%



Slika 1. Prikaz kolonija *S. aureus* izdvojenih iz sekreta vimena krave



Slika 2. Prikaz kolonija *Streptococcus* spp. izdvojenih iz sekreta vimena krave.

Mikrobiološkom pretragom pozitivne reakcije bile su utvrđene u 767 obrađenih uzoraka. Izdvojeno je više desetaka različitih vrsta bakterija i patogenih kvasaca koji prouzroče mastitis. Najčešće su uzročnici mastitisa bile vrste *Streptococcus* (*S.*) *uberis* (28,8%), zatim *Staphylococcus* (*S.*) *aureus* (15,5%) (Slika 1.), *Streptococcus* spp. (13,8%) (Slika 2.), *Corynebacterium* spp. (8,6%), *Enterococcus* spp. (5,9%), *Trueperella pyogenes* (5,1%), *Staphylococcus* spp. (CNS) (4,8%), *Escherichia* (*E.*) *coli* (4,4%), patogeni kvasci (3,3%), *Streptococcus* (*S.*) *dysgalactiae* (2,1%), *Pasteurella* spp. (2%). Ostali uzročnici izdvojeni su u manjem postotku, a rezultati su prikazani u tabeli 3.

Tijekom 2015. obrađeno je 375 uzoraka sekreta vimena koza, a pozitivne reakcije utvrđene su u 58 (15,5%) obrađenih uzoraka. Mikrobiološkom pretragom najčešće je izdvojen *S. aureus* (7,2%), *S. dysgalactiae* (3,5%), *Staphylococcus* spp. (3,2%), *Enterococcus* spp. (1,1%) i *E. coli* (0,5%) (Tabela 4.).

Rasprava

Premda se u suvremenoj proizvodnji mlijeka primjenjuje čitava paleta preventivnih mjera u cilju sprječavanja pojave mastitisa, ova je bolest i dalje uzrok najvećih ekonomskih gubitaka u mliječnom govedarstvu (Bačić, 2009.). Mnogobrojni su razlozi nastanka mastitisa i zaražavanja mliječne žlijezde. Malo koja druga zarazna bolest bi se mogla mjeriti s mastitisom po broju mogućih uzročnika. Mnoštvo uzročnika obitava u okolišu životinja, a njihov prijenos s inficirane na neinficiranu životinju tijekom mužnje omogućen je ukoliko se prilikom mužnje ne pridržava higijenskih načela. Mastitis se češće javlja u visokoproduktivnih mliječnih krava koje žive pod stalnim stresom. Njegova pojava unutar stada je dinamično i teško predvidivo patološko stanje koje se pojavljuje širi i postupno povlači (Cergolj, 2003.).

Tabela 4. Izdvojeni uzročnici mastitisa u koza u Republici Hrvatskoj u 2015. godini

Broj obrađenih uzoraka sekreta mlijeka koza	Broj pozitivnih uzoraka mlijeka koza [%]	Izdvojeni uzročnici bakterija	Broj izdvojenih uzročnika [%]
375	58 (15,5%)	<i>Enterococcus</i> spp.	4 [1,1%]
		<i>Escherichia coli</i>	2 [0,5%]
		<i>Staphylococcus aureus</i>	27 [7,2%]
		<i>Staphylococcus</i> spp. (CNS)	12 [3,2%]
		<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	13 [3,5%]
		Ukupno	58 (15,5%)

U našem istraživanju tijekom 2015. godine pozitivne reakcije utvrđene su u 767 (19,6%) uzoraka. U istraživanjima provedenim u Hrvatskoj 1997. i 2004. godine, udio pozitivnih iznosio je 34 i 28% (Benić, 2005.). Cvetnić (2015.) je u jednom istraživanju mastitis testom dokazao pozitivne reakcije u 13,7%, a iz 13% četvrti vimena krava izdvojen je neki od uzročnika. Najčešće su izdvojeni bili *S. aureus*, streptokoki, *Trueperella pyogenes* i *Corynebacterium bovis*, rjeđe drugi uzročnici. Hristov i sur. (2005.) su na istraživanim farmama dokazali mastitise u 24,17%, zatim u 23,33% i u 18,33%. Tijekom 2015. u našim je istraživanjima najčešći izdvojeni uzročnik mastitisa u krava bio *S. uberis*. Krave se ovim uzročnikom najčešće inficiraju posredstvom okoliša, češće u fazi ranog suhostaja nego u ostalim fazama života. Stoga je u prevenciji mastitisa prouzročenih ovim uzročnikom bitan element čist i suh okoliš, pogotovo u vrijeme suhostaja (Leigh, 1999.). *S. uberis* se javlja kao jedan od najčešćih uzročnika mastitisa u Njemačkoj (Khan i sur., 2003., Lundberg i sur., 2014.). Zatim slijedi *S. aureus* koji je izdvojen iz 15,5% uzoraka. *S. aureus* je globalno jedan od najvažnijih uzročnika kontagioznih mastitisa u goveda. U ranijim istraživanjima kod nas i drugdje u svijetu bio je najčešći uzročnik mastitisa (Pavлак i sur., 2008., Maćešić, 2010.). U stadima u kojima uobičajene mjere borbe protiv mastitisa nisu uspješne, pokušava se cijepljenjem suzbiti mastitis prouzročen vrstom *S. aureus*. Međutim istraživanja u Švedskoj su pokazala da cjepiva nisu imala pozitivne učinke na zdravlje vimena i proizvodnju mlijeka u istraživanim stadima (Landin i sur., 2015.).

Na visokom mjestu po učestalosti izdvajanja su streptokoki koji su izdvojeni u 13,8% uzoraka. *S. dysgalactiae* izdvojen je iz 2,1%, a *S. agalactiae* (Slika 3.) iz manje od 1% pretraženih uzoraka. U svim dosadašnjim istraživanjima učestalost ovog



Slika 3. Prikaz kolonija *Streptococcus agalactiae* izdvojenih iz sekreta vimena krave

uzročnika bila je ispod 3%. Izdvajanje ovog uzročnika makar i u najmanjem broju ukazuje na mogući propust u prevenciji mastitisa pri zasušenju. Ovaj uzročnik skoro isključivo preživljava u mliječnoj žlijezdi. U vanjskom svijetu brzo propada pa je jedan od rijetkih uzročnika koji se može potpuno iskorijeniti iz stada. Primjena antibiotika u suhostaju uz ostale preventivne mjere učinkovita je mjera za iskorjenjivanje ovog uzročnika iz stada muznih krava (Merl i sur., 2003.). Istraživanjem kliničkog i supkliničkog mastitisa na 97 farmi u Engleskoj i Welsu dokazano je da su najčešći uzročnici bili *S. uberis* u 23,5% uzoraka, *E. coli* u 19,8%, stafilokoki (CNS) u 15%, *S. aureus* u 10% te *Corynebacterium* u 10% uzoraka (Bradley i sur., 2007.).

Nešto češće nego u ranijim istraživanjima izdvojene su bakterije iz roda *Corynebacterium* (8,6%) te vrsta *Trueperella* (*T.*) (*Arcanobacterium*) *pyogenes* (5,1%). Korinebakterije se smatraju blago patogenima, koloniziraju sisni kanal i izazivaju blagi porast broja somatskih stanica i jedva primjetno manju količinu mlijeka. Posljedice su blage infekcije pa se teže zapažaju. U odnosu na rezultate nekih ranijih istraživanja veća je zastupljenost uzročnika *T. pyogenes*. Ovaj uzročnik vrlo često izaziva gnojne upale. Osim mastitisa izaziva promjene i u drugim organima i organskim sustavima. Povezan je s tzv. ljetnim mastitisom koji je veći zdravstveni problem u zemljama

sjeverne Europe. Smatra se da muhe sudjeluju u širenju uzročnika s inficiranih na zdrave životinje (Zastempowska i Lassa, 2012.). U značajnijoj mjeri izdvojen je *Enterococcus* sp. (5,9% uzoraka). Sličan nalaz opisan je i u jednom istraživanju u Švicarskoj gdje je *Enterococcus* izdvojen iz 5,3% istraživanih uzoraka (Rüegsegger i sur., 2014.).

Učestalost ostalih uzročnika je relativno niska i sporadična. Neki od ovih uzročnika mogu biti smrtonosni, kao što je to u slučaju infekcije bakterijom *E. coli*. *E. coli* prouzroči upalu mliječne žlijezde u mliječnim krava oko porođaja i tijekom rane laktacije. Očituje se lokalnim simptomima premda ponekad prouzroči teške poremetnje zdravstvenog stanja. Ova bolest često pogađa visokomliječne krave, a u najtežim slučajevima prouzroči i uginuća (Burvenich i sur., 2003.). Razlog zašto je prevalencija niska u ovakvim sustavnim istraživanjima je činjenica što infekcije traju kratko. Mogućnost za uspješno izdvajanje bakterije *E. coli* iz upalom zahvaćene mliječne žlijezde veća je što je uzorak za pretragu uzet prije pojave prvih simptoma mastitisa. Smatra se da već nakon 5-6 sati od pojave prvih u sekretu simptoma više nema živih bakterija. Kliničke promjene nastaju djelovanjem endotoksina koji se oslobađaju iz mrtvih bakterijskih stanica. U jednom istraživanju u SAD-u dokazano je da unatoč dobroj dezinfekciji vimena oportunistički uzročnici mastitisa poput *Klebsiella* spp. ostaju i dalje u blizini vimena i uvijek mogu prouzročiti mastitis (Munoz i sur., 2008.). U našem istraživanju *Klebsiella* spp. dokazana je u 1% uzoraka.

Tijekom našeg istraživanja pozitivne reakcije su dokazane na 15,5% dostavljenih uzoraka sekreta vimena koza. Najčešće je dokazan *S. aureus* u 7,2% dostavljenih uzoraka, zatim *S. dysgalactiae* u 3,5%, *Staphylococcus* spp. (CNS) u 3,2%, *Enterococcus* spp. u 1,1% i *E. coli* u 0,5% uzoraka. Bergonier i sur. (2003.) navode da se u malih preživaca češće javljaju kronični

zarazni mastitisi, a stafilocoki su glavni etiološki uzročnici mastitisa u koza. Koop i sur. (2012.) ističu da je *S. aureus* uzročnik od primarnog interesa u mliječnom kozarstvu. Rutinskom pregledom pet stada koza u Italiji mastitisi su dokazani u 40,2% uzoraka, a najčešće su dokazani koagulaza-negativni stafilocoki (CNS) u 80% uzoraka, zatim *Staphylococcus epidermidis* (38%), a *S. aureus* u 6%, a drugi mikroorganizmi iz okoliša dokazani su u 14% uzoraka (Moroni i sur., 2005.). McDougall i sur. (2014.) u jednoj regiji u Novom Zelandu pozitivne bakteriološke rezultate iz sekreta vimena koza dokazali su u 23,3% uzoraka, a najčešći dokazani uzročnici mastitisa bili su koagulaza-negativni stafilocoki (CNS) u 13,4% i *Corynebacterium* spp. u 7,3% uzoraka. Zhao i sur. (2015.) u jednom istraživanju u Kini pozitivne reakcije su dokazali u 45,8% koza. Najčešće su dokazani koagulaza-negativni stafilocoki (59,5%), *S. aureus* u 15,2%, *E. coli* u 11,4% i *Streptococcus* spp. u 10,9% istraživanih uzoraka.

U većini slučajeva mastitisa radi se o supkliničkim infekcijama koje se očituju samo povećanjem broja somatskih stanica. Pri otkupu sirovog mlijeka vrlo se često problem u stadu otkriva rutinskom kontrolom broja somatskih stanica. Mlijeko s povećanim brojem somatskih stanica nije prihvatljivo za otkup i daljnju preradu pa su štete u slučaju zabrane prodaje mlijeka velike. Međutim, puno su veće gospodarske štete koje nastaju zbog smanjene proizvodnje mlijeka u krava s infekcijom mliječne žlijezde. Diljem svijeta postoje podatci o procjeni ekonomskih gubitaka zbog kliničkih mastitisa. Taj raspon se kreće od 61 do 178 eura po kravi na farmi. Međutim, postoje velike razlike između farmi. U Nizozemskoj se navodi da troškovi mogu varirati od 17 do 198 eura (Hogeveen i sur., 2011.). Talijanski autori izračunali su da po svakoj kravi u stadu gubitak zbog mastitisa iznosi između 55 i 113 eura (Picinini i sur., 2003.).

Javno-zdravstveno značenje dijagnostike mastitisa u suvremenoj proizvodnji mlijeka proizlazi iz prethodno navedenih činjenica. Brojnost i šarolikost mogućih uzročnika, različit put širenja i preživljavanja uzročnika u okolišu razlozi su koji idu u prilog neophodnosti mikrobiološke pretrage. Neki od uzročnika mogu ugroziti ljudsko zdravlje. Treba spomenuti različit stupanj osjetljivosti istovrsnih bakterija prema istim antibiotskim tvarima. Odnosno, bakterije su u stanju steći i prenijeti rezistenciju prema antibiotskim tvarima na druge, taksonomski srodne i nesrodne, pripadnike bakterija. Budući da je antibiogram sastavni dio mikrobiološke pretrage, neupitna je važnost mikrobiološke pretrage u samoj dijagnostici bolesti, ali i u praćenju trenda pojave i širenja rezistencije prema antibioticima.

Sažetak

U radu su opisani rezultati mikrobioloških pretrage sekreta vimena krava i koza tijekom 2015. godine. Pozitivne reakcije bile su utvrđene u 767 (19,6%) od 3 905 obrađenih uzoraka. Najčešće su uzročnici mastitisa bile vrste *S. uberis* (28,8%), zatim *S. aureus* (15,5%), *Streptococcus* spp. (13,8%), *Corynebacterium* spp. (8,6%), *Enterococcus* spp. (5,9%), *Trueperella pyogenes* (5,1%), *Staphylococcus* spp. (CNS) (4,8%), *E. coli* (4,4%), patogeni kvasci (3,3%), *S. dysgalactiae* (2,1%), *Pasteurella* spp. (2%). Ostali uzročnici (*Bacillus*, *Citobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*) izdvojeni su u manjem postotku. Mikrobiološkom pretragom obrađeno je 375 uzoraka sekreta vimena koza, a pozitivne reakcije utvrđene su u 58 (15,5%) obrađenih uzoraka. Najčešće je izdvojen *S. aureus* (7,2%), *Streptococcus dysgalactiae* (3,5%), *Staphylococcus* spp. (3,2%), *Enterococcus* spp. (1,1%) i *E. coli* (0,5%).

Ključne riječi: uzročnici mastitisa, mikrobiološka pretraga, ovca, koza

Literatura

- BAČIĆ, G. (2009): Dijagnostika i liječenje mastitisa. (Ur. G. Bačić, S. Vince i N. Maćešić). Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- BENIĆ, M. (2001): Mastitisi – suszbijanje mastitisa i kakvoća mlijeka na obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima. Projekt „Razvitak službi za potporu obiteljskim poljoprivrednim gospodarstvima. Hrvatski veterinarski institut, Zagreb.
- BENIĆ, M. (2005): Učestalost mastitisa prije i poslije donošenja pravilnika o kakvoći svježeg sirovog mlijeka. Vet. stn. 36, 233-238.
- BENIĆ, M. (2011): Mastitisi u krava. Mljekarski list 3, 1-12.
- BERGONIER, D., R. DE CREMOUX, R. RUPP, G. LAGRIFFOUL and X. BETHELOT (2003): Mastitis of dairy small ruminants. Vet. Res. 34, 689-716.
- BRADLEY, A. J., K. A. LEACH, J. E. BREEN, L. E. GREEN and M. J. GREEN (2007): Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. Vet. Rec. 160, 253-257.
- BURVENICH, C., V. VAN MERRIS, J. MEHRZAD, A. DIEZ-FRAILE and L. DUCHATEAU (2003): Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. Vet. Res. 34, 521-564.
- CERGOLJ, M. (2003): Čimbenici koji sudjeluju pri nastanku mastitisa. Veterinarski dani (Šibenik, 9.-12. listopada 2003.). Zbornik radova str. 99-105.
- CVETNIĆ, L. (2015): Važnost sustavne kontrole zdravlja mliječne žlijezde u proizvodnji kravljeg mlijeka. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- DEB, R., A. KUMAR, S. CHAKRABORTY, A. K. VERMA, R. TIWARI, K. DHAMA, U. SINGH and S. KUMAR (2013): Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: a review. Pak. J. Biol. Sci. 16, 1653-1661.
- HOGVEEN, H., K. HUIJPS and T. J. LAM (2011): Economic aspects of mastitis: new developments. N. Z. Vet. J. 59, 16-23.
- HRISTOV, S., B. STANKOVIĆ i R. RELIĆ (2005): Klinički i subklinički mastitis. Biotechn. Anim. Husb. 21, 29-39.
- KHAN, I. U., A. A. HASSAN, A. ABDULMAWJOOD, C. LÄMMLER, W. WOLTER and M. ZSCHÖCH (2003): Identification and epidemiological characterization of *Streptococcus uberis* isolated from bovine mastitis using conventional and molecular methods. J. Vet. Sci. 4, 213-224.
- KOOP, G., M. NIELEN and T. VAN WERVEN (2012): Diagnostic tools to monitor udder health in dairy goats. Vet. Q. 32, 37-44.
- LANDIN, H., M. J. MÖRK, M. LARSSON and K. P. WALLER (2015): Vaccination against *Staphylococcus aureus* mastitis in two Swedish dairy herds. Acta Vet. Scand. 57, 81-86.
- LEIGH, J. A. (1999): *Streptococcus uberis*: a permanent barrier to the control of bovine mastitis? Vet. Q. 157, 225-238.
- LUNDBERG, A., A. NYMAN, H. E. UNNERSTAD and K. P. WALLER (2014): Prevalence of bacterial genotypes and outcome of bovine clinical mastitis due to *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis*. Acta. Vet. Scand. 56, 80-86.

18. MERL, K., A. ABDULMAWJOOD, C. LÄMMLER and M. ZSCHÖCK (2003): Determination of epidemiological relationships of *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitis. *FEMS Microbiol. Lett.* 226, 87-92.
19. MAČEŠIĆ, N. (2009): Učinkovitost pojedinih metoda zasušivanja krava. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
20. McDOUGALL, S., D. MALCOLM and C. PROSSER (2014): Prevalence and incidence of intramammary infections in lactating dairy goats. *N. Z. Vet. J.* 62, 136-145.
21. MORONI, P., G. PISONI, G. RUFFO and P. J. BOETTCHER (2005): Risk factors for intramammary infections and relationship with somatic-cell counts in Italian goats. *Prev. Vet. Med.* 9, 163-173.
22. MUNOZ, M. A., G. J. BENNETT, C. AHLSTRÖM, H. M. GRIFFITHS, Y. H. SCHUKKEN and R. N. ZADOKS (2008): Cleanlines scores as indicator of *Klebsiella* exposure in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91, 3908-3916.
23. National Mastitis Council (1999): Laboratory handbook on bovine mastitis. National Mastitis Council inc., Madison, WI 53704-6797, U.S.A. Revised Edition.
24. PAVLAK, M., M. BENIĆ, D. CVITKOVIĆ and M. TADIĆ (2008): Epidemiological data of intramammary infection in cattle – a quantitative analysis of published data. XVI. kongres Mediteranske federacije za zdravlje i produktivnost preživača, Zadar. Zbornik radova, str. 97-112.
25. PICCININI, R. E., L. BINDA and A. ZECONI (2003): Prevalence study on bulk milk tank cultures in 1000 dairy herds in Lombardia (Italy). 42nd NMC Annual Meeting. Pp. 396-397.
26. RADOSTITS, O. M., C. C. GAY, D. C. BLOOD and W. HINCHLIFFK (2000): Veterinary medicine. Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. 9th ed., pp. 603-700.
27. RÜEGSEGG, F., J. RUF, A. TSCHOUR, Y. SIGRIST, M. ROSSKOPF and M. HÄSSIG (2014): Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens of dairy cows in Switzerland. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 156, 483-488.
28. RUPIC, V. (2010): Zaštita zdravlja životinja 3 - Fiziologija i patologija reprodukcije. Bolesti vimen, str. 273-299.
29. STEPANIĆ, M., M. BENIĆ, B. HABRUN, G. KOMPES i M. PERKOVIĆ (2014): Uzočnici mastitisa niske pojavnosti. *Vet. stn.* 44, 41-47.
30. ZASTEMPOWSKA, E. and H. LASSA (2012): Genotypic characterization and evolution of an antibiotic resistance of *Trueperella pyogenes* (*Arcanobacterium pyogenes*) isolated from milk dairy cows with clinical mastitis. *Vet. Microbiol.* 161, 153-158.
31. ZHAO, Y., H. LIU, X. ZHAO, Y. GAO, M. ZHANG and D. CHEN (2015): Prevalence and pathogens of subclinical mastitis in dairy goats in China. *Trop. Anim. Health Prod.* 47, 429-435.

Most Common Causes of Mastitis in Cows and Goats in Republic of Croatia

Luka CVETNIĆ, DVM, Assistant, Miroslav BENIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Assistant Professor, Boris HABRUN, DVM, PhD, Scientific Advisor, Associate Professor, Gordan KOMPES, DVM, PhD, Senior Scientific Advisor, Maja STEPANIĆ, DVM, Expert Associate, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia; Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia

This paper describes the results of microbiological analysis of udder secretion of cows and goats during 2015. Positive reactions were identified in 767 (19.6%) of the 3 905 samples tested. The most common causative agents of mastitis were the species *Streptococcus uberis* (28.8%), followed by *Staphylococcus aureus* (15.5%), *Streptococcus* spp. (13.8%), *Corynebacterium* spp. (8.6%), *Enterococcus* spp. (5.9%), *Trueperella pyogenes* (5.1%), *Staphylococcus* spp. (CNS) (4.8%), *Escherichia coli* (4.4%), pathogenic yeast (3.3%), *Streptococcus dysgalactiae* (2.1%), *Pasteurella*

spp. (2%). Other agents (*Bacillus*, *Citobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*) were isolated at lower frequencies. A total of 375 goat udder secretion samples were examined microbiologically, and positive reactions were found in 58 (15.5%) samples. The most common species isolated were *Staphylococcus aureus* (7.2%), *Streptococcus dysgalactiae* (3.5%), *Staphylococcus* spp. (3.2%), *Enterococcus* spp. (1.1%) and *Escherichia coli* (0.5%).

Key words: Causes of mastitis, Microbiological examination, Sheep, Goat

Elektroliti u krvi pilića nakon primjene kokcidistika maduramicina, monenzina i diklazurila

Ines Varga, Nina Bilandžić*, Ivana Varenina, Božica Solomun Kolanović,
Đurđica Božić Luburić, L. Cvetnić i M. Mitak



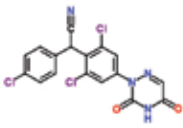
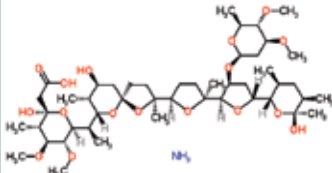
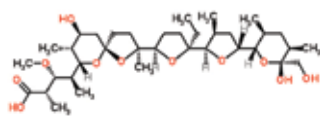
Uvod

S obzirom na ostale bakterijske bolesti kokcidioza pilića predstavlja drugi najveći problem u svijetu (Kaufmann, 1996.). Kokcidioza pripada skupini protozoa prouzročena parazitom kokcijom (Flanders i Gillespie, 2015.). U pilića je opisano devet različitih vrsta *Eimeria* spp.: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. mivati*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. tenella* i *E. hagani*. Međutim, upitno je postojanje *E. hagani* i *E. mivati* te se u praksi u obzir uzima samo sedam vrsta (Peek, 2010.). Ovom bolešću često su pogođene ptice između 3 i 8 tjedana starosti (Flanders i Gillespie, 2015.). Nekada se kokcidioza nakon pojave prvih simptoma liječila kemoterapijom. S vremenom je utvrđeno da takva vrsta liječenja nije dobra jer izaziva više štete nego koristi. Iz tog se razloga danas, na gotovo sve brojere u peradarstvu, primijenjuje preventivno liječenje dodavanjem kokcidistatika u stočnu hranu kako bi se kontrolirao rast u probavnom traktu (Kaufmann, 1996., Kindschi, 2010.).

Postoji veliki dio lijekova koji su dostupni za prevenciju i liječenje kokcidioze (Dubois sur., 2004.). Diklazuril (Tabela 1) je derivat benzenacetonitrila, širokog spektra djelovanja koji se u peradi koristi kao kokcidistatik. Mehanizam djelovanja diklazurila nije u potpunosti poznat, no on je široko rasprostranjen u tkivima i ima dugo poluvrijeme eliminacije u ptica i sisavaca (Božić i sur., 2012.). Komercijalno se diklazuril dodaje u hranu za perad u koncentraciji od 1 mg/kg. Polieterski ionofori monenzin i maduramicin (Tabela 1) imaju široku primjenu kao prehrambeni dodatci u peradarskoj industriji za sprječavanje i kontrolu kokcidioze, a dodaju se u koncentraciji 60–125 mg/kg (monenzin) i 5 mg/kg (maduramicin). Kod brojlera kokcidistatici se koriste tijekom cijelog životnog vijeka dok je kod ptica nesilica uporaba zabranjena. Zbog opsežne uporabe kokcidistatika sigurnost tih spojeva je ispitana u mnogim pokusima na životinjama (Rokka i sur., 2013.).

Ines VARGA, mag. primj. kem., dr. sc. Nina BILANDŽIĆ*, dipl. ing. biotehnol., znanstvena savjetnica (dopisni autor, e-mail: bilandzic@veinst.hr), dr. sc. Ivana VARENINA, dipl. ing. biotehnol., Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, dipl. ing. preh. tehnol., Đurđica BOŽIĆ LUBURIĆ, dipl. ing. biotehnol., Luka CVETNIĆ, dr. med. vet., asistent, dr. sc. Mario MITAK, dr. med. vet., Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

Tabela 1. Strukture kokcidostatika: diklazuril, maduramicin i monenzin.

Naziv	Diklazuril	Maduramicin	Monenzin
Struktura			

Kemijska analiza krvi i seruma koristi se za dijagnozu i karakterizaciju bolesti te za procjenu općeg zdravlja u većini životinjskih vrsta (Andreasen i sur., 1996., Simaraks i sur., 2004.). U peradi se manje upotrebljava vjerojatno zbog relativno niske ekonomske vrijednosti pojedinih životinja. Međutim, kemijska analiza je koristan istraživački ili dijagnostički alat, posebice za bolesti kod kojih je slabo poznata patogeneza (Andreasen i sur., 1996.). S ciljem interpretiranja laboratorijskih podataka nužno je utvrđivanje referentnih intervala, tj. normalnih (referentnih) vrijednosti. Ti se intervali utvrđuju na zdravim životinjama koje pripadaju istoj populaciji kao i bolesne životinje (Harvey, 2012.). Ovdje valja napomenuti da referentne vrijednosti ovise o različitim parametrima. Dob, spol, vrsta i prehrana ptice uvelike utječe na biokemijske parametre (Albokhadaim i sur., 2012.). Mnoge referentne vrijednosti određene su u serumu ili plazmi. Neki autori smatraju da je plazma superiorna serumu za analizu krvi u pticu (Hochleithener, 1994.). Različite abnormalnosti kod ptica odražavaju se na biokemijske funkcije i elektrolite u organizmu (Simaraks i sur., 2004.).

Elektroliti su prisutni u svim unutar i izvanstaničnim tjelesnim tekućinama, no njihova se koncentracija mjeri isključivo u krvi, plazmi i serumu (Thrall i sur., 2012.). Kalij

(K) je uz kalcij (Ca) i fosfor (P) treći najzastupljeniji mineral u životinja. Najviše ga nalazimo u mišiću (56%) te je u potpunosti prisutan unutar stanica. U tkivima i stanicama prisutan je u ionskom obliku. Glavne funkcije K su održavanje ravnoteže vode, osmotskog tlaka i kiselo-bazne ravnoteže, aktiviranje enzima, metaboliziranje ugljikohidrata i proteina, reguliranje neuromuskularne aktivnosti (zajedno s Ca) i otkucaja srca. Kalij je posebice važan u ishrani pilića i purica tijekom prvih 8 tjedana. Isto tako, utječe i na nesilice pri čemu osigurava dobru proizvodnju jaja, težinu jaja i debljinu ljuske (Anonymous, 1998.). Veliki dio Na prisutan je u životinjama u mekom tkivu i tjelesnim tekućinama. Kao i K, Na je isto tako zadužen za kiselo-baznu ravnotežu i regulaciju osmotskog tlaka u tjelesnim tekućinama. Glavni je kation krvne plazme i ostalih izvanstaničnih tekućina. Koncentracija Na unutar stanica je relativno niska za razliku od većih koncentracija K i magnezija (Mg). Natrij također sudjeluje u prijenosu živčanih impulsa, apsorpciji šećera i aminokiselina iz probavnog trakta (McDonald i sur., 2010.).

U ovom radu provedeno je istraživanje koncentracija elektrolita K^+ i Na^+ u krvi pilića u svrhu utvrđivanja eventualnih promjena nakon primjene kokcidostatika maduramica, monenzina i diklazurila.

Materijali i metode

Eksperiment i uzorkovanje krvi

U istraživanju su korišteni pilići brojleri nabavljeni iz komercijalnog uzgoja starosti 1 dan. Pilići su hranjeni *ad libitum* komercijalnom hranom za piliće tijekom 30 dana. Pilići starosti 30 dana podijeljeni su na pokusne skupine. Kontrolna skupina (K) sastojala se od 25 pilića koji nisu tretirani kokcidiostaticima. Pokusne skupine pilića (P), ukupno 315 pilića, podijeljeni na 9 skupina (P1 – P9). Skupine P1, P2 i P3 hranjene su hranom za piliće s koncentracijama maduramicina od 5, 10 i 15 mg/kg. Skupine P4, P5 i P6 primale su hranu s koncentracijama monenzina od 125, 225 i 325 mg/kg, dok su skupine P7, P8 i P9 primale hranu za piliće s diklazurilom u koncentracijama od 1, 5 i 10 mg/kg.

Obzirom na dodane koncentracije propisane koncentracije ovih kokcidiostatika koje se dodaju u hranu za piliće su: 60–125 mg/kg monenzina, 5 mg/kg maduramicina i 1 mg/kg diklazurila. Sva-ku skupinu činilo je 35 pilića (Tabela 2). Pokusne skupine P1 – P9 hranjene su hranama s kokcidiostaticima kroz 21 dan.

Nakon završetka tretmana u periodu od 11 dana (na dane 1-5, 7, 9, 11) pilići su žrtvovani te su uzorkovani uzorci krvi pilića (po 3 pilića po danu). Serumi su ekstrahirani centrifugiranjem na 3000 rpm, 10 min te su prebačeni u Eppendorf epruvete i pohranjeni na -20 °C do analize.

Protokol ovog istraživanja bio je odobren od strane Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske.

Analiza elektrolita K⁺ i Na⁺

Biokemijski pokazatelji u serumu, odnosno elektroliti K⁺ i Na⁺, određivani su primjenom biokemijskog analizatora VetScan VS2 (ABAXIS, Union City, CA, SAD). Uređaj provodi fotometrijsku metodu mjerenja na principu apsorpcije laserskog svjetla. Postupak mjerenja se provodi tako da se u komercijalne „rotore“ „Avian/Reptilian Profile Plus“ (ABAXIS, Union City, CA, SAD), koji sadrži sve potrebne reagense, otpipetira 0,1 mL plazme. „Rotor“ se umeće u stroj koji automatski očitava „rotorom“ zadane parametre, a dobivene vrijednosti deponira na HOST računalo i ispisuje putem ugrađenog pisača.

Tabela 2. Kontrolna i pokusne skupine pilića te koncentracije kokcidiostatika kojima su tretirane.

		Oznaka skupine	Koncentracija analita (mg/kg smjese)	Broj pilića
POKUSNE SKUPINE	KONTROLNA SKUPINA	K	0	25
	MADURAMICIN	P1	5	35
		P2	10	35
		P3	15	35
	MONENZIN	P4	125	35
		P5	225	35
		P6	325	35
	DIKLAZURIL	P7	1	35
		P8	5	35
		P9	10	35

Statistička analiza

Rezultati koncentracija elektrolita obrađeni su statističkim programom Excel 2007 v12.0, (Microsoft, Albuquerque, Novi Meksiko, SAD). Koncentracije K^+ i Na^+ izražene su kao srednja vrijednost $\pm$ standardna devijacija.

Rezultati i rasprava

Karboksilni ionofori poznati su po tome što tvore kationske (Na^+ , K^+ , Ca^{2+}) komplekse koji povećavaju prijenos iona kroz dimolekularne lipidne membrane. Monenzin se klasificira kao Na^+ selektivni ionofor, koji veže Na^+ izvan stanice i kao takav ulazi u stanicu. Koncentracija Na^+ se povećava, a kako je prijenos K^+ spor dolazi do izlaska H^+ iz stanice koji onda može utjecati na unutarstaničnu alkalozu (Gupta, 2012.). Maduramicin utječe na prijenos kationa kroz staničnu membranu, čime se povećava dotok Ca^{2+} , Na^+ , K^+ iona u „staničnom zidu“ i time prouzroči poremećaje stanične membrane te staničnu smrt. Kao antimikrobno sredstvo, maduramicin ima baktericidno djelovanje na mnoge Gram-pozitivne bakterije i kokcidiozu (Sharma i sur., 2005.).

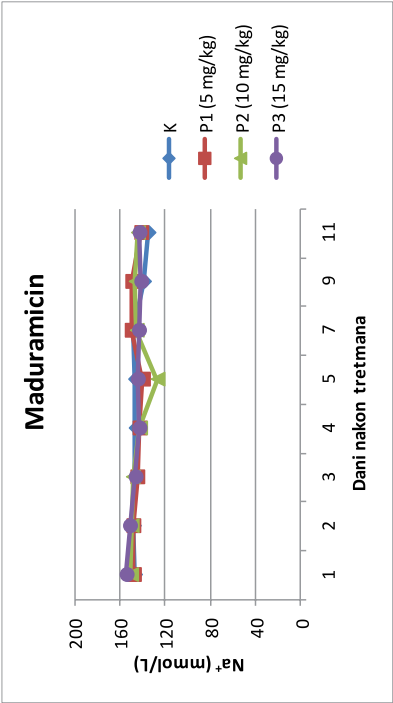
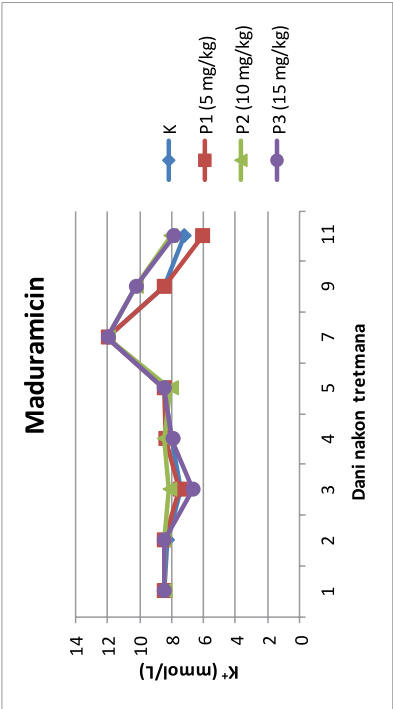
Koncentracije elektrolita K^+ i Na^+ u krvi eksperimentalnih skupina pilića nakon tretmana s kokcidiostaticima maduramicinom, monenzinom i diklazurilom prikazani su u tabelama 3, 4 i 5. Koncentracije K^+ i Na^+ određene su u rasponu (mmol/L): kontrolna skupina K^+ 7,25–12,00, i Na^+ 135,0 – 149,0; eksperimentalne skupine K^+ 5,05 – 12,0 i Na^+ 133,5 – 154,5. Nisu utvrđena statistički značajna odstupanja u koncentracijama Na^+ i K^+ u krvi između pokusnih skupina

(P1 – P9) pilića i kontrolne skupine (K). Koncentracije elektrolita nisu se značajno promijenile nakon primjene maduramicina što se vidi na slikama 1 i 2. Koncentracije K^+ u krvi pilića nakon primjene monenzina (Slika 3) u pokusnoj skupini tretiranoj koncentracijom od 325 mg/kg (P6) nešto je niža 1. dan nakon završetka tretmana. Isto tako, pri primjeni diklazurila u pokusnoj skupini P7 (1 mg/kg) utvrđena je niža koncentracija K^+ 3. dan nakon tretmana, dok je za pokusnu skupinu P8 (5 mg/kg) 9. dan utvrđena viša vrijednost K^+ u odnosu na kontrolnu skupinu (Slika 5). Koncentracije elektrolita Na^+ u pilića koji su hranom primale monenzin i diklazuril u okviru su kontrolnih vrijednosti (Slika 4 i 6).

Prijašnjim istraživanjima utvrđene su referentne vrijednosti K^+ u krvi, tj. plazmi kokoši od: 1,7–4,2 mmol/L (Simaraks i sur., 2004.); 4,1–5,7 u prosjeku 4,9 mmol/L (Martin i sur., 2010.); $3,21 \pm 0,19$ mmol/L (Scanes, 2014.). Za Na^+ utvrđene su referentne vrijednosti od: 139–155 mmol/L (Simaraks i sur., 2004.); 141,6–152,6 u prosjeku 147,1 mmol/L (Martin i sur., 2010.); $152,5 \pm 1,13$ mmol/L (Scanes, 2014.). Usporedbom referentnih vrijednosti s rezultatima dobivenih u ovome istraživanju možemo uočiti nešto više vrijednosti za K^+ kod kontrolne kao i pokusnih skupina pilića. Za razliku od K^+ , koncentracije elektrolita Na^+ odgovaraju referentnim vrijednostima. Kao što je već navedeno, referentne vrijednosti ovise o različitim parametrima te su zbog toga u ovoj analizi uzimani uzorci krvi pilića koji nisu bili tretirani kokcidiostaticima (kontrolna skupina) u svrhu objektivne usporedbe.

Tabela 3. Vrijednosti elektrolita u uzorcima krvi pilića (n=3) nakon primjene maduramicina (srednja vrijednost ± standardna devijacija).

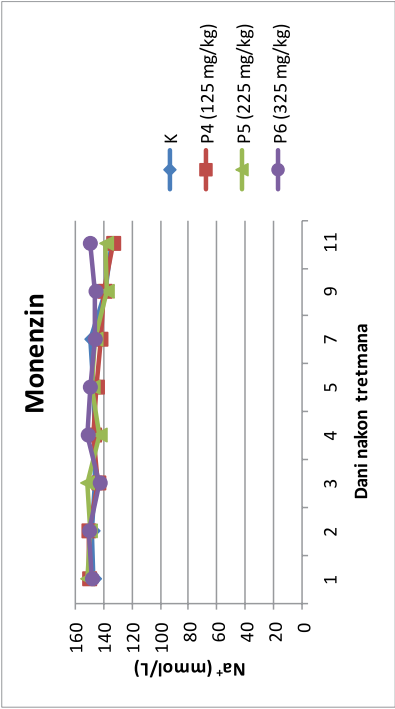
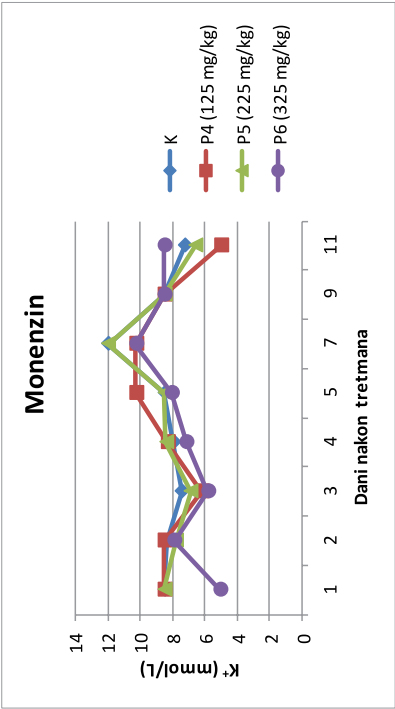
KONCENTRACIJA MADURAMICINA (mg/kg smjese)		DANI NAKON TRETMANA									
		1	2	3	4	5	7	9	11		
K ⁺ (mmol/L)	KONTROLA	0	8,50 ± 0,00	8,30 ± 0,28	7,45 ± 1,20	7,95 ± 0,78	8,50 ± 0,00	12,00 ± 0,00	8,50 ± 0,00	7,25 ± 0,64	
		5	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00	7,50 ± 1,41	8,40 ± 0,14	8,50 ± 0,00	12,00 ± 0,00	8,50 ± 0,00	6,10 ± 1,27	
		10	8,45 ± 0,07	8,50 ± 0,00	8,15 ± 0,49	8,50 ± 0,00	8,05 ± 0,64	12,00 ± 0,00	10,25 ± 2,47	8,10 ± 0,14	
		15	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00	6,70 ± 0,42	7,95 ± 0,78	8,50 ± 0,00	12,00 ± 0,00	10,25 ± 2,47	7,90 ± 0,85	
Na ⁺ (mmol/L)	KONTROLA	0	147,00 ± 0,00	148,00 ± 7,07	146,50 ± 0,71	146,50 ± 7,78	147,00 ± 7,07	149,00 ± 5,66	139,00 ± 2,83	135,00 ± 6,36	
		5	148,00 ± 1,41	148,50 ± 2,12	145,00 ± 2,83	143,00 ± 5,66	140,00 ± 5,66	150,00 ± 1,41	149,50 ± 2,12	141,50 ± 0,71	
		10	150,50 ± 0,71	150,00 ± 1,41	149,00 ± 1,41	142,50 ± 2,12	127,00 ± 24,04	145,50 ± 6,36	146,50 ± 3,54	144,50 ± 7,78	
		15	154,50 ± 2,12	151,50 ± 0,71	146,50 ± 3,54	143,00 ± 5,66	144,50 ± 4,95	143,50 ± 9,19	141,50 ± 2,12	143,00 ± 0,00	



Slika 1. i 2. Grafički prikaz srednjih vrijednosti koncentracije K⁺ i Na⁺ (mmol/L) kontrolne skupine i skupina tretiranih maduramicinom (5-15 mg/kg) u ovisnosti o danima nakon primjene kokcidiostatika.

Tabela 4. Vrijednosti elektrolita u uzorcima krvi pilića (n=3) nakon primjene monenzina (srednja vrijednost ± standardna devijacija).

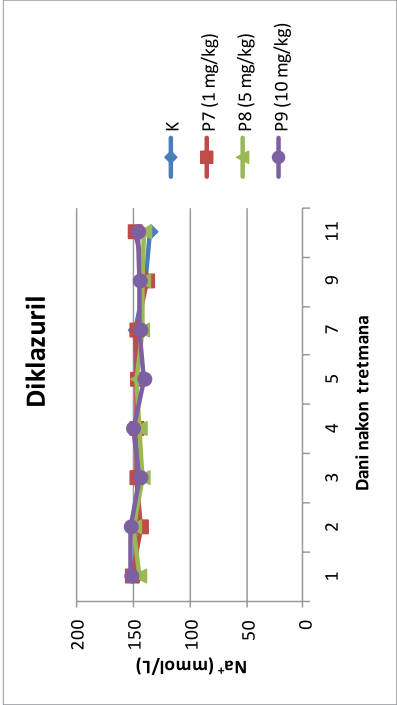
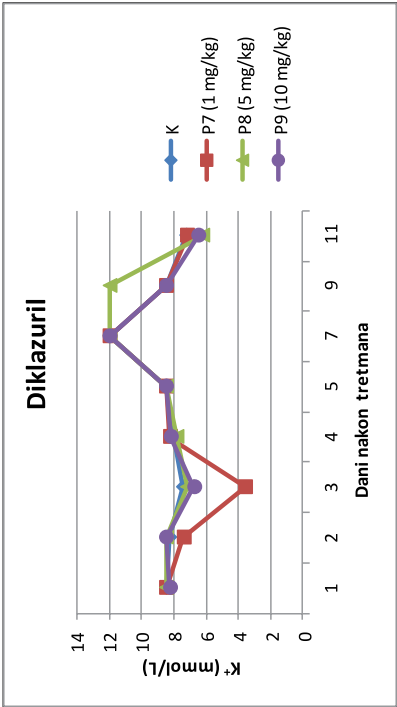
KONCENTRACIJA MONENZINA (mg/kg smjese)		DANI NAKON TRETMANA									
		1	2	3	4	5	7	9	11		
K ⁺ (mmol/L)	KONTROLA	0	8,50 ± 0,00	8,30 ± 0,28	7,45 ± 1,20	7,95 ± 0,78	8,50 ± 0,00	12,00 ± 0,00	8,50 ± 0,00	7,25 ± 0,64	
	125	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00	6,20 ± 0,14	8,30 ± 0,28	8,30 ± 0,28	10,25 ± 2,47	10,25 ± 2,47	8,50 ± 0,00	5,00 ± 0,28	
	225	8,50 ± 0,00	7,80 ± 0,85	6,90 ± 0,14	8,40 ± 0,14	8,50 ± 0,00	12,00 ± 0,00	12,00 ± 0,00	8,50 ± 0,00	6,60 ± 0,85	
	325	5,05 ± 3,32	7,90 ± 0,85	5,80 ± 0,85	7,15 ± 0,78	8,05 ± 0,64	10,25 ± 2,47	10,25 ± 2,47	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00	
Na ⁺ (mmol/L)	KONTROLA	0	147,00 ± 0,00	148,00 ± 7,07	146,50 ± 0,71	146,50 ± 7,78	147,00 ± 7,07	149,00 ± 5,66	139,00 ± 2,83	135,00 ± 6,36	
	125	150,50 ± 3,54	151,00 ± 1,41	144,00 ± 2,83	147,00 ± 0,00	145,00 ± 1,41	142,50 ± 4,95	139,50 ± 7,78	133,50 ± 0,71		
	225	152,00 ± 4,24	150,00 ± 7,07	152,00 ± 4,24	143,00 ± 2,83	148,00 ± 2,83	146,00 ± 0,00	138,00 ± 8,49	138,50 ± 7,78		
	325	148,50 ± 0,71	150,50 ± 9,19	143,00 ± 5,66	151,50 ± 2,12	150,00 ± 7,07	146,50 ± 4,95	146,00 ± 5,66	150,00 ± 2,83		



Slika 3. i 4. Grafički prikaz srednjih vrijednosti koncentracije K⁺ i Na⁺ (mmol/L) kontrolne skupine i skupina tretiranih monenzinom (125–325 mg/kg) u ovisnosti o danima nakon primjene kokcidostatika.

Tabela 5. Vrijednosti elektrolita u uzorcima krvi pilića (n=3) nakon primjene diklazurila (srednja vrijednost ± standardna devijacija).

KONCENTRACIJA DIKLAZURILA (mg/kg smjese)		DANI NAKON TRETMANA									
		1	2	3	4	5	7	9	11		
K ⁺ (mmol/L)	KONTROLA	0	8,50 ± 0,00	8,30 ± 0,28	7,45 ± 1,20	7,95 ± 0,78	8,50 ± 0,00	12,00 ± 0,00	8,50 ± 0,00	7,25 ± 0,64	
		1	8,50 ± 0,00	7,40 ± 1,56	3,60 ± 5,09	8,25 ± 0,35	8,50 ± 0,00	12,00 ± 0,00	8,50 ± 0,00	7,20 ± 0,71	
		5	8,50 ± 0,00	8,50 ± 0,00	7,20 ± 1,13	7,85 ± 0,49	8,50 ± 0,00	12,00 ± 0,00	12,00 ± 0,00	6,25 ± 2,47	
		10	8,25 ± 0,35	8,50 ± 0,00	6,75 ± 1,06	8,20 ± 0,42	8,50 ± 0,00	12,00 ± 0,00	8,50 ± 0,00	6,50 ± 0,28	
Na ⁺ (mmol/L)	KONTROLA	0	147,00 ± 0,00	148,00 ± 7,07	146,50 ± 0,71	146,50 ± 7,78	147,00 ± 7,07	149,00 ± 5,66	139,00 ± 2,83	135,00 ± 6,36	
		1	151,50 ± 2,12	143,50 ± 0,71	147,50 ± 4,95	147,50 ± 2,12	147,00 ± 0,00	147,50 ± 0,71	138,00 ± 1,41	149,00 ± 1,41	
		5	145,00 ± 2,83	149,50 ± 7,78	142,00 ± 1,41	144,50 ± 0,71	147,00 ± 4,24	142,50 ± 7,78	141,50 ± 9,19	140,50 ± 3,54	
		10	152,00 ± 5,66	152,50 ± 2,12	144,00 ± 1,41	150,50 ± 6,36	140,50 ± 3,54	144,00 ± 2,83	144,50 ± 2,12	146,00 ± 5,66	



Slika 5. i 6. Grafički prikaz srednjih vrijednosti koncentracije K⁺ i Na⁺ (mmol/L) kontrolne skupine i skupina tretiranih diklazurilom (1–10 mg/kg) u ovisnosti o danima nakon primjene kokcidiostatika.

Silva i sur. (2007.) uočili su promjene u koncentraciji minerala Ca, P, Mg, Na i K u pilićima. Najviše vrijednosti zabilježene su kod pilića starosti 35 dana dok su razine Na^+ i K^+ u 42. danu bile različite od onih analiziranih u zdravih brojlera. Harr (2002.) je istaknuo da razine minerala u krvi mogu biti različite ovisno o primijenjenoj metodologiji te vrsti i genetičkoj liniji. Više razine minerala uočene su u serumu pilića starih 35 dana najvjerojatnije zbog veće opskrbe hranjivim tvarima te zbog intenzivnijeg metabolizma koji se obično javlja u ovoj dobi. Dakle, dobiveni rezultati ukazuju da različiti minerali u krvi obično variraju s godinama zbog fizioloških promjena koje se događaju u svakoj fazi razvoja (Silva i sur., 2007.).

Shlosberg i sur. (1992.) proveli su istraživanje na govedu koje je bilo hranjeno kokošjom steljom sa i bez dodatka maduramicina. Koncentracija maduramicina je iznosila 4,8 mg/kg (grupa 1) i 12 mg/kg m (grupa 2). Skupina 3 hranjena je kokošjom steljom bez dodatka maduramicina (kontrolna skupina). Iz dobivenih podataka i grafičkih prikaza uočeno je signifikantno smanjenje koncentracije Na u skupini 2 u 6. tjednu i skupini 1 u 7. tjednu, ali se u sveukupnoj analizi pokazalo da nema promjena. Signifikantnih promjena nije bilo ni kod K tijekom tjedana te u sveukupnoj analizi. Shlosberg i sur. (1992.) u radu navode kako se Na^+ i K^+ ioni transportiraju pomoću ionofora, ali proturječni učinci ionofora u snižavanju koncentracije seruma mogu biti protuteža hemokonzentraciji koja slijedi nakon dehidracije.

Pregled toksičnosti maduramicina u različitim životinjama i ljudi opisali su Sharma i sur. (2005.). Naveli su studiju u kojoj su pilići bili hranjeni hranom koja je sadržavala maduramicin u koncentraciji 5 i 10 mg/kg tijekom 21 dan. Pokazalo se kako je maduramicin prouzročio poremećaj u rastu pilića. Klinički znaci bili su: vodenasti proljev, depresija, tromost i nakostriješenost perja

od 2. tjedna primjene maduramicina u koncentraciji 10 mg/kg dok su se isti simptomi javili tek u 3. tjednu primjene maduramicina koncentracije 5 mg/kg. U obje skupine je primijećena makrocitna anemija (povećani volumen eritrocita). Leukopenija ili limfopenija (smanjen broj leukocita u krvi) je uočena u skupini koja je primala 10 mg/kg maduramicina u 21. danu (Sharma i sur., 2005.).

Isto tako, ovdje treba istaknuti kako su rađena slična istraživanja kod pilića, ali bez primjene kokcidostatika uz praćenje koncentracije elektrolita u plazmi. Naime, Turk (1986.) je proveo istraživanje na pilićima starosti 4. tjedna. Ukupno je bilo pet skupina. Četiri skupine bile su zaražene jednim od navedenih parazita: *E. acervulina*, *E. necatrix*, *E. brunetti* i *E. tenella* dok je jedna skupina ostala nezaražena (kontrolna skupina). Nakon cijepjenja uzimani su uzorci krvi, a potom analizirani. Koncentracije Na u plazmi pale su kod infekcija *E. acervulina*, *E. brunetti* i *E. tenella* tijekom akutne faze. S druge strane infekcije *E. necatrix* te u ranoj fazi *E. brunetti* imaju tendenciju porasta sadržaja Na u plazmi. Ovaj podatak je nešto drukčiji u odnosu na podatke u kojima je zabilježeno kako su ptice u stanju dobro kontrolirati koncentraciju Na u plazmi unatoč infekciji. Infekcije koje su korištene u ovom radu bile su vrlo teške i imale su znatno više utjecaja na koncentracije Na u plazmi nego što je to bio slučaj kod blažih oblika infekcije. Ovi podatci pokazuju da je kontrola Na u plazmi dobra, osim tijekom akutne faze infekcije. Značajne varijacije uočene su kod K sa čestim povećanjima koncentracije. Ta povećanja su povezana s infekcijama *E. necatrix* i *E. brunetti*, a obično se javljaju tijekom rane akutne faze infekcije. Iz razloga što je K unutarstanični ion, za očekivati je da će se u krvotoku pojavljivati za vrijeme najvećeg oštećenja stanica te će biti posljedica ekstenzivnog staničnog oštećenja u crijevnoj sluznici. To se vjerovatno dogodilo kod ove dvije infekcije. Oštro smanjenje koncentracija

K u plazmi uočeno je 9. dan kod obje infekcije *E. acervulina* i *E. tenella*. Razlog za takvu promjenu je nepoznat, ali može biti povezan s velikom količinom novonastalih stanica koje zauzimaju mjesto kako bi se zamijenile s oštećenim crijevnim stanicama koje su prouzročili paraziti. Ovaj fenomen nije viđen kod *E. necatrix* i *E. brunetti*. Iz tih je podataka očito kako su koncentracije glavnih minerala odnosno Ca, Mg, Na i K u plazmi kontrolirane ne samo apsorpcijskim učincima koje proizvode paraziti, već i odgovorom domaćina u prisutnosti parazita (Turk, 1986.).

Aumont i sur. (1986.) zabilježili su konstantne koncentracije Na i K u uzorcima krvi koza koje su bile zaražene *Eimeriom*. Vrijednosti u serumu krvi iznosile su 151,5 mg/L za natrij i 5,4 mg/L za K. Prema njihovim podatcima unos Ca, P, Mg i K nikad nije pao ispod referentne razine. Unatoč vrlo opsežnim lezijama uočenih *post-mortem*, ni pH krvi, ni koncentracija Na ili K nisu pokazali značajne poremećaje kao što je navedeno kod kokcidioze u goveda (Aumont i sur., 1986.).

U zaključku, primjena kokcidistaika diklazurila, monenzina i maduramicina u hrani za piliće u propisanim koncentracijama kao i višim koncentracijama od propisanih, nema značajan utjecaj na koncentracije elektrolita Na⁺ i K⁺.

Sažetak

Istraživanje je provedeno s ciljem praćenja kemijskih parametara, elektrolita kalija (K⁺) i natrija (Na⁺) u krvi pilića nakon primjene kokcidistatika u različitim koncentracijama kroz 21 dan. Pilići su raspoređeni u 10 grupa, jednu kontrolnu dok su eksperimentalne skupine dobivale hranu za piliće s dodatkom kokcidistatika u koncentracijama od 5, 10, 15 mg/kg maduramicin te 125, 225 i 325 mg/kg monenzina, odnosno 1, 5 i 10 mg/kg diklazurila. Krv je uzorkovana kroz 11 dana nakon primjene kokcidistatika te su određivane koncentracije Na⁺ i K⁺. Koncentracije K⁺ i Na⁺ određene su u

rasponu (mmol/L): kontrolna skupina K⁺ 7,25–12,00 i Na⁺ 135,0–149,0; eksperimentalne skupine K⁺ 5,05–12,0 i Na⁺ 133,5–154,5. Statistička analiza između pokusnih skupina pilića, odnosno pokusnih skupina i kontrolne skupine pokazala je da nije bilo značajnih promjena u koncentraciji Na⁺ i K⁺ nakon primjene kokcidistatika. Zabilježene su samo sporadična odstupanja K⁺ odnosno: niža vrijednost 1. dan nakon tretmana s monenzinom u koncentraciji od 325 mg/kg; niža vrijednost 3. dan nakon tretmana s diklazurilom u koncentraciji od 1 mg/kg. Viša vrijednost K⁺ u odnosu na kontrolnu skupinu utvrđena je 9. dan nakon primjene hrane s 5 mg/kg diklazurila. Usporedbom dobivenih vrijednosti K⁺ i Na⁺ u krvi pilića s referentnim vrijednostima za piliće utvrđenim u prijašnjim istraživanjima, možemo uočiti nešto više vrijednosti za K⁺ kod kontrolne kao i pokusnih skupina pilića. Međutim, koncentracije elektrolita Na⁺ podudaraju se s referentnim vrijednostima. Zaključno možemo reći da primjena kokcidistatika diklazurila, monenzina i maduramicina u hrani za piliće u propisanim koncentracijama kao i višim od propisanih nema značajan utjecaj na koncentracije elektrolita Na⁺ i K⁺.

Ključne riječi: pilići, elektroliti, Na⁺, K⁺, kokcidistatici, maduramicin, monenzin, diklazuril

Literatura

1. ALBOKHADAİM, I., T. ALTHNAIAN and S. M. EL-BAHR (2012): Investigation of Selected Biochemical Parameters of Local Chickens with Different Age and Sex in Al-ahsa, Saudia Arabia. Pakistan J. Biol. Sci. 15, 827–832.
2. ANDREASEN, J. R., C. B. ANDREASEN, A. B. SONN and D. C. ROBESON (1996): The effects of haemolysis on serum chemistry measurements in poultry. Avian Pathology: J. World Vet. Poultry Assoc. 25, 519–536.
3. Anon. (1998): Potassium in Animal Nutrition. Better Crops 82, 32–36.
4. AUMONT, G., P. YVORE and A. ESNAULT (1986): Experimental coccidiosis in goats. 2. Effect of parasitism on nutritional balances and some blood parameters. Annal Recher. Vét. 17, 191–196.
5. BOŽIĆ, Đ., N. BILANDŽIĆ, I. VARENINA i B. SOLOMUN KOLANOVIĆ (2012): Diklazuril-primjena, farmakokinetika i toksikologija. Vet. stn. 43, 473–484.
6. DUBOIS, M., G. PIERRET and P. DELAHAUZ (2004): Efficient and sensitive detection of residues of nine coccidiostats in egg and muscle by liquid

- chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromat. B* 813, 181–189.
7. FLANDERS, F. B. and J. R. GILLESPIE (2015): *Modern Livestock & Poultry Production*. Delmar (California, USA): Cengage Learning (Section 8: Poultry, Chapter 47: Diseases and Parasites of Poultry, p. 680, 9th ed.); <https://books.google.hr/books?id=9kj-BAAAQBAJ&pg=PR9&dq=Modern+Livestock+%26+Poultry+Production&hl=hr&sa=X&ved=0CBsQ6AEwAGoVChMIrCr6DVxwIVA5QsCh27aQi9#v=onepage&q=Modern%20Livestock%20%26%20Poultry%20Production&f=false> (pristupljeno: 20.03.2015.)
 8. GUPTA, R. C. (2012): *Veterinary toxicology: Basic and Clinical Principles*. Second edition, Academic Press. (p. 1285); <https://books.google.hr/books?id=2WP8jMLQs0sC&pg=PA1281&dq=ionophores&hl=hr&sa=X&ved=0CEYQ6AEwBWoVChMInPrD3NTxyAIVw7QPCh0RNwjr#v=onepage&q=ionophores&f=false> (pristupljeno 02.11.2015.)
 9. HARR, K. E. (2002): Clinical chemistry of companion avian species: a review. *Vet. Clin. Pathol.* 31, 140–151.
 10. HARVEY, J. W. (2012): *Veterinary hematology: A diagnostic guide and color atlas*. St. Louis, (Missouri, USA): Elsevier/Saunders, p. 2.; https://books.google.hr/books?id=iFoGf3pZNpkC&printsec=frontcover&dq=veterinary+hematology+a+diagnostic+guide+and+color+atlas&hl=hr&sa=X&ved=0CBoQ6AEwAGoVChMIz6Ph6p_VxwIVircUCh3_dgpm#v=onepage&q=values&f=false (pristupljeno: 30.08.2015.)
 11. HOCHLEITHNER, M. (1994): Chapter 11, Biochemistries. In: Ritchie B. W., G. J. Harrison and L. R. Harrison, eds., *Avian medicine: Principles and application*, Lake Worth (Florida, USA): Wingers Publishing, Inc., pp. 223–245.
 12. KAUFMANN, J. (1996): *Parasitic Infections of Domestic Animals: A Diagnostic Manual*. Basel; Boston; Berlin: Birkhäuser, pp. 341–346.; https://books.google.hr/books?id=fUBq2P3vgokC&printsec=frontcover&dq=Parasitic+Infections+of+Domestic+Animals:+A+Diagnostic+Manual&hl=hr&sa=X&ved=0CBoQ6AEwAGoVChMIs_HFwp7VxwIVgRQsCh1Z0A61#v=onepage&q=Parasitic%20Infections%20of%20Domestic%20Animals%3A%20A%20Diagnostic%20Manual&f=false (pristupljeno: 20.03.2015.)
 13. KINDSCHI, T. (2010): *4-H Guide to Raising Chickens*. Minneapolis (Minnesota, USA): MBI Publishing Company LLC. (Chapter 6: Chicken management, p. 107); https://books.google.hr/books?id=g__1cAFk2N4C&pg=PA5&dq=4+Guide+to+Raising+Chickens&hl=hr&sa=X&ved=0CBsQ6AEwAGoVChMI9fXZuKfVxwIVA1csCh3ZRwG5#v=onepage&q=4%20Guide%20to%20Raising%20Chickens&f=false (pristupljeno: 25.03.2015.)
 14. MARTIN, M. P., M. WINELAND and H. J. BARNES (2010): Selected Blood Chemistry and Gas Reference ranges for Broiler Breeders Using the i-STAT Handheld Clinical Analyzer. *Avian Dis.* 54, 1016–1020.
 15. McDONALD, P., R. A. EDWARDS, J. F. D. GREENHALGH, C. A. MORGAN, L. SINCLAIR and R. WILKINSON (2010): *Animal nutrition*, 7th edition, Harlow (UK): Pearson Education Limited.
 16. PEEK, H. (2010): Resistance to anticoccidial drugs: alternative strategies to control coccidiosis in broilers, Dissertation, Faculty Veterinary Medicine, University Utrecht.
 17. ROKKA, M., M. JESTOI and K. PELTONEN (2013): Trace Level Determination of Polyether Ionophores in Feed. *BioMed Res. Intern.* 2013, 1–12.
 18. SCANES, C. G. (2014): *Sturkie's Avian Physiology*. 6th Edition, Academic Press, Elsevier.
 19. SHARMA, N., A. BHALLA, S. VARMA, S. JAIN and S. SINGH (2005): Toxicity of maduramicin. *Emerg. Med. J.* 22, 880–882.
 20. SHLOSBERG, A., A. HARMELIN, S. PERL, G. PANO, M. DAVIDSON, U. ORGAD, U. KALI, A. BOR, M. VAN HAM, G. HOIDA, B. YAKOBSON, Y. AVIDAR, B.-A. ISRAELI and E. BOGIN (1992): Cardiomyopathy in cattle induced by residues of the coccidiostat maduramicin in poultry litter given as a feedstuff. *Vet. Res. Comm.* 16, 45–58.
 21. SILVA, P. R. L., O. C. FREITAS NETO, A. C. LAURENTIZ, O. M. JUNQUEIRA and J. J. FAGLIARI (2007): Blood serum components and serum protein test of Hybro-PG broilers of different ages. *Rev. Brasil. Ciên. Avicol.* 9, 229–232.
 22. SIMARAKS, S., O. CHINRASRI and W. AENGWANICH (2004): Hematological, electrolyte and serum biochemical values of the Thai indigenous chickens (*Gallus domesticus*) in northeastern, Thailand. *Songklan. J. Sci. Technol.* 26, 425–430.
 23. THRALL, M. A., G. WEISER, R. W. ALLISON and T. W. CAMPBELL (2012): *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Second Edition, Danvers, (Massachusetts, USA): Wiley-Blackwell.
 24. TURK, D. E. (1986): Macroelements in the circulation of coccidiosis-infected chicks. *Poultry sci.* 65, 462–468.

Electrolytes in the Blood of Broiler Chicken After Administration of the Coccidiostats Maduramicin, Monensin and Diclazuril

Ines VARGA, Mag. Appl. Chem., Nina BILANDŽIĆ, Grad. Biotechnol. Eng., PhD, Scientific Advisor, Ivana VARENINA, Grad. Biotechnol. Eng., PhD, Božica SOLOMUN KOLANOVIĆ, Grad. Biotechnol. Eng., Đurđica BOŽIĆ LUBURIĆ, Grad. Food Technol. Eng., Luka CVETNIĆ, DVM, Assistant, Mario MITAK, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia

The aim of this study was to measure chemical parameters, i.e. potassium (K^+) and sodium (Na^+) electrolytes in the blood of broiler chicken after administration of feed containing different concentrations of coccidiostats for 21 days. Chickens were divided into ten groups, one control and nine experimental groups, which received feed supplemented with coccidiostats at concentrations of 5, 10 and 15 mg/kg of maduramicin, 125, 225 and 325 mg/kg of monensin, and 1, 5 and 10 mg/kg of diclazuril. Blood was collected for 11 days following the administration with coccidiostats to determine Na^+ and K^+ levels. Concentrations of K^+ and Na^+ were measured in the ranges (mmol/L): control group K^+ 7.25–12.00, Na^+ 135.0–149.0; experimental groups K^+ 5.05–12.0, Na^+ 133.5–154.5. There were no statistically significant differences in the concentrations of Na^+ and K^+ in blood of chickens between experimental groups or between the experimental groups and the control group. Only sporadic

deviations of K^+ levels were found: lower value on day 1 after treatment with monensin at a concentration of 325 mg/kg; lower level on the day 3 after treatment with diclazuril at a concentration of 1 mg/kg. The highest K^+ value was found on day 9 after administration of feed with 5 mg/kg of diclazuril. In comparison with the reference values of Na^+ and K^+ determined in previous studies, the concentrations found in this study showed slightly higher K^+ concentrations in both the control and experimental groups. However, the concentration of Na^+ corresponded with the reference values. In conclusion, the use of the coccidiostats diclazuril, monensin and maduramicin in chicken feed in the prescribed concentrations and higher than required has no significant impact on the concentration of the electrolytes Na^+ and K^+ .

Key words: *Chickens, Electrolytes, Na^+ , K^+ , Coccidiostats, Maduramicin, Monensin, Diclazuril*

NOVO U PONUDI

CEFQUINOR[®] LC

75 mg intramamarna mast
za krave u laktaciji

Cefkvinom (u obliku sulfata)



- učinkovito liječenje IMM infekcija uzrokovanih bakterijama *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* i *Streptococcus uberis*
- jednostavna IMM primjena trokratno svakih 12 sati

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/Generalnc

 **GENERA**

www.genera.hr

Bruceloza u morskih sisavaca (II. dio)



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

Uvod

U kopnenih sisavaca bruceloza je najčešće povezana s patologijom reproduktivnih organa (placentitisom, orhitisom, epididimitisom), a u ženskih životinja najčešći klinički znak je pobačaj. O kliničkoj slici morskih sisavaca zbog nemogućnosti sustavnog praćenja postoji malo informacija. Nepoznata je inkubacija u inficiranih životinja. Reproductive je probleme u morskih sisavaca teško procijeniti, ali je *Brucella* izdvojena iz reproduktivnih organa nekih vrsta. U rijetkim slučajevima patološke promjene mogu prouzročiti i kliničke promjene (Miller, 2007., cit. Guzman-Verri i sur., 2012.).

U većini slučajeva izolati brucela izdvojeni su iz nasukanih sisavaca, uglavnom iz reda kitova, koji su u kritičnom zdravstvenom stanju ili su već uginuli (Davison i sur., 2009.). Zato je teško točno odrediti koja su karakteristična svojstva prije svega vezana uz brucelozu i utvrditi kliničke i patološke znakove izravno vezane uz infekciju brucelom (Gonzales-Barrientos i sur., 2010.). Mnogi nasukani morski sisavci općenito su domaćini parazitima u raznim organima s mnoštvom patoloških lezija. Uz neke od tih ozljeda i sami paraziti mogu biti

vezani uz primarne bolesti, druge mogu biti prouzročene sekundarnim uzrocima poput različitih trauma, ali i organskim onečišćivačima (Davison i sur., 2011., Oliveira i sur., 2011.). Za očekivati je da će takve patološke lezije štetiti normalnoj fiziologiji i prouzročiti ozbiljne bolesti poput pneumonije, meningitisa, zatajenja jetre ili srca, nije uobičajeno naći i druge bakterijske vrste ili gljivice u istim organima i tkivima iz kojih je izdvojena brucela (Gonzales-Barrientos i sur., 2010.). Takvi mikroorganizmi mogu biti primarni uzročnici bolesti ili oportunistički mikroorganizmi koji mogu prouzročiti superinfekciju u kitova koji su već inficirani vrstom *Brucella (B.) ceti*. U nekim drugim slučajevima postojala je opravdana sumnja na istovremene virusne infekcije. Diferencijalna klinička i patološka dijagnoza bruceloze u morskih sisavaca iz reda kitova nije jednostavna i zahtijeva detaljna istraživanja. Temeljno poznavanje anatomije i fiziologije sisavaca iz reda kitova od ključne je važnosti za tumačenje kliničkih i patoloških nalaza. Osobito je važno za razlikovanje patoloških znakova i fizioloških promjena pripisanih sazrijevanju i starenju morskih sisavaca (Guzman-Verri i sur., 2012.).

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 Zagreb, Hrvatska

Patološke promjene povezane s brucelozom u kitova

Patološke promjene koje su u vezi s infekcijom bakterijom *Brucella* u morskih sisavaca uočene su isključivo u redu *Cetacea* - kitovi. Infekcija može imati više ishoda s različitim rasponom patoloških promjena. Takav nalaz ukazuje ili na razliku u patogenosti bakterija iz roda *Brucella* (*B.*) spp. izdvojenih iz morskih sisavaca ili primljivosti kitova za razliku od perajara. Bakterije *B. ceti* i *B. pinnipedialis* izdvojene su i iz mnogih organa u naizgled zdravih sisavaca (Nymo i sur., 2011.).

Patologija spolnih organa

Brucella ceti je izdvojena iz reproduktivnih organa mužjaka i ženki sisavaca iz reda kitova. Reproductivni sustav tih sisavaca ima neke jedinstvene karakteristike. Prve infekcije brucelom u reproduktivnim organima ženki iz reda kitova zabilježene su u dobrim dupina držanih u akvariju u Kaliforniji (Ewalt i sur., 1994., Miller i sur., 1999.). U tom slučaju opisan je pobačaj i placentitis, a brucele su izdvojene iz različitih tkiva pobačenog ploda. Nakon toga brucele su izdvojene iz mliječne žlijezde i sperme dupina i kitova (Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). U patuljastog kita (*Balaenoptera acutorostrata*) u Pacifiku utvrđena je serološki pozitivna reakcija i pronađeno je nekoliko granulomatoznih promjena na endometriju maternice. Te lezije su pokazivale značajnu mononuklearnu infiltraciju i sadržaj epiteloidnih i orijaških stanica, što ukazuje na promjene prouzročene brucelama (Ohishi i sur., 2003.). Sumnjalo se na pobačaj prouzročen s *B. ceti* u obalnog dupina nasukanog na belgijskoj obali. U dupina je nedvojbeno dokazan pobačaj. Ženka dupina imala je još mlijeka u mliječnoj žlijezdi, a brucele su izdvojene iz mozga, pluća i čireva po spolnim organima. Na istočnoj

tropskoj obali Tihog oceana u Kostarici, u plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*) je indirektnom imunofluorescencijom dokazana *Brucella*, a kasnije je bakteriološki izdvojena iz posteljice, pupčane vrpce, mlijeka, alantoisne i amnionske tekućine te iz raznih organa ploda. U te gravidne životinje utvrđen je teški nekrozni placentitis i uginuće ploda u sedmom mjesecu gravidnosti (Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). Kao i u kopnenih sisavaca izolati iz morskih sisavaca isto tako pokazuju tropizam za mliječnu žlijezdu ženki iz reda kitova (Maquart i sur., 2009.). Prvi opis epididimitisa i orhitisa u sisavaca iz reda kitova pojavio se u kitova usana i zubana te obalnih dupina, a promjene su bile istovjetne onima u kopnenih sisavaca. Promjene su se očitovala granulomatoznim tkivom i mineralizacijom, a ponekad i kazeoznom nekrozom (Dagleish i sur., 2008., Ohishi i sur., 2008.). Vrlo često je povećan jedan testis s nalazom multilokularnih apscesa s debelom fibroznom kapsulom. Lokalizacija brucela u reproduktivnom sustavu mužjaka i ženki iz reda kitova jasno ukazuje na mogućnost spolnog prijenosa bruceloze, a kasnije i dojenjem (Foster i sur., 2002., Dawson i sur., 2008., Ohishi i sur., 2008., Maquart i sur., 2009.).

Patološke promjene na srcu i krvožilnom sustavu

B. ceti je izdvojena iz krvi, perikardijalna tekućina i srčanih lezija sisavaca iz reda kitova (Maquart i sur., 2009., Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). Krvožilni sustav tih sisavaca prilagođen je za stalno plivanje i ronjenje, a patološke promjene mogu znatno ugroziti takve aktivnosti. Zapremina krvi u kitova je 2 do 3 puta veća nego u ljudi i kreće se od 7% pa do 20% tjelesne mase, a ovisi o vrsti kita. Veća je u onih vrsta koje duže i dublje rone. Sisavci iz reda kitova mogu podnijeti brzu promjenu krvnog tlaka zbog posebne prilagodbe koja se

naziva „*retia mirabilia*“. Retia je masa krvnih žila koja se nalazi ispod dorzalnih dijelova rebara, okružuje trupove prsnih kralježaka i ispunjuje kralježnički kanal oko kralježničke moždine, a djeluje kao tampon zona. Štiti mozak od navale krvi uslijed povišenog krvnog tlaka i od manjka opskrbe krvlju tijekom smanjene brzine rada srca (Ochrymowych i Lambersten, 1984.). Lezije na krvožilnom sustavu i srcu opisane su u ljudi, ali rijetke su u kopnenih sisavaca (Cay i sur., 2009.). Značajno je da je plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*) s neurobrucelozom imao izraziti i težak oblik endokarditisa (Gonzalez-Barrientos i sur., 2010), vrlo sličan s onim koji se pojavljuje u ljudi, a očituje se naraslim papulama i fibrinom na mitralnim zaliscima (Özbek i sur., 2007.). Za pretpostaviti je da su se te kronične promjene na srcu razvijale više mjeseci ili čak godinama i da su ugrožavale funkciju srca (Guzman-Verri, 2012.).

Patološke promjene u središnjem živčanom sustavu

Sisavci iz redova kitova su među najinteligentnijim životinjama i imaju veliki mozak, koji omogućuje mnoge sposobnosti i ehologaciju. Osim toga mozak kitova posjeduje dodatna specijalizirana svojstva za trajni život u vodi. Zato nije neočekivano da je neurobruceloza u sisavaca iz reda kitova vezana za dezorijentiranost i primarna nasukavanja (Hernandez-Mora i sur., 2008., Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). Neurobruceloza nije zabilježena u goveda, ovaca, koza svinja i pasa, ali se često javlja u neliječenih ljudi oboljelih od bruceloze (Obiako i sur., 2010.). Većina izolata *B. ceti* je izdvojena iz mozga i moždanih tekućina nasukanog obalnog, bijelokljunog, bijelobokog i plavobijelog dupina (Munoz i sur., 2006., Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). Najčešće se neurobruceloza uočava u plavobijelog dupina duž srednjeameričke obale Tihog

oceana i europskog primorja. Najčešće se u njih uočavaju drhtavica, epileptički napadaji, dezorijentiranost i opća nesposobnost plutanja. Opće patološke promjene očituju se kao hiperemija mozga, zamućenje cerebrospinalne tekućine, meningoencefalomijelitis karakteriziran negojnim meningitisom, osobito u moždanom deblu i kralježničkoj moždini (Jepson i sur., 1997., Gonzales i sur., 2002., Jauniaux i sur., 2010.).

Patološke promjene kostiju i zglobova

Kostur morskih sisavaca iz redova kitova prilično je jedinstven među sisavcima, a omogućuje im savršenu hidrodinamiku. Kao i u drugih teških patoloških stanja prouzročenih vrstom *B. ceti*, lezije na kosturu morskih sisavaca mogu spriječiti plivanje što može biti primarni uzrok nasukavanja. Zabilježeno je nekoliko slučajeva gdje je *B. ceti* izdvojena iz kostiju i zglobova sisavaca iz reda kitova. Prvi slučaj je zabilježen u obalnog dupina u kojeg je diskospondilitis kralježnice prouzročio dugotrajnu kroničnu bolest (Foster i sur., 2002.). Opisan je slučaj u mužjaka plavobijelog dupina koji je pored meningoencefalomijelitisa imao i fibrinopurulentni osteoartritis s ozbiljnom infiltracijom sinovijalnog zgloba makrofagima i neutrofilima koja je zahvatila desni rameni zglob (Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). Najizrazitiji slučaj je bio velika lezija zatiljnog zgloba u bijelobokog dupina iz kojeg su izdvojene brucele u velikim količinama. Promjene su bile karakterizirane nepokretnim i sraslim zatiljnim zglobovom. Sličan spektar promjena opisan je i u bjelokljunog dupina (Dagleish i sur., 2007., Galatius i sur., 2009.). Brucele je izdvojena i iz kralježnice i kralježaka obalnih dupina, što isto tako upućuju na kroničnu prirodu bolesti (Maquart i sur., 2009.). Slučaj spinalnog osteomijelitisa u ljudi s Novog

Zelanda povezan je s *B. ceti* (McDonald i sur., 2006.).

Patologija dišnog sustava

Brucela je izdvojena iz pluća više vrsta sisavaca iz reda kitova, ali nije dokazana jasna veza između invazije brucela i patologije tih organa (Munoz i sur., 2006., Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.). Dišni sustav sisavaca iz reda kitova oblikovan je tako da omogućuje disanje u ritmu s redovitim kretanjem tijekom plivanja i ronjenja. Nosnice kitova nalaze se dorzalno na glavi i omogućuju prolaz zraka kroz nosnu šupljinu do grkljana. Grkljan kitova je izdužen i strši u nosni dio ždrijela tako da prilikom gutanja, hrana i voda iz usne šupljine prolaze postrance, a ne preko grkljana kao u kopnenih životinja. Takav položaj grkljana u kitova omogućava istovremeno gutanje i disanje. Pluća ovih sisavaca su među prvim organima zahvaćenim tijekom smanjene mogućnosti plivanja, a povezanost između patoloških nalaza je nejasna i nije izravna. Naime, brucele su izdvojene i iz klinički zdravih pluća sisavaca iz reda kitova s brucelozom. Isto tako bilo je slučajeva gdje je brucela izdvojena iz pluća, ali primarni uzrok bolesti bio je vezan uz druge uzročnike, poput virusnih infekcija i drugih uzročnika (Foster i sur., 2002., Munoz i sur., 2006.). Često je upala pluća povezana s prisutnošću nematoda u plućima što može potaknuti upalne reakcije i patološke promjene. U jednog nasukanog obalnog dupina u kojeg je iz pluća izdvojena *B. ceti*, utvrđena je infestacija desne klijetke i plućnih krvnih žila povezana s akutnim plućnim trombima, teškom akutnom nekrotizirajućom pneumonijom i intersticijskom subakutnom i kroničnom pneumonijom s arteritisom (Jauniaux i sur., 2010.). Neke patološke promjene u plućima u plavobijelih dupina inficiranih brucelama imaju izrazite sličnosti s promjenama na

plućima u ljudi koji su imali brucelozu. Glavne patološke promjene na plućima očituju se kao intersticijska pneumonija i bronhopneumonija, bronhijalne mikrokalcifikacije, hiperemija i manje nakupine leukocita u peribronhijalnom vezivnom tkivu (Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.).

Patološke promjene retikuloendotelnog sustava, kože i drugih organa

Imunološki sustav kitova ne razlikuje se značajno od onoga u drugih sisavaca. Brucele je izdvojena iz tkiva retikuloendotelnog sustava poput limfnih čvorova, slezene i jetre kao i iz krvi, peritonealne tekućine, bubrega, kožnih apscesa i apscesa ispod sala sisavaca iz reda kitova. Razni patološki nalazi vezani uz brucelozu opisani su u raznim tkivima i organima. Najčešće su to hepatomegalija, splenomegalija, povećanje limfnih čvorova, pojava nekrotičnih žarišta na jetri i slezeni, upalna infiltracija slezene, limfnih čvorova i gušterače te kongestija bubrega (Foster i sur., 2002., Gonzalez-Barrientos i sur., 2010.).

Patološke promjene prouzročene vrstom *B. pinnipedialis*

Za razliku od kitova u kojih je najveći broj uzoraka dobiven iz bolesnih ili nasukanih životinja, u tuljana je najveći broj uzoraka dobiven iz klinički zdravih životinja i životinja ulovljenih u divljini. U njih nisu bile opisane vidljive patološke promjene. Bakterije su uglavnom izdvojene iz dišnog sustava tuljana (pluća ili plućnih parazita), retikuloendotelnog sustava (limfni čvorovi, slezena i jetra). Brucele su isto tako izdvojene iz probavnog sustava, bubrega, testisa i

placente kod pobačaja morskog lava. Postoji pretpostavka da su plućni crvi važni u prenošenju bakterije roda *Brucella* u perajara. Perajari se inficiraju plućnim crvima konzumiranjem ribljih vrsta koje su posredni domaćini. Parazit *Parafilaroides decurus* koji je izdvojen iz kalifornijskog morskog lava upotrebljava riblju vrstu *Girella nigricans* kao posrednog domaćina (Garnet i sur., 1997., Dawson i sur., 2008.a).

Dijagnostika bruceloze u morskih sisavaca

Nema kliničkih simptoma koji bi ukazivali na brucelozu u morskih sisavaca. Na bolest se može posumnjati prilikom pobačaja ili patološkog nalaza orhitisa, epididimitisa, apscesa u potkožju, meningitisa ili meningoencefalitisa i prilikom neke sustavne bolesti. Brucele su isto tako izdvojene iz organa zdravih životinja (Nymo i sur., 2011.). U cilju razumijevanja patogeneze, proširenosti epizootologije i epidemiologije bruceloze te izvora infekcije u morskih sisavaca u oceanima i morima diljem svijeta, potrebno je primijeniti dijagnostičke pretrage i kada god je to moguće izdvojiti i identificirati brucele. Za tu svrhu koriste se dvije mogućnosti. Prvom se nastoji izdvojiti bakterija, nakon čega slijedi identifikacija. Ako brucelu nije moguće izdvojiti klasičnim bakteriološkim načinom, koriste se druge mogućnosti poput utvrđivanja određenih sekvenci DNK bakterija iz roda *Brucella* metodom lančane reakcije polimerazom (PCR) ili izravnom vizualizacijom bakterijskih antigena u tkivima metodom imunofluorescencije (IF), zatim imunoperoksidaznim testom (I-HRP) ili imunohistokemijskim metodama. Neizravne metode se temelje na otkrivanju protutijela brucela u serumu inficiranih morskih sisavaca (Guzman-Verri i sur., 2012.).

U serološkoj se dijagnostici koriste standardni serološki testovi: Rose Bengal, test, klasična aglutinacija, reakcija vezanja komplementa te imunoenzimni test. Serološki testovi nisu u potpunosti standardizirani za morske sisavce pa rezultate treba prosuđivati s oprezom. Iako su pozitivne serološke reakcije zabilježene u 23 od 38 vrsta testiranih u cijelom svijetu, postoje značajne varijacije u specifičnosti i osjetljivosti raznih seroloških metoda koje se koriste u serološkoj dijagnostici. Iz tog ih je razloga potrebno interpretirati s oprezom (Meegan i sur., 2010.). Utvrđivanje antigena brucele neizravnom imunofluorescencijom iz organa i tkiva klinički sumnjivih slučajeva na brucelozu predstavlja brzi i učinkovit dijagnostički alat (Hernandez-Mora i sur., 2009.).

Za bakteriološku pretragu uzimaju se tkiva i organi uginulih i na brucelozu sumnjivih životinja. Brucele su izdvojene iz različitih tkiva i organa, s vidljivim ili mikroskopskim patološkim promjenama ili iz potpuno zdravog tkiva ili organa. Izdvajaju se iz slobodno živućih životinja, ulovljenih ili držanih u akvariju. Ipak, najčešće su uzorci dobiveni od nasukanih životinja lošeg zdravstvenog stanja ili uginulih. Važan korak prije same obrade je priprema materijala prije naciepljivanja na podloge. Površinska meka tkiva prije naciepljivanja potrebno je sterilizirati ili spržiti, a kruta površinska tkiva potrebno je prije samog naciepljivanja odstraniti skalpelom. Ponekad se primjećuje slab rast na hranjivoj podlozi Farrell, zbog čega se najčešće koriste druge selektivne hranjive podloge za brucelozu (Guzman-Verri i sur., 2012.). Rast kolonija podrijetlom iz kitova i dupina na hranjivim podlogama vidljiv je već nakon četiri dana inkubacije, dok se rast kolonija podrijetlom iz tuljana pojavljuje tek za 7 do 10 dana. Stoga neki autori preporučaju da se materijal podrijetlom od morskih sisavaca inkubira 14 dana. Isto tako

poželjno je da se materijal naciepljuje na različite neselektivne agare poput serum dekstroze agara i krvnog agara. Potrebno je hranjive podloge inkubirati na 37 °C uz prisutnost 10% CO₂ i bez CO₂ u atmosferi. Izolatima podrijetlom iz kitova za rast nije potreban CO₂, a perajarima je potreban. Kolonije brucela podrijetlom iz morskih sisavaca su tipičnog glatkog (S) oblika, podignute, sjajne, konveksne, boje meda, prozirne. Brucele su kokobacili ili kratki štapići, ponekad se pojavljuju pojedinačno, u parovima ili malim nakupinama. Prilikom uzorkovanja materijala za bakteriološku pretragu treba uzeti što više organa i tkiva bez obzira na promjene. Potrebno je uzeti reproduktivne organe, mliječnu žlijezdu, različite apscese, limfne čvorove, pluća, izmet i drugo (Foster i sur., 2002., Dawson i sur., 2008.b).

Postoji više molekularnih metoda koje se upotrebljavaju za dokaz i identifikaciju *B. ceti*. Najčešće se upotrebljava PCR-RFLP kojim se istražuju geni vanjske membrane Omp2a, Omp2b, i Omp25, zatim dokaz insercijske sekvence IS711, tipizacija na osnovi slijeda na više lokusa (MLST) i analiza varijabilnog broja tandemskih ponavljanja (MLVA). Ovim metodama se može dobro identificirati *B. ceti* i različite podgrupe koje odgovaraju njihovim domaćinima poput tip *B. ceti* iz dupina tip *B. ceti* iz obalnog dupina i sojevi *B. ceti* izdvojeni iz ljudi (Bourg i sur., 2007., Dawson i sur., 2008.b, Zygmunt i sur., 2010.).

Liječenje bruceloze u morskih sisavaca

Klasična antibiotska terapija za brucelozu s vremena na vrijeme pokušava se davati dupinima u zatočeništvu, ali nije zabilježen uspješan tretman. Zbog dugotrajnog unutarstaničnog opstanka brucela u organizmu i rizika od širenja infekcije na druge životinje i

ljude, neškodljivo uklanjanje pozitivnih životinja, a osobito onih s kliničkim komplikacijama smatra se nužnim i opravdanim (Hernandez-Mora i sur., 2013.).

Kontrola i nadzor bruceloze u morskih sisavaca

Konzumacija mesa i drugih proizvoda od jedne ili više od 87 različitih vrsta morskih sisavaca je vrlo česta (Robards i Reeves, 2011.). Unatoč svim tim spoznajama ne postoji sustavni nadzor bruceloze u morskih sisavaca, moguće posljedice su češće infekcije ljudi i širenje bolesti. Postoje samo rijetka mjesta u kojima se kontrolira meso i organi radi dalje potrošnje. Najčešće su morski sisavci ulovljeni i obrađeni bez ikakve mjere opreza. *B. ceti* i *B. pinnipedialis* imaju sve karakteristike infektivnosti i mogu zaraziti ljude i druge vrste životinja. Ne postoji rutinska kontrola nasukanih i uginulih životinja te takve životinje često dolaze u izravan dodir s domaćim životinjama i ljudima te postoji potencijalna opasnost od infekcije (Van Bresse i sur., 2009., Hernandez-Mora i sur., 2013.).

U tim slučajevima treba se držati općih načela kontrole infekcije, uključujući izdvajanje, dezinfekciju i higijenu objekata u kojima se kontrolira bruceloza sumnjivih morskih sisavaca. Brucele su osjetljive na mnoge dezinficijense poput hipoklorita, 70% etanola, izopropanola, fenolne dezinficijense, formaldehid, glutardehid i ksilen. Prisutnost organskih tvari i niskih temperatura može smanjiti djelotvornost dezinfekcijskog sredstva. Za dezinfekciju površina koristi se 2,5% natrijev hipoklorit, 2-3% otopina natrijevog hidroksida, 20% svježa suspenzija gašenog vapna ili 2% otopina formaldehida. Etanol, izopropanol ili razrijeđene otopine hipoklorita mogu se koristiti za dezinfekciju onečišćene

kože. Sterilizacija (vlažna toplina 121 °C /15 min.) može se koristiti za uništavanje brucela na onečišćenom priboru i opremi. Ove bakterije isto tako mogu biti uništene suhom toplinom (160-170 °C) u trajanju od najmanje jednog sata. Za dezinfekciju organskog materijala upotrebljava se ksilen (1 mm/L) i kalcij cijamid (20 kg/m³) tijekom 2 do 4 tjedna. Brucele se isto tako mogu uništiti gama zračenjem i pasterizacijom.

Sažetak

Zbog nemogućnosti sustavnog praćenja brucela nema dovoljno informacija o kliničkoj slici morskih sisavaca. U većini slučajeva izolati brucela izdvojeni su iz nasukanih sisavaca uglavnom iz reda kitova, koji su u kritičnom zdravstvenom stanju ili su već uginuli. Teško je točno odrediti koja su karakteristična svojstva prvenstveno vezana uz brucelozu i ustvrditi kliničke i patološke znakove izravno vezane uz infekciju brucelom. Mnogi nasukani morski sisavci općenito su domaćini parazitima u raznim organima s mnoštvom patoloških lezija. Takve patološke lezije mogu štetiti normalnoj fiziologiji i prouzročiti ozbiljne bolesti poput: pneumonije, meningitisa, zatajenje jetre ili srca. Isto nije neuobičajeno naći druge bakterijske vrste ili gljivice u istim organima i tkivima iz kojih je izdvojena brucela. U nekim drugim slučajevima postojala je opravdana sumnja na istovremene virusne infekcije. Diferencijalna klinička i patološka dijagnoza bruceloze u morskih sisavaca iz reda kitova nije jednostavna i zahtijeva detaljna istraživanja. Temeljno poznavanje anatomije i fiziologije sisavaca iz reda kitova od ključne je važnosti za tumačenje kliničkih i patoloških nalaza, a osobito za razlikovanje patoloških znakova i fizioloških promjena pripisanih sazrijevanju i starenju morskih sisavaca. Ne postoji sustavni nadzor bruceloze u morskih sisavaca već postoje samo rijetka kontrolna mjesta u kojima se kontrolira meso i organi radi dalje potrošnje. Moguća posljedica su češće infekcije ljudi i širenje bolesti.

Ključne riječi: *morski sisavci, klinička slika, patološke promjene, dijagnostika*

Literatura

1. BOURG, G., D. O'CALLAGHAN and M. L. BOSCHIROLI (2007): The genomic structure of *Brucella* strains isolated from marine mammals gives clues to evolutionary history within the genus. *Vet. Microbiol.* 125, 375-380.
2. CAY, S., G. CAGIRCI, O. MADEN, Y. BALBAY and S. AYDOGLU (2009): *Brucella* endocarditis: a registry study. *Kard. Pol.* 67, 274-280.
3. DAGLEISH, M. P., J. BARLEY, F. E. HOWIE, R. J. REID, J. HERMAN and G. FORSTER (2007): Isolation of *Brucella* species from a diseased atlanto-occipital joint of an Atlantic white-sided dolphin (*Lagenorhynchus acutus*). *Vet. Rec.* 160, 876-878.
4. DAGLEISH, M. P., J. BARLEY, J. FINLAYSON, R. J. REID and G. FORSTER (2008): *Brucella ceti* associated pathology in the testicle of a harbour porpoise (*Phocoena phocoena*). *J. Comp. Pathol.* 139, 54-59.
5. DAVISON, N., M. P. CRANWELL, L. PERRETT, L. J. DAWSON, E. DEAVILLE, R. STUBBERFIELD, E. J. JARVIS and P. D. JEPSON (2009): Meningoencephalitis associated with *Brucella* species in a live-stranded striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) in south-west England. *Vet. Rec.* 165, 86-89.
6. DAVISON, N., L. PERRETT, L. LAW, L. J. DAWSON, R. STUBBERFIELD, E. J. MONIES, E. DEAVILLE and P. D. JEPSON (2011): Infection with *Brucella ceti* and high levels of polychlorinated biphenyls in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) stranded in south-west England. *Vet. Rec.* 169, 14.
7. DAWSON, C. E., L. L. PERRETT, E. J. STUBBERFIELD, J. A. STACK, S. S. FARRELLY, W. A. COOLEY, N. J. DAVISON and S. QUINNEY (2008a): Isolation and characterization of *Brucella* from the lungworms of a harbour porpoise (*Phocoena phocoena*). *J. Wildl. Dis.* 44, 237-246.
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 (2008b): Phenotypic and molecular characterisation of *Brucella* isolates from marine mammals. *BMC Microbiol.* 8, 224-227.
9. EWALT, D. R., J. B. PAYEUR, B. M. MARTIN, D. R. CUMMINS and W. G. MILLER (1994): Characteristics of *Brucella* species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 448-452.
10. FOSTER, G., A. P. MACMILLAN, J. GODFROID, F. HOWIE, H. M. ROSS, A. CLOECKAERTI, 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.
11. GALATIUS, A., C. SONNE, C. C. KINZE, R. DIETZ and J. E. JENSEN (2009): Occurrence of vertebral osteophytosis in a museum sample of white-beaked dolphins (*Lagenorhynchus albirostris*) from Danish waters. *J. Wildl. Dis.* 45, 19-28.
12. GARNET, M. M., D. M. LAMBOURN, S. J. JEFFRIES, P. B. RHYAN, D. R. EWALT, L. M. POLZIN and N. E. CHEVILLE (1997): Evidence of *Brucella* infection in *Parafilaroides lungworms* in a Pacific harbour seal (*Phoca vitulina richardsi*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 9, 298-303.

13. GONZALES, T., I. A. PATTERSON, R. J. REID, G. FOSTER, M. BARBERAN, J. M. BLASCO, S. KENNEDY, F. E. HOWIE, J. GODFROID, A. P. MACMILLAN and A. SHOCK, D. BUXTON (2002): Chronic meningoencephalitis associated with *Brucella* sp. infection in live-stranded striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). J. Comp. Pathol. 126, 147-152.
14. GONZALES-BARRIENTOS, R., J. A. MORALES, G. HERNANDEZ-MORA, E. BARQUERO-CALVO, C. GUZMAN-VERRI, E. CHAVEZ-OLARTE and E. MORENO (2010): Pathology of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) infected with *Brucella ceti*. J. Comp. Pathol. 142, 347-352.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. JAUNIAUX, T. P., C. BRENEZ, D. FRETIN, J. GODFROID, J. HAETERS, T. JACQUES, F. KERCKHOF, J. MAST, M. SARLET and F. L. COIGNOUL (2010): *Brucella ceti* infection in harbour porpoise (*Phocoena phocoena*). Emerg. Infect. Dis. 16, 1966-1968.
20. JEPSON, P. D., S. BREW, A. P. MACMILLAN, J. R. BAKER, J. BARNETT, J. K. KIRKWOOD, T. KUIKEN, I. R. ROBINSON and V. R. SIMPSON (1997): Antibodies to *Brucella* in marine mammals around the coast of England and Wales. Vet. Rec. 513-515.
21. MAQUART, M., P. LE FLECHE, G. FOSTER, M. TRYLAND, F. RAMISSE, B. DJONNE, S. AL DAHOUK, I. JACQUES, H. NEUBAUER, K. WALRAVENS, J. GODFROID, A. CLOECKAERT and G. VERGNAUT (2009): MLVA-16 typing of 295 marine mammal *Brucella* isolates from different animal and geographic origins identifies 7 major groups within *Brucella ceti* and *Brucella pinnipedialis*. BMC Microbiol. 9, 145-155.
22. McDONALD, W. L., R. JAMALUDIN, G. MACKERET, 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.
23. MEEGAN, J. C. FIELD, I. SIDOR, T. ROMANO, S. CASINGHINO, C. R. SMITH, L. KASHINSKY, P. A. FAIR, G. BOSSANT, R. WELLS and J. L. DUNN (2010): Development, validation, and utilization of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies against *Brucella* species in marine mammals. J. Vet. Diagn. Invest. 22, 856-862.
24. MILLER, W. G., L. G. ADAMS, T. A. FICHT, N. F. CHEVILLE, J. P. PAYEUR, D. R. HARLEY, C. HOUSE, S. H. RIDGWAY (1999): *Brucella*-induced abortions and infection in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). J. Zoo. Wildl. Med. 30, 100-110.
25. MUNOZ, P. M., G. GARCIA-CASTRILLO, P. LOPEZ-GARCIA, J. GONZALES-CUELLO, M. J. DE MIGUEL, C. M. MARIN, M. BARBERAN and J. M. BLASCO (2006): Isolation of *Brucella* species from alive-stranded striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) in Spain. Vet. Rec. 158, 450-451.
26. 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.
27. OBIAKO, O. R., D. OGOINA, S. S. DANBAUCHI, S. I. KWAIFA, N. D. CHOM and E. NWKORIW (2010): Neurobrucellosis – a case report and review of literature. Niger. J. Clin. Pract. 13, 347-350.
28. OCHRYMOWYCH, C. and R. LAMBERSTEN (1984): Anatomy and vasculature of a minke whale heart. Am. J. Anat. 169, 165-175.
29. OHISHI, K., Y. FUJISE and T. MARUYAMA (2008): *Brucella* spp. In the western North Pacific and Antarctic cetaceans: a review. J. Cetacean Res. Manag. 10, 67-72.
30. OHISHI, K., R. ZENITANI, T. BANDO, Y. GOTO, K. UCHIDA, T. MARUYAMA, T. YAMAMOTO, N. MIYAZAKI and Y. FUJISE (2003): Pathological and serological evidence of *Brucella* infection in baleen whales (Mysticeti) in the western North Pacific. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 26, 125-136.
31. OLIVEIRA, J. B., J. A. MORALES, R. C. GONZALES-BARRIENTOS, J. HERNANDEZ-GAMBOA and G. HERNANDEZ-MORA (2011): Parasites of cetaceans stranded on the Pacific coast of Costa Rica. Vet. Parasitol. 182, 319-328.
32. ÖZBEK, C., U. YETKIN, I. YUREKLI, M. BADEMCI and A. GURBUZ (2007): Development of commissural perforation of an aortic valve in *Brucella* endocarditis with giant vegetation. Inter. J. Thorac. Cardiovasc. Sur. 10, 1-8.
33. ROBARDS, M. D. and R. R. REEVES (2011): The global extend and character of marine mammal consumption by humans 1970 -2009. Biol. Conserv. 144, 2770-2786.
34. VAN BRESSEM, M. F., J. A. RAGA, G. DIGUARDO, P. D. JEPSON, P. J. DUINGNAN, U. SIEBERT, T. BARRETT, M. C. SANTOS, I. B. MORENO, S. SICILIANO, A. AQUILAR and K. WAEREBEEK (2009): Emerging infectious diseases in cetaceans world wide and the possible role of environmental stressors. Dis. Aquat. Org. 86, 143-157.
35. ZYGMUN, M. S., M. MAQUART, N. BERNARDET, B. DOUBLET and A. CLECKAERT (2010): Novel IS711-specific chromosomal locations useful for identification and classification of marine mammal *Brucella* strains. J. Clin. Microbiol. 48, 3765-3769.

Brucellosis in Marine Mammals (Part II.)

Željko CVETNIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Full Professor, Maja ZDELAR-TUK, DVM, PhD, Sanja DUVNJAK, Grad. Mol. Biol. Eng., 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

Due to the lack of systematic monitoring of brucellosis, there is insufficient information on the clinical picture of marine mammals. Most isolates of *Brucella* sp. were from stranded mammals, predominantly whales, which were found in a critical state of health or dead. It is difficult to determine the characteristic properties of brucellosis and to determine the clinical and pathological signs directly related to brucellosis. Many stranded marine mammals are hosts for parasites in various organs with a multitude of pathological lesions, and these pathological lesions can harm the normal physiology, causing serious diseases such as pneumonia, meningitis, liver or heart failure. It is not uncommon to find other bacterial species or fungi in the same organs and tissues from which *Brucella* sp. is isolated. In other cases,

there is a reasonable suspicion of concurrent viral infections. Differential clinical and pathological diagnosis of brucellosis from whales is not easy and requires detailed research. Basic knowledge of the anatomy and physiology of whales are of crucial importance for the interpretation of the clinical and pathological findings, in particular to distinguish pathological characters and physiological changes attributed to the maturing and aging of marine mammals. There are no systematic controls of brucellosis in marine mammals, and there are only sparse checkpoints where meat and organs for consumption are controlled. Possible consequences are often human infection and spread of the disease.

Key words: *Marine mammals, Clinical, Pathology, Diagnosis*



ANIMEDICA

- * Stalno ste prijavili?
- * Diza se začepila, a niste potrošili sprej!
- * Nepravilno sprejanje?
- * Curi !!!
- * Teško je pristupiti rani.

Don't worry – be happy!

Imamo rješenje !

Animedazon sprej (Klortetraciklin hidroklorid)

Aktivna tvar: Klortetraciklin hidroklorid...3,210 g

Ciljne vrste životinja: Goveda, svinje, ovce

Indikacije: Primjena kod površinskih ili operacionih rana kontaminiranih sa uzročnicima osjetljivim na klortetraciklin. Može se koristiti i kao dio tretmana kod površinskih infekcija kože i papaka, posebno kod interdigitalnih infekcija kao što su infekciozni pododermatitis, interdigitalna flegmona i digitalni dermatitis uzrokovani sa uzročnicima osjetljivim na klortetraciklin.

Način primjene i doze: Za primjenu na koži, dobro protresti prije primjene, držati na udaljenosti od 15-20 cm od mjesta na koje primjenjujemo. Sprejati 3 sek. dok tretirano mjesto ne poprimi jednaku boju. Kod infekcija papaka ponoviti nakon 30 sek. Kod primjene na površinskim ranama dovoljna je jednokratna primjena.

Digitalni dermatitis - dvije primjene u razmaku od 30 sek., 1-2 puta na dan tijekom 3 dana. Kod drugih infekcija papaka, kao što su



Jednostavna primjena:
dodatke dimenzionirani za
primjenu samo jednom
rukom



Točno i precizno sprejanje



Diza se neće začepiti prije
nego potrošite sprej



Može se koristiti
u različitim položajima



Brzo se suši



Ne curi



CIJENA
48,53 kn
+ PDV

infekciozni pododermatitis i interdigitalna flegmona potrebne su dvije primjene u razmaku od 30 sek., 1-2 puta na dan. Ovisno o ozbiljnosti infekcije primjena treba trajati 1-3 dana.

Kontraindikacije: Ne koristiti kod životinja preosjetljivih na tetra cikline. Ne koristiti na vimenu životinja u laktaciji čije se mlijeko koristi za prehranu ljudi.

Posebna upozorenja: Područje na koje primjenjujemo sprej treba dobro očistiti. Ako sprej primjenjujemo na glavi, obavezno treba zaštititi oči životinje. Životinje treba spriječiti da ližu tretirano područje, kao i da ližu druge tretirane životinje. Nakon primjene na papcima, životinje treba držati na suhoj podlozi barem 1 sat.

Karencija: Meso i jestive iznutrice - 0 dana

Mlijeko - 0 dana

Rok trajanja: 18 mjeseci

Način čuvanja: Boca je pod pritiskom. Zaštititi od sunca i ne izlagati temperaturama višim od 50 °C. Ne čuvati na temperaturi nižoj od 25 °C. Ne rashlađivati ili smrzavati. Bocu ne bušiti niti spaljivati, čak i ako je prazna. Ne pušiti tijekom primjene.



Centralna Veterinarska Agencija d.o.o.

Zagreb; Utinjska 40; R. Hrvatska

tel: 01/2304-334; -335; mob: 091/4655-112; -113

fax: 01/6604-031; mail: cva@cva.hr

www.cva.hr

Najčešći gastrointestinalni simptomi u pasa i njihovo značenje u svakodnevnoj kliničkoj praksi



Iva Šmit, R. Beck, Ines Jović, Iva Mayer, Martina Crnogaj i D. Potočnjak*

Uvod

Probavni simptomi među najučestalijim su problemima zbog kojih vlasnici dovode životinje na pregled. Najčešći probavni simptomi koji se javljaju u pasa su povraćanje i proljev, a njihovi uzroci su mnogobrojni: invazije parazitima, infekcije bakterijama, virusima, uzroci idiopatske upale (upalna bolest crijeva), intoksikacije, pogreške pri hranjenju te bolesti jetre, bubrega, gušterače, kao i endokrinopatije. Najčešći paraziti koji u pasa uzrokuju probavne simptome su paraziti *Giardia duodenalis*, *Ancylostoma caninum*, *Isoospora canis*, *Uncinaria stenocephala* i *Trichuris vulpis*, a vrlo su česte i njihove istovremene invazije (Oliveira-Sequiera i sur., 2002., Ramirez-Barrios i sur., 2004., Fontanarrossa i sur., 2006., Šmit, 2011.).

Klinička slika bolesti probavnog trakta može izrazito varirati od pacijenta do pacijenta, kao i intenzitet bolesti, ovisno o etiološkim čimbenicima bolesti, individualnoj dispoziciji, lokalizaciji i intenzitetu promjena u

probavnom traktu. Ova raznolikost kliničkih simptoma i njihovog intenziteta predstavlja ozbiljnu poteškoću pri procjeni intenziteta bolesti i uspješnosti pojedinih terapijskih čimbenika na patološke promjene u probavnom traktu (Gaschen, 2010., Šmit i sur., 2011.).

Simptomatologija bolesti probavnog sustava

Disfagija

Disfagija se definira kao otežano ili bolno gutanje uz pojačanu salivaciju, a ponekad i ispadanje zalogaja iz usta. Najčešće se javlja kao posljedica patoloških procesa u ustima, ždrijelu ili jednjaku (Tabela 1). U slučaju pojave akutnih i progredirajućih simptoma potrebno je isključiti postojanje stranih tijela i upalnih procesa u ždrijelu i/ili jednjaku (Elwood, 2000.a, Washabau, 2013.b).

Dr. sc. Iva ŠMIT, dr. med. vet., viša asistentica, Ines JOVIĆ, dr. med. vet., stručna suradnica, dr. sc. Iva MAYER, dr. med. vet., docentica, dr. sc. Martina CRNOGAJ, dr. med. vet., viša asistentica, dr. sc. Dalibor POTOČNJAK*, dr. med. vet., redoviti profesor (dopisni autor, e-mail: dpotocnjak@vef.hr), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; dr. sc. Relja BECK, znanstveni savjetnik, Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

Tabela 1. Najčešći uzroci disfagije u pasa

Bol u usnoj šupljini	Stomatitis, glositis, pharyngitis Mačiji rinotraheitis FeLV, FIV Imunosno posredovane bolesti Strana tijela Uremični glositis Sepsa Ingestija nadražujućih tvari Periodontitis, abscess korijena zuba, fraktura zuba Frakture kostiju Osteomijelitis
Mase u usnoj šupljini	Neoplazije (karcinom pločastih stanica, fibrosarkom, melanom, eozinofilni granulom)
Neuromuskularne bolesti	<i>Myasthenia gravis</i> Akutni poliradikuloneuritis Botulizam Polimiozitis Bolesti temporomandibularnog zgloba
Neurološke bolesti	Bjesnoća Paraliza <i>n. trigemina</i> Neuropatije kranijalnih živaca

Tabela 2. Najčešći uzroci regurgitacije u pasa

Idiopatski megaezofagus	
Sekundarni megaezofagus	<i>Myasthenia gravis</i> Hipoadrenokortizam, hipotireoidizam Polineuropatija, polimiozitis Štenećak Sistemički <i>lupus eritematosus</i> Trovanje olovom, organofosfatima
Poremećaji motiliteta	
Strana tijela	
Strikture	Intraluminalne lezije Ekstraluminalna kompresija
Ezofagitis	
Neoplazije ili granulom jednjaka	
Divertikulum jednjaka	

Regurgitacija

Regurgitacija predstavlja pasivno retrogradno kretanje sadržaja iz jednjaka prema i kroz gornji jednjački sfinkter. Najčešće regurgitaciju razlikujemo

od povraćanja po izostanku aktivnog naprežanja životinje neposredno prije izbacivanja sadržaja. Najčešća komplikacija koja se javlja pri regurgitaciji je aspiracijska pneumonija (Moore, 2008., Potočnjak, 2012., Washabau, 2013.c).

Tabela 3. Najčešći uzroci začepa u pasa

Jatrogeni uzroci	Opijati, antikolinergici, sukralfat
Okolišni uzroci ili svijesno odbijanje defekacije	Promjene u svakodnevnoj rutini Manjak aktivnog kretanja Bolovi u anorektalnoj regiji Nemogućnost zauzimanja pozicije za defekaciju (neurološke ili ortopedske bolesti)
Hrana	Dlake, kosti neprobavljivi materijali
Obstrukcija kolona	Pseudokoprostaza Devijacija rektalnog kanala Perinealna hernija Neoplazije Kongenitalne ili stečene strikture Strana tijela, absces ili granulom u rektumu Prostatomegalija Sublumbalna limfadenopatija
Slabost kolona	Sistemske bolesti (hiperkalcemija, hipokalemija, hipotireoidizam) Lokalizirane neuromuskularne bolesti (ozljede kralješničke moždine ili živaca zdjelice, disautonomija, kronična masivna dilatacija kolona)
Ostale bolesti	Izrazita dehidracija Idiopatski megakolon

Najčešći uzroci regurgitacije navedeni su u tabeli 2.

U svakodnevnoj praksi ponekad je teško razlikovati regurgitaciju od povraćanja samo na temelju anamnestičkih podataka i kliničke slike. Tada se izbačeni sadržaj može pretražiti uranjanjem trakice za brzu pretragu urina. Ako je pH pretraživanog sadržaja 5 ili manji najvjerojatnije se radi o sadržaju želuca (povraćanje). Ako je pH veći od 7 te je pretraga na bilirubin negativna, najvjerojatnije se ne radi o regurgitiranom sadržaju. Prisutnost bilirubina u sadržaju uglavnom se interpretira kao sadržaj iz duodenuma (povraćanje) (Willard, 2009.).

Ingestija trave/koprofagija

Mnogi psi uživaju u ingestiji trave bez nekog poznatog razloga, no pojava pojačane želje za ingestijom

trave popraćeno povraćanjem, nadutošću i mučninom predstavlja simptom koji se najčešće povezuje sa sindromom povraćanja žuči u pasa ili hipomotilitetom probavnog trakta u pasa. Ponekad se u velikih pasmina pasa kao prvi simptom proširenja i zavrnuća želuca javlja impulzivna ingestija trave. Prema nekim autorima (Tams, 2003.), u pasa u kojih se pojava ingestije trave javlja popraćena povraćanjem ili nekim drugim probavnim simptomom, izostanak ove pojave može se koristiti kao pokazatelj uspješnosti terapije.

Koprofagija se definira kao ingestija fecesa. Najčešće se javlja kao posljedica «lošeg» vladanja, dosade, nerješених konfliktnih situacija ili posljedica bolesti (parazitizam, nedostatak nutrijenata, egzokrina insuficijencija gušterače, malabsorpcija, hiperadrenokorticism, polifagija) (Wells, 2003.).

Začep

Konstipacija je definirana kao otežano, neadekvatno pražnjenje crijeva, dok je opstipacija definirana kao potpuni prestanak pražnjenja crijeva. Vrlo je važno anamnestički isključiti

okolišne, prehrambene i jatrogene čimbenike koji mogu dovesti do pojave začepa. U kliničku obradu pacijenata sa začepom potrebno je obvezno uključiti i biokemijske pretrage krvi (hiperkalcemija, hipokalcemija, hipotireoidizam), pretragu fecesa na eventualne strane materijale,

Tabela 4. Najčešći uzroci povraćanja u pasa

Hrana	Nagla promjena hrane Ingestija stranih materijala (smeće, bilje) Netolerancija na pojedine sastojke hrane Alergija na hranu
Lijekovi i toksini	Antikolinergici Nesteroidni protuupalni lijekovi Olovo Etilen glikol Cink
Metaboličke bolesti	Diabetes mellitus Hipo adrenokortizizam Bolesti bubrega i/ili jetre Sepsa Acidoza Hiperkalemija i hipokalemija Hiperkalcemija i hipokalcemija Hipomagnesemija Toplinski udar
Bolesti želuca	Obstrukcija (strana tijela, hipertrofija pilorusa) Gastritis Parazitarne invazije Dilatacija i torzija želuca
Bolesti tankih crijeva	Parazitarne invazije Enteritis Opstrukcija (strana tijela, promjene položaja crijeva, neoplazije) Upalna bolest crijeva Gljivična oboljenja Promjene položaja crijeva
Bolesti debelog crijeva	Kolitis Opstipacija
Ostale bolesti	Upala gušterače Peritonitis Opstrukcija žučovoda Upala prostate Urinarna opstrukcija Dijafragmatska hernija Neoplazije Piometra

kao i rektalnu pretragu i rendgenološku pretragu abdomena i zdjelice (Elwood, 2000.b, Washabau, 2013.a). Najčešći uzroci začepa u pasa navedeni su u tabeli 3.

Povraćanje

Povraćanje predstavlja aktivno izbacivanje hrane i/ili tekućine iz želuca ili proksimalnih dijelova tankih crijeva kroz usta, a popraćeno je naprezanjem i aktivnim kontrakcijama abdominalne stijenke. Uvijek ga je potrebno razlikovati od regurgitacije koja predstavlja pasivno, retrogradno gibanje hrane/tekućine. Povraćanje je često predhodeno simptomima mučnine: pojačanom salivacijom, gutanjem i izraženim nemirom životinje. Povraćeni sadržaj osim više ili manje probavljene hrane može sadržavati i žuč te svježu ili probavljenu krv (hematemeza). Povraćanje se može javiti nedugo nakon uzimanja obroka, ali i više sati nakon istog. Najčešći uzroci povraćanja u pasa navedeni su u tabeli 4. (Cadoré, 2010., Potočnjak, 2010.).

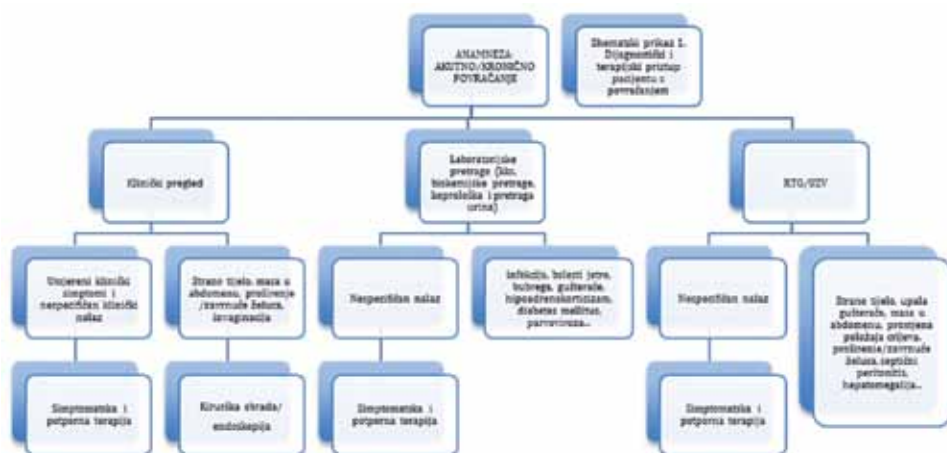
Osnovni dijagnostički i terapijski pristup u pasa s povraćanjem prikazan je u shematskom prikazu 1.

S obzirom na tijek bolesti povraćanje dijelimo na akutno i kronično.

Kroničnim povraćanjem smatra se svako povraćanje koje traje duže od dva tjedna. Pri parazitarnim invazijama probavnog trakta u pasa često se javlja kronično intermitentno povraćanje (Tams, 2003., Tangtrongsup i Scorsa, 2010.).

Prisutnost svježe ili djelomično probavljene krvi u povraćenom sadržaju nazive se hematohezija. Manja količina krvi najčešće je posljedica umjerenog oštećenja/ erozija po sluznici želuca ili duodenuma do kojeg dolazi kao posljedica gubitka integriteta sluznice pri hipovolemiji, uporabi lijekova, akutnom ili kroničnom gastritisu, upalnoj bolesti crijeva ili prisutnosti neoplazija. Hematohezija se također javlja pri koagulopatijama ili kao posljedica ingestije krvi iz usta, nosa, sinusa ili pluća (Willard, 2013.).

Boja i miris povraćenog sadržaja važni su za kliničare pri procjeni eventualnog uzroka povraćanja. Tako je prisutnost ugrušane krvi koja podsjeća na zrna kave uglavnom posljedica ozbiljnih erozija ili ulceracija; prisutnost svježe, crvene krvi govori u prilog da se radi o trenutnom ili opsežnom krvarenju. Miris povraćenog sadržaja po fecesu sugerira da se radi o opstrukciji crijeva, kao i pojava tzv. projektilnog povraćanja



Shematski prikaz 1. Dijagnostički i terapijski pristup pacijentu s povraćanjem

koja upućuje na opstrukciju u području pilorusa ili proksimalnih dijelova crijeva (Dunn, 2000.). Prisutnost žuči u povraćenom sadržaju najčešće se javlja kao posljedica upalnih bolesti, stranih tijela ili upale gušterače, a u malih pasmina pasa kronično povraćanje žuči javlja se kao posljedica gastritisa s refluksom. Povraćanje koje ne rezultira izbacivanjem sadržaja, već se sastoji samo od naprezanja najčešće se povezuje s proširenjem i zavrnućem želuca u pasa (Tams, 2003., Crnogaj i sur., 2013., Washabau, 2013.d).

Proljev

Proljev je najčešći simptom bolesti probavnog sustava pasa (Tams, 2003.). Pod proljevom podrazumijevamo povećanu količinu fekalnog sadržaja uzrokovanu povećanom količinom vode i/ili suhe tvari u stolici najčešće uz povećanu frekvenciju defekacije. Mehanizam nastanka proljeva prema nekim autorima (Willard, 2010.) temelji se na dva mehanizma: povećana propustnost sluznice crijeva (upalni procesi, neoplastične infiltracije) i povećana sekrecija u lumen crijeva (kemijski i infektivni toksini), a Tams (2003.)

Tabela 5. Diferencijacija proljeva karakterističnog za tanko crijevo i proljeva karakterističnog za debelo crijevo

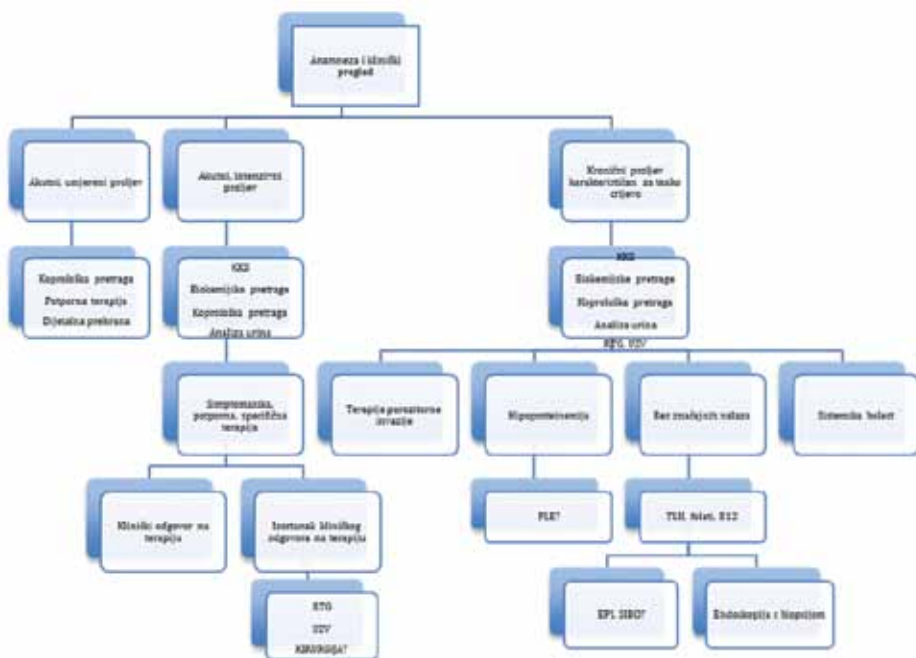
	Tanko crijevo	Debelo crijevo
Karakteristike fecesa		
Sluz Svježa krv	Rijetko prisutna Odsutna	Učestalo prisutna Često prisutna kao tračci sviježe krvi na površini stolice
Volumen Konzistencija fecesa	Povećani Vodenasta, kašasta ili mekoformirana, ponekad s elementima neprobavljene hrane	Normalan do smanjen Meko formirana do formi- rana, bez elemenata nepro- bavljene hrane
Veličina/oblik fecesa	Ovisi o količini tekućine u fecesu	Ponekad fiziološki ili uman- jenog promijera
Steatoreja	Prisutna pri maldigestiji/ malapsorpciji	Odsutna
Melena Boja fecesa	Ponekad prisutna Od vrlo svijetle do gotovo potpuno crne	Odsutna Najčešće smeđa
Defekacija		
Učestalost	Uglavnom učestala, 2-4 puta u 24 sata	Učestala, 3-10 puta u 24 sata
Tenezam	Odsutan	Učestao
Ostali klinički simptomi		
Gubitak tjelesne težine	Prisutan u kroničnom tijeku bolesti	Uglavnom nije prisutan
Povraćanje Apetit Flatulencija	Ponekad Uobičajen do smanjen Ponekad prisutna	Ponekad Uglavnom uredan Odsutna

mehanizme nastanka proljeva dijeli na 4 skupine: osmotski (smanjena absorpcije tekućine u lumenu crijeva; sekretorni (povećana sekrecija iona u lumen crijeva); abnormalni motilitet i eksudativni mehanizam (povećana propustnost).

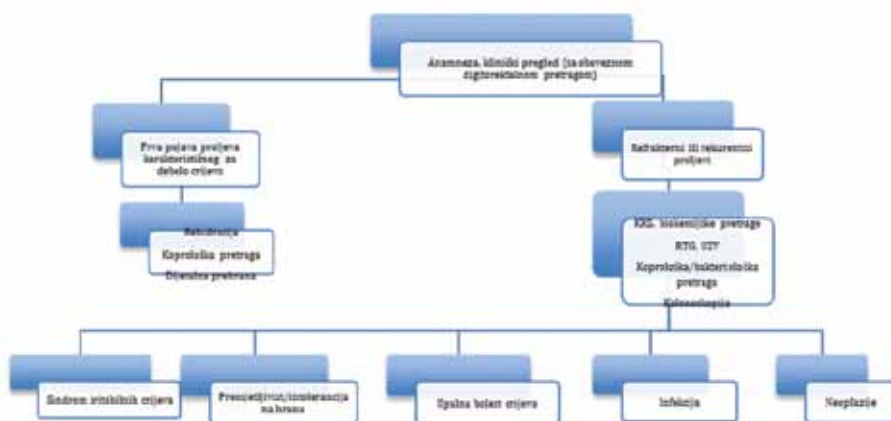
Proljeve s obzirom na tijek bolesti dijelimo na akutne (trajanje do 14 dana) i kronične (trajanje 15 ili više dana), a s obzirom na lokalizaciju patološkog procesa na proljeve koji potječu od patoloških procesa u tankim crijevima, odnosno debelom crijevu (Tabela 5.). Oni se međusobno razlikuju i klinički. Za proljeve porijeklom od patoloških procesa u tankim crijevima karakteristična je pojava većeg volumena stolice, pojava melene, neprobavljenih sastojaka hrane, a ponekad se može javiti i flatulencija i povraćanje. Za proljeve karakteristične za debelo crijevo svojstvena je pojava sluzi i svježe krvi u stolici, tenezam i povećana frekvencija defekacije (Hernot i sur., 2005., Owens i Greenson, 2007.).

Osnovni dijagnostički pristup u pasa s proljevom karakterističnim za tanko crijevo prikazan je u shematskom prikazu 2. Osnovni dijagnostički pristup u pasa s proljevom karakterističnim za debelo crijevo prikazan je u shematskom prikazu 3.

Uzroci proljeva mogu biti raznoliki i mnogobrojni, a najčešće su prouzročeni parazitima (helminti i protozoi), virusima, bakterijama i gljivicama. Osim infektivnih proljeve mogu prouzročiti i neinfektivni uzroci: idiopatske upale (upalna bolest crijeva), intoksikacije (otrovanja hranom), reakcije na lijekove, pogreške pri hranjenju te bolesti gušterače, jetre, bubrega i endokrinopatije (Tams, 2003., Gashen, 2010.). Najčešći uzročnici proljeva u pasa su bakterije iz roda *Clostridium* te *Giardia duodenalis* (Hackett i Lappin, 2003., Marks i sur., 2011., Marks, 2013.). Broj bakterija iz roda *Clostridium* u fecesu, međutim, nije adekvatan pokazatelj patogenosti tih bakterija te se stoga dokazuje postojanje enterotoksina ovih uzročnika (Weese, 2011.).



Shematski prikaz 2. Dijagnostički pristup pacijentu s proljevom karakterističnim za tanko crijevo



Shematski prikaz 3. Dijagnostički pristup pacijentu s proljevom karakterističnim za debelo crijevo

Tabela 6. Najčešći uzroci akutnog proljeva u pasa

Prehrana	Intolerancija/alergija Hrana loše kvalitete Nagle promjene hrane
Paraziti	Helminti Protozoarni organizmi (<i>Giardia</i> , <i>Coccidia</i>)
Virusi / bakterije	Parvovirusna infekcija Koronavirusna infekcija Štenećak <i>Salmonella</i> spp. <i>Clostridium perfringens</i> <i>E. coli</i> (verotoksin) <i>Campylobacter jejuni</i>
Ostalo	Hemoragični gastroenteritis Invaginacija crijeva Sindrom iritabilnih crijeva Akutni pankreatitis Hipoadrenokorticism Ingestija toksina (kemikalije, teški metali, lijekovi)

Tabela 7. Najčešći uzroci kroničnog proljeva u pasa

Hrana	Alergija na hranu Intolerancija na hranu
Paraziti	Helminti Protozoarni organizmi: <i>G. duodenalis</i> , kokcidije
Bakterijske infekcije	<i>Clostridium perfringens</i> - upitno značenje
Neoplastične bolesti	Limfom Adenokarcinom
Ostale bolesti	Upalna bolest crijeva Sindrom iritabilnih crijeva

Najčešći uzroci akutnog proljeva u pasa navedeni su u tabeli 6., a najčešći uzroci kroničnog proljeva u pasa navedeni su u tabeli 7.

Gubitak apetita i gubitak tjelesne težine

Anoreksija se definira kao djelomični ili potpuni gubitak apetita. Česti je i nespecifični simptom u bolesnih ili ozljeđenih pasa. Regulacija uzimanja hrane složena je i uključuje brojne vanjske i unutarnje čimbenike. To su senzorni signali (npr. miris i okus), metabolički signali (neuropeptid Y čija produkcija se odvija pod utjecajem snižene koncentracije inzulina te stimulira apetit dok upalni citokini smanjuju produkciju ovog neuropeptida), okolišni signali i naučeno ponašanje (naučena rutina prilikom davanja obroka, uzimanje hrane samo od određene osobe, uloga zvukova ambijenta i sl.) (Willard, 2009., Michel, 2013.).

Gubitak tjelesne težine izrazito je nespecifičan simptom i javlja se u velikog broja bolesti u pasa. S aspekta problematike invazije probavnog sustava u pasa

važno je napomenuti da je gubitak tjelesne težine uz fiziološki apetit uglavnom znak maldigestije i malapsorpcije hranjivih tvari u probavnom traktu. Objektivna procjena gubitka tjelesne težine najčešće se izražava u postotcima tjelesne mase ili kao promjena indeksa tjelesne kondicije (engl. *Body condition score*) (Laflamme, 1997., Willard, 2009.).

Gastrointestinalno krvarenje

Melena je tamna obojenost stolice (gotovo crna boja) koja je prouzročena krvarenjem u proksimalne dijelove probavnog trakta (jednjak, želudac, tanka crijeva) (Dossin, 2008., Willard, 2013.). Najčešći uzroci melene navedeni su u tabeli 8.

Hematohezija se definira kao prisutnost svježe krvi u stolici, a najčešće je posljedica bolesti koje zahvaćaju debela crijeva, naročito ako se javlja uz pojavu proljeva karakterističnog za debelo crijevo. Također, kao i svim slučajevima krvarenja potrebno je obavezno isključiti poremećaje zgrušavanja krvi (Willard, 2009., Willard, 2013.). Najčešći uzroci hematohezije navedeni su u tabeli 9.

Tabela 8. Najčešći uzroci melene u pasa

Parazitarne invazije	Obliči
Erozije ili ulceracije u probavnom traktu	Limfom, adenokarcinom, leiomiom,
Neoplazije	leiomiosarkom
Lezije u usnoj šupljini, jednjaku ili nosnim šupljinama	
Ostalo	Hipoadrenokorticism Poremećaji zgrušavanja krvi

Tabela 9. Najčešći uzroci hematohezije u pasa

Bolesti anusa i rektuma	Upalni procesi Neoplazije Analna fistula Prolaps rektuma Strana tijela
Bolesti kolona i tankih crijeva	Parazitarne invazije Hrana (alergija i intolerancija) Hemoragijski gastroenteritis Parvovirusna infekcija Intususcepcija Upalna bolest crijeva Neoplazije
Ostale bolesti	Poremećaji zgrušavanja krvi

Sažetak

Probavni simptomi među najučestalijim su problemima zbog kojih vlasnici dovode životinje na veterinarski pregled, a najčešći probavni simptomi koji se javljaju u pasa su povraćanje i proljev. Brojni simptomi koji se u pasa javljaju u sklopu bolesti probavnog trakta nespecifični su i mogu biti i posljedica brojnih poremećaja ostalih organa ili organskih sustava. Pri svakoj pojavi nekog od opisanih simptoma potrebno je obratiti pozornost na veliki broj različitih diferencijalnih dijagnoza, kao i na adekvatni dijagnostički protokol u isključivanju ili potvrđivanju istih. U ovom radu opisani su najčešći simptomi koji se javljaju u sklopu različitih bolesti probavnog trakta u pasa. Disfagija se definira kao otežano ili bolno gutanje uz pojačanu salivaciju, a ponekad i ispadanje zaloga iz usta i posljedica je patoloških procesa u ustima, ždrijelu ili jednjaku. Regurgitacija predstavlja pasivno retrogradno kretanje sadržaja iz jednjaka prema i kroz gornji jednjački sfinkter, a povraćanje se definira kao aktivno izbacivanje hrane i/ili tekućine iz želuca ili proksimalnih dijelova tankih crijeva kroz usta, a popraćeno je naprezanjem i aktivnim kontrakcijama abdominalne stijenke. Ova dva simptoma često je teško razlučiti na temelju anamnestičkih podataka. Pojava pojačane želje za ingestijom trave popraćena povraćanjem, nadutošću i mučninom predstavlja simptom koji se najčešće povezuje sa sindromom povraćanja žuči u pasa ili hipomotilitetom probavnog trakta u pasa. Koprofagija je nastrani apetit prema fecesu i često je posljedica lošeg vladanja, ali može biti povezana s parazitarnim invazijama, nedostatkom nutrijenata, egzokrinom insuficijencijom gušterače, malapsorpcijom ili hiperadrenokorticismom. Konstipacija je definirana kao otežano, neadekvatno pražnjenje crijeva, dok je opstipacija definirana kao potpuni prestanak pražnjenja crijeva. Pod proljevom podrazumijevamo povećanu količinu fekalnog sadržaja prouzročenu povećanom količinom vode i/ili suhe tvari u stolici najčešće uz povećanu frekvenciju defekacije. Melena je tamna obojenost stolice (gotovo crna boja) koja je uzrokovana krvarenjem u proksimalne dijelove probavnog trakta, a hematohezija je prisutnost svježe krvi u stolici, a najčešće je posljedica bolesti koje zahvaćaju debela crijeva.

Ključne riječi: *pas, gastrointestinalni simptomi*

Popis literature

1. CADORÉ, J. L. (2010): Vomiting. In: Canine and feline gastroenterology. (Lecoindre, P., ed.), 1. edition. Wolters Kluwer, France (6-11).
2. CRNOGAJ, M., I. KIŠ, I. ŠMIT, I. JOVIĆ, I. MAYER, N. KUČER i V. MRLJAK (2013): Pristup pacijentu sa kroničnim povraćanjem. Veterinarski dani 2013. Zbornik radova. Zagreb (233-238).
3. DOSSIN, O. (2008): Diagnostic tools: Clinical history. In: Small animal gastroenterology (Steiner, J. M. ed.). Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover (3-9).
4. DUNN, J. K. (2000): Vomiting. In: Textbook of small animal medicine. (Dunn, J. K., ed.), W. B. Saunders, London, Edinburgh, New York (39-50).
5. ELWOOD, C. M. (2000a): Dysphagia, regurgitation and ptyalism. In: Textbook of small animal medicine. (Dunn, J. K., ed.), W. B. Saunders, London, Edinburgh, New York (51-57).
6. ELWOOD, C. M. (2000b): Defecatory tenesmus. In: Textbook of small animal medicine. (Dunn, J. K., ed.), W. B. Saunders, London, Edinburgh, New York (66-69).
7. FONTANARROSA, M. F., D. VEZZANI, J. BASABE and D. F. EIRAS (2006): An epidemiological study of gastrointestinal parasites of dogs from Southern Greater Buenos Aires (Argentina): Age, gender, breed, mixed infections, and seasonal and spatial patterns. Vet. Parasitol. 136, 283-295.
8. GASCHEN, F. (2010): The principal syndromes in gastroenterology. In: Canine and feline gastroenterology. (Lecoindre P., F. Gaschen, E. Monet eds.), Wolters Kluwer, France (1-44).
9. HACKETT, T. and M. R. LAPPIN (2003): Prevalence of Enteric Pathogens in Dogs Of North-Central Colorado. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 39, 52-56.
10. HERNOT, D. C., V. C. BIOURGE, L. J. MARTIN, H. J. DUMON and P. G. NQUJEN (2005): Relationship between total transit time and faecal quality in adult dogs differing in body size. J. Anim. Phys. Anim. Nutr. 89, 189-193.
11. LAFLAMME, D. P. (1997): Development and Validation of a Body Condition Score System for Dogs. Canine Practice. 22, 10-15.
12. MARKS, S. L., S. C. RANKIN, B. A. BYRNE and J. S. WEESE (2011): Enteropathogenic Bacteria in Dogs and Cats: Diagnosis, Epidemiology, Treatment, and Control. J. Vet. Intern. Med. 25, 1195-1208.
13. MARKS, S. L. (2013): Diarrhea. In: Canine and feline gastroenterology. (Washabau, R. J., M. J. Day, eds.) Elsevier, St. Louis, Missouri (99-108).
14. MICHEL, K. E. (2013): Anorexia. In: Canine and feline gastroenterology. (Washabau, R. J., M. J. Day, eds.) Elsevier, St. Louis, Missouri (75-79).
15. MOORE, L. E. (2008): Esophagus: anatomy and physiology. In: Small animal gastroenterology. (Steiner, J. M. ed.), Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover (139-140).
16. OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G., A. F. T. AMARANTE, T. B. FERRARI and L. C. NUNES (2002): Prevalence if intestinal parasites in dogs from Sao Paulo State, Brazil. Vet. Parasitol. 103, 19-27.
17. OWENS, S. R. and J. K. GREENSON (2007): The pathology of malabsorption: current concepts. Histopathology 50, 64-82.
18. POTOČNJAK, D. (2010): Upala i vrijed želuca. U: Bolesti probavnog sustava pasa i mačaka – odabrana poglavlja (Potočnjak, D., Stanin, D., Turk, N., ur.) Medicinska naklada, Zagreb (2-16).

19. POTOČNJAK, D. (2012): Megaezofagus. U: Veterinarski priručnik. (Herak-Perković, V., Grabarević, Ž., Kos, J., ur., 6. izdanje). Medicinska naklada, Zagreb (2230-2231).
20. RAMIREZ-BARRIOS, R. A., G. BARBOZA-MENA, J. MUNOZ, F. ANGULO-CUBILLAN, E. HERNANDEZ, F. GONZALEZ and F. ESCALONA (2004): Prevalence of intestinal parasites in dogs under veterinary care in Maracaibo, Venezuela. *Vet. Parasitol.* 121, 11-20.
21. ŠMIT, I., K. ŠIMONJI, J. SELANEC, I. JOVIĆ, V. MATIJATKO and D. POTOČNJAK (2011): Defining the severity of inflammatory bowel disease in a dog. The International Congress "Veterinary science and profession" (Zagreb, October 3rd and 4th, 2011) Zbornik radova. Zagreb (42-42).
22. TAMS, T. R. (2003): Gastrointestinal symptoms. In: Handbook of small animal gastroenterology. (Tams, T. R. ed.) 2nd edition, Saunders, St. Louis, Missouri (1-50).
23. TANGTRONGSUP, S. and V. SCORZA (2010): Update on the diagnosis and management of *Giardia spp* infections in dogs and cats. *Top. Companion Anim. Med.* 25, 155-162.
24. WASHABAU, R. J. (2013a): Constipation. In: Canine and feline gastroenterology. (Washabau, R. J., M. J. Day, eds.) Elsevier, St. Louis, Missouri (93-98).
25. WASHABAU, R. J. (2013b): Dysphagia and gagging. In: Canine and feline gastroenterology. (Washabau, R. J., M. J. Day, eds.) Elsevier, St. Louis, Missouri (114-117).
26. WASHABAU, R. J. (2013c): Regurgitation. In: Canine and feline gastroenterology. (Washabau, R. J., M. J. Day, eds.) Elsevier, St. Louis, Missouri (157-161).
27. WASHABAU, R. J. (2013d): Vomiting. In: Canine and feline gastroenterology. (Washabau, R. J., M. J. Day, eds.) Elsevier, St. Louis, Missouri (167-173).
28. WEESE, J. S. (2011): Bacterial enteritis in dogs and cats: diagnosis, therapy, and zoonotic potential. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.* 41, 287-309.
29. WELLS, D. L. (2003): Comparison of two treatments for preventing dogs eating their own faeces. *Vet. Rec.* 153, 51-53.
30. WILLARD, M. D. (2009): Clinical Manifestations of Gastrointestinal Disorders. In: Small animal internal medicine. (Nelson, R. W., C. G. Couto, eds.), 4th edition, Mosby, Elsevier, St. Louis, Missouri (351-373).
31. WILLARD, M. D. (2010): Diarrhea. In: Textbook of Veterinary Medicine. (Ettinger, S. J., E. C. Feldman, eds.), Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri (201-203).
32. WILLARD, M. D. (2013): Gastrointestinal hemorrhage. In: Canine and feline gastroenterology. (Washabau, R. J., M. J. Day, eds.) Elsevier, St. Louis, Missouri (129-134).

The Most Common Gastrointestinal Symptoms in Dogs and their Importance in Everyday Clinical Practice

Iva ŠMIT, DVM, PhD, Senior Assistant, Ines JOVIĆ, DVM, Expert Associate, Iva MAYER, DVM, PhD, Assistant Professor, Martina CRNOGAJ, DVM, PhD, Senior Assistant, Dalibor POTOČNJAK, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Relja BECK, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia

Digestive symptoms are among the most common problems for which the owners bring their animals on veterinary examination, and most common gastrointestinal symptoms found in dogs are vomiting and diarrhea. A great number of symptoms which can occur in dogs are non-specific and may be the consequence of a big number of disorders of other organs or organ systems. For each occurrence of any of described symptoms the veterinarian needs to exclude a large number of differential diagnosis and establish the appropriate diagnostic protocol. This paper presents most common symptoms, their potential causes, and diagnostic protocols. Dysphagia would apply to a large number of oropharyngeal or esophageal disorders for which there is difficulty in swallowing, excessive salivation, and sometimes dropping of food and/or water from the commissures of the mouth. Regurgitation is characterized by the passive retrograde evacuation of undigested food from the esophagus and vomiting

is described as active evacuation of digested or partially digested food or water from the stomach or duodenum. These two symptoms are sometimes difficult to differentiate only history given by owners. Ingestion of grass can be a consequence of bilious vomiting syndrome and gastric hypomotility. Coprophagy is usually occurrence of some behavioral disorders or any disorder that results in mal-digestion and malabsorption. Constipation is defined as infrequent, difficult, painful evacuation of feces but does not necessarily imply a permanent loss of function, and obstipation is defined as a permanent loss of function. Diarrhea is usually defined as an increase in the frequency, fluidity, or volume of feces. Hematochezia refers to frank red or reddish-brown blood pigments in the feces and it is usually the consequence of bleeding in the most distal segments of the GI tract, while the term melena refers to black, tarry feces and it is associated with upper GI tract bleeding.

Key words: Dog, Gastrointestinal Symptoms

XXL ZAŠTITA!



Ataxxa®

permetrin, imidakloprid
spot-on solucija za pse



NE PRIMJENJIVATI MAČKAMA



Vaš izbor zaštite protiv buha i krpelja

Sadržaj 0,4 ml pipeta sadrži 200 mg permetrina i 40 mg imidakloprida. 1,0 ml pipeta sadrži 500 mg permetrina i 100 mg imidakloprida. 2,5 ml pipeta sadrži 1250 mg permetrina i 250 mg imidakloprida. 4,0 ml pipeta sadrži 2000 mg permetrina i 400 mg imidakloprida. **Indikacije** Za liječenje i sprječavanje infestacije buhama (*Ctenocephalides felis*). Buhe na psima uginjavaju unutar jednog dana nakon primjene. Jedna primjena sprječava nove infestacije buhama tijekom četiri tjedna. Veterinarsko-medicinski proizvod (VMP) se može koristiti kao dio strategije liječenja alergijskog dermatitisa uzrokovanog buhama (FAD). VMP omogućuje neprekidnu akaricidnu učinkovitost protiv infestacija krpeljima (*Rhipicephalus sanguineus* i *Ixodes ricinus* tijekom četiri tjedna, a *Dermacentor reticulatus* tijekom tri tjedna). Moguće je da krpelji, koji su već pričvršćeni na psu, ne uginu unutar dva dana nakon primjene VMP-a te mogu ostati pričvršćeni i vidljivi. U vrijeme primjene VMP-a preporučuje se uklanjanje nepricvršćenih krpelja na psu, kako bi se spriječilo da se pričvrste i počnu hraniti krvlju. **Ciljne vrste životinja** Psi. **Kontraindikacije** Zbog nedostatka odgovarajućih podataka, VMP se ne smije primjenjivati štenadi mlađoj od 7 tjedana ili lakšoj od 1,5 kg. VMP se ne smije primjenjivati u slučaju preosjetljivosti na djelatne tvari ili na bilo koju pomoćnu tvar. VMP se ne smije primjenjivati mačkama.

Samo za liječenje životinja. Prije uporabe pročitati kompletnu uputu u lijeku.

KRKA-FARMA d.o.o.
Radnička cesta 48, 10000 Zagreb
www.krka-farma.hr



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

Dijagnostika i liječenje pseudogravidnosti u koza

S. Vince*, J. Grizelj, M. Samardžija, Branimira Špoljarić
V. Berta, N. Rošić i Daria Jurković



Uvod

Pseudogravidnost (lat. *hydrometra*, *mucometra*, „ prolom oblaka “, engl. „*cloudburst*“) je patološko stanje koje je karakterizirano nakupljanjem različite količine sterilne tekućine u negravidnoj maternici, uz prisustvo žutog tijela na jajniku i predstavlja jedan od najčešćih uzroka smanjene plodnosti u koza. Pseudogravidnost uzrokuje neplodnost u koza zbog perzistentnog žutog tijela i trajnog anestrusa. Pojavnost pseudogravidnosti je učestalija u stadima mliječnih pasmina koza i kreće se od 3% do 5%, dok je u stadima mesnih pasmina i pasmina koje se uzgajaju za vunu pojavnost nešto manja.

Etiologija stanja još nije sasvim razjašnjena, ali se kao mogući uzroci navode prisutnost perzistentnog žutog tijela (lat. *corpus luteum*), embrionalna smrtnost s posljedičnom resorpcijom embrija i učestala hormonalna manipulacija spolnim ciklusom. Tipični simptom je znatno povećanje abdomena karakterizirana anestrusom, a mogu biti prisutne i promjene na mliječnoj žlijezdi, promjene ponašanja koje se očituju kao kod gravidnih životinja. Dijagnoza pseudogravidnosti se postavlja na temelju kliničke slike, patoanatomskog nalaza, laboratorijskih pretraga, rendgenske i ultrazvučne

pretrage. Pri postavljanju dijagnoze pseudogravidnosti potreban je oprez, jer se može pojaviti krvavi vaginalni iscjedak koji se teško diferencijalno dijagnostički razlikuje od rane embrionalne smrtnosti bez prethodne transabdominalne ultrazvučne pretrage. Prognoza je za daljnju plodnost dobra i većina se koza nakon pravovremene i odgovarajuće terapije vrati u estrus i mogu ostati gravidne unutar 2 mjeseca.

Vlasnici, upravo zbog očitovanja navedene kliničke slike, često dobivaju dojam da je životinja gravidna. Samim time se povećavaju ekonomski troškovi i gubitci, jer jedinka pravovremeno ne koncipira, dolazi do gubitka rasplodne sezone, povećani su veterinarski troškovi prouzročeni liječenjem takvih životinja, manji je postotak jaradi u stadu, a i u nekim slučajevima može biti smanjen prinos mlijeka.

Iz svega navedenog, od iznimne je važnosti znati na vrijeme prepoznati kliničke znake i dijagnosticirati pseudogravidnost u koza. Uloga veterinara je bitna kako bi se smanjila razdoblja između jarenja, smanjili ekonomski troškovi vlasnika i kako bi se životinje što prije potaknulo na ulazak u rasplodnu sezonu.

Dr. sc. Silvijo VINCE*, dr. med. vet., docent (dopisni autor, e-mail: svince@vef.hr), dr. sc. Juraj GRIZELJ, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Marko SAMARDŽIJA, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Branimira ŠPOLJARIĆ, dr. med. vet., viša asistentica, Veterinarski fakultet, Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Velimir BERTA, dr. med. vet., Veterinarska stanica Varaždin, Hrvatska; Nikola ROŠIĆ, dr. med. vet., Veterinarska stanica Jastrebarsko, Hrvatska; Daria JURKOVIĆ, dr. med. vet., Ministarstvo poljoprivrede, Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane, Zagreb, Hrvatska

Pojavnost pseudogravidnosti

O pojavnosti pseudogravidnosti u koza provedeno je više istraživanja tijekom kojih je ustanovljeno da na učestalost pseudogravidnosti djeluje više čimbenika kao što su: pasmina, proizvodni tip životinje (mliječne pasmine, mesne pasmine ili pasmine koje se uzgajaju za vunu), starost životinje, razdoblje sezone spolne aktivnosti, korištenje hormonalnih pripravaka za sinkronizaciju estrusa.

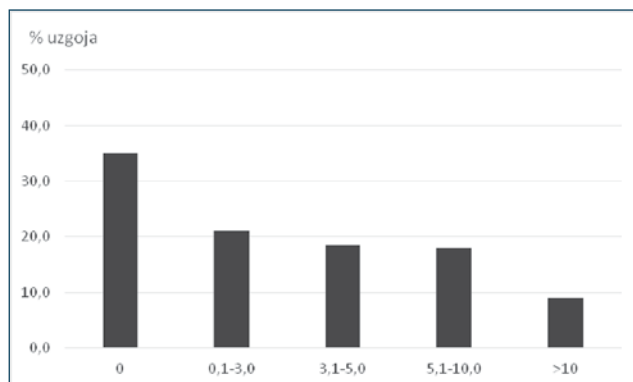
Taverne i sur. (1995.), navode da učestalost pojave pseudogravidnosti u koza varira između 3% i 21%. Morales i sur. (2007.), su ustvrdili učestalost pseudogravidnosti od 9%, dok su Wittek i sur. (1998.), utvrdili učestalost od 3% do 5%. Hesselink (1993.a) je proučavao incidenciju pojave pseudogravidnosti u sanskih koza u Nizozemskoj, koja je varirala između 3% i 20% (prosječno 9%), a ustanovio je da se učestalost pseudogravidnosti povećava sa starosti životinje. Leboeuf i sur. (1994.), su u svom istraživanju ustanovili da se učestalost pojavnosti pseudogravidnosti na farmama mliječnih pasmina koza prije korištenja u reprodukciji kreće od 0,1% do 10% na 18-21% farmi, a više od 10% učestalosti se javlja na 9% farmi (Grafikon 1.). Duquesnel i sur. (1992.), su u istraživanju koje je provedeno u razdoblju od 1989. do 1990. godine ustvrdili da se učestalost pseudogravidnosti u uzgojima mliječnih pasmina koza u Francuskoj prosječno kreće između 2,1% i 2,9%, u otprilike 42% od 139 farmi na kojima se provodilo istraživanje, međutim incidencija je bila viša od 5% u 10% farmi (Grafikon 2.). Veću pojavnost su zabilježili u koza sanske (3,6%) nego u alpske pasmine (1,4%). Nadalje, pojavnost je bila veća u ženki koje se koriste u reprodukciji i koje su pregledane ultrazvučnom pretragom; koje su se ojarile izvan sezone u jesen i kod kojih su učestalo korišteni hormonalni pripravci za sinkronizaciju estrusa. Ustvrdili su da se pseudogravidnost javlja neovisno o dobi, ali je ipak manja pojavnost u jedinki koje su mlađe od 6 mjeseci.

Tijekom istraživanja u europskom FP7 projektu, ultrazvučnim pregledima visokoproduktivnih mliječnih sanskih pasmina koza na hrvatskim farmama bilo je ustanovljeno da se tijekom 2010. godine učestalost pseudogravidnosti kretala u vrijednostima od 7,69%, dok se tijekom 2011. godine kretala između 2,5% i 5%, odnosno prosječno 3,65% (Grizelj i sur., 2011.). Istraživanjem je bilo obuhvaćeno 4,4% (39/875) tijekom 2010. godine i 13,4% (82/610) tijekom 2011. godine od ukupne populacije uzgojno valjanih odraslih jedinki sanskih koza u Hrvatskoj (prema popisu pasminskog sastava uzgojno-valjanih koza Hrvatske poljoprivredne agencije).

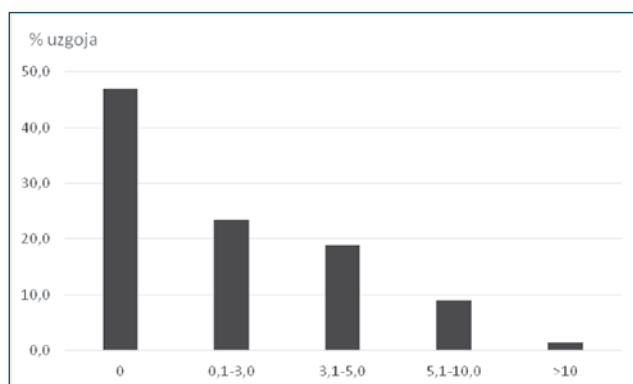
Iako se pseudogravidnost učestalije javlja u koza, zabilježeni su pojedinačni slučajevi pojave pseudogravidnosti i u ovaca. Pseudogravidnost u ovaca je patološko stanje koje može voditi do trajne neplodnosti (Smith i sur., 1998.). Prema provedenim istraživanjima ustanovljeno je da se pseudogravidnost u ovaca javlja u vrlo malom postotku, od 0,3% do ponekad 2,9% (Bretzlaff, 1993., Moghaddam i sur., 2007.). Regassa i sur. (2009.), su utvrdili da je učestalost pseudogravidnosti bila znatno viša u ovaca kod kojih su bile prisutne ciste na jajnicima, iako nisu mogli razlikovati je li se radilo o luteinskim ili folikularnim cistama. U istraživanju koje su 2009. godine proveli Yotov i sur., ustanovljeno je da se pseudogravidnost u ovce javila nakon sinkronizacije estrusa i umjetnog osjemenjivanja tijekom anestrusnog perioda i bila je inducirana produljenim djelovanjem progesterona za razliku od koza (Humblot i sur., 1995., Wittek i sur., 1998.).

Etiologija pseudogravidnosti

Patološka stanja tijekom gravidnosti u koza su različitog podrijetla, a temelje se na patološkim promjenama i anomalijama na plodu, plodnim ovojnicama i spolnim organima, patološkom promjenama u trajanju gravidnosti i deficitarnim bolestima gravidnih životinja (Samardžija i sur., 2010.).



Grafikon 1. Prikaz učestalosti pseudogavidnosti na farmama koza u Francuskoj prije korištenja u reprodukciji (92 farme, 4990 koza) (Preuzeto: Leboeuf i sur., 1994.)



Grafikon 2. Prikaz učestalosti pseudogavidnosti na farmama koza u Francuskoj nakon korištenja u reprodukciji (139 farmi, 10461 koza). (Preuzeto: Duquesnel i sur., 1992.)

Pseudogavidnost (*Hydrometra*) je patološko stanje koje je karakterizirano nakupljanjem različite količine sterilne tekućine u negravidnoj maternici, uz prisustvo perzistentnog žutog tijela (Samardžija i sur., 2010., Matthew, 2013.) i stalno povišenim koncentracijama progesterona u krvnoj plazmi kroz period dulji od 25. dana. Dijagnosticirana je u životinja koje su parene, ali i u onih koje se nisu parile tijekom sezone spolne aktivnosti. Može se javiti i izvan reproduktivne sezone (Pietrese i Taverne, 1986., Kornalijnslijper i sur., 1997.a).

Etiologija pseudogavidnosti još nije sasvim razjašnjena, ali se smatra da postoji više uzroka koji sudjeluju u njenom nastanku. Jedan od čimbenika je prisutnost perzistentnog žutog tijela koje se razvija nakon estrusnog ciklusa u kojem nije došlo do gravidnosti. Najčešće se javlja u koza u njihovoj drugoj godini

laktacije (Matthew, 2013.). Noakes i sur. (2001.), navode da u takvih koza dolazi do prestanka ciklične aktivnosti jajnika, ali nema znakova pseudogavidnosti. Na kraju anestrinog perioda, životinja izlučuje krvavi vaginalni iscjedak.

Drugi uzrok predstavlja prisutnost perzistentnog žutog tijela kojemu prethodi embrionalna smrtnost s posljedičnom resorpcijom embrija (Matthew, 2013.). Žuto tijelo i dalje perzistira, a životinja se ponaša kao da je gravidna. Abdomen se postupno proširuje, a prate ga promjene na mliječnoj žlijezdi karakteristične za gravidnost i traje sve dok žuto tijelo spontano ne regresira. Kada dođe do prekida pseudogavidnosti, iz uterusa se izlučuju velike količine aseptične tekućine (Noakes i sur., 2001.).

Treći tip se učestalije javlja kod životinja uslijed učestalije hormonalne manipulacije spolnog ciklusa prilikom

izazivanja superovulacije ili prilikom poticanja parenja izvan sezone (Pugh, 2002., Matthew, 2013.).

Određene infektivne bolesti (tripanosomijaza, toksoplazmoza, borderska bolest) mogu povećati učestalost pseudogavidnosti. Prisutnost fitoestrogena u krmivima isto se tako smatra jednim od čimbenika koji pridonosi pojavi pseudogavidnosti (Smith i Sherman, 2009.).

Klinička slika i patoanatomski nalaz kod pseudogavidnosti

Tipični klinički simptom pseudogavidnosti je znatno povećanje maternice s tankom stijenkom u kojoj fluktuira rijetki sluzavi, vodenasti, aseptični sadržaj (Samardžija i sur., 2010.). Karakterizirana je anestrusom, povremeno povećanjem abdomena, promjenama na mliječnoj žlijezdi i promjenama ponašanja koje se javljaju prilikom gravidnosti (Pugh, 2002.). Može se javiti krvavi vaginalni iscjedak, pri čemu je teško razlikovati pseudogavidnost od rane embrionalne smrtnosti, bez prethodne ultrazvučne pretrage (Smith i Sherman, 2009.).

Aseptični sadržaj koji je prisutan unutar maternice obično je bistar i mukoidan, vulva i vagina prilikom njegova izlučivanja postaju vlažne, a po repu nalazimo mukoidni iscjedak (Matthew, 2013.). Može se razviti u piometru (lat. *pyometra*) ako dođe do infekcije maternice (Samardžija i sur., 2010.).

Patoanatomski nalaz ukazuje na postojanje rastegnute maternice koja sadrži obično 1 L do 7,2 L (0,25 do 8,3 L) sterilne, aseptične, tekućine; životinje su bile u lutealnoj fazi ciklusa, a na jajnicima su prisutni brojni folikuli (Gordon, 1997., Smith i Sherman, 2009.).

Dijagnostika pseudogavidnosti

Dijagnoza pseudogavidnosti u koza se može postaviti na temelju



Slika 1. Prikaz maternice ispunjene aseptičnom tekućinom kod pseudogavidnosti (Preuzeto: Aiello i Moses, 2012.).

kliničke slike, patoanatomskog nalaza, rendgenske i ultrazvučne pretrage te pomoću laboratorijskih metoda koje se primjenjuju u svrhu diferenciranja gravidnosti od pseudogavidnosti (Samardžija i sur., 2010.).

Od laboratorijskih metoda koje se mogu primjenjivati kao pomoćne metode prilikom postavljanja diferencijalne dijagnoze pseudogavidnosti u odnosu na gravidnost, najčešće se primjenjuju estron sulfat, protein specifičan za gravidnost i određivanje razine progesterona (rezultati progesteronskog testa).

Estron sulfat je produkt fetoplacentalnog spoja i može se mjeriti u krvi, mlijeku i urinu. U koza se može određivati nakon 50. dana gravidnosti s preciznošću od 100% u mlijeku i krvi (Noakes i sur., 2001., Dawson, 2002., Matthew, 2013.). Kod pseudogavidnosti se u plazmi smanjuje nakon 45. dana, ali se na temelju njegove razine ne može postaviti diferencijalna dijagnoza u odnosu na pseudogavidnost (Hesselink i Taverne, 1994.).

Protein specifičan za gravidnost (PSPB, engl. *pregnancy specific protein B*) koristi se za dijagnostiku gravidnosti nakon 26. dana s preciznošću do 100%, a može se mjeriti do 3. tjedna pred porod (Humblot i sur., 1990., Samardžija i sur., 2010.). Dokazano je da je u pseudogavidnosti negativan (Noakes i sur., 2001., Matthew, 2013.).

Određivanje razine progesterona, koje se koristi za ranu laboratorijsku dijagnostiku gravidnosti, između 22. i 26.

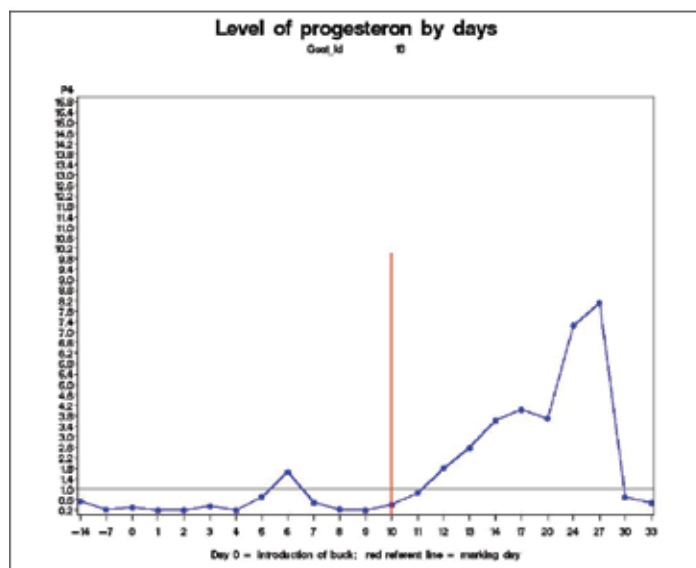
dana od koncepcije nije siguran dokaz postojanja zametka već samo dokaz očuvane funkcije žutog tijela. Mogući su lažno pozitivni rezultati kada životinje imaju kraći ili dulji spolni ciklus, može se raditi o perzistentnom žutom tijelu ili o pseudogavidnosti u koza (Samardžija i sur., 2010.). Produljeni životni vijek žutog tijela u pseudogavidnih životinja, u usporedbi s gravidnim životinjama, odražava izostanak akutnog luteolitičkog signala od strane maternice (Currie i sur., 1988., Lopes Junior i sur., 2004.). Koncentracije progesterona u krvi i mlijeku mogu biti istovjetne s koncentracijom za vrijeme gravidnosti i ostati povišene tijekom 5 mjeseci (Pugh, 2002.). Prema De Montigny-ju i sur. (1982.), dijagnostika gravidnosti u mliječnim pasmina koza nakon 21. dana može se postaviti određivanjem koncentracije progesterona i u mliječnoj masti. Kornalijnslijper i sur. (1997.b), su utvrdili da su razine progesterona u plazmi na početku i tijekom trajanja pseudogavidnosti, bile niže u odnosu na razine u gravidnih životinja na početku lutealne faze i pokazivale su postupno, ali kontinuiran pad prema kraju lutealne faze, što ukazuje na manju luteotropičnu aktivnost zbog izostanka koncepcije. Llewelyn i sur. (1992.), su ustanovili da su pseudogavidne jedinke imale slične vrijednosti progesterona (od 3,91 ng/mL do 7 ng/mL) kao gravidne jedinke tijekom prvih 80 dana, ali porast razine progesterona oko 35./40. dana kod njih nije bio značajan i postupno se snižavao na bazalne vrijednosti nakon 100. dana. Nasuprot tome razine progesterona tijekom gravidnosti su signifikantno rasle i ostale povišene do 5 dana prije porođaja. Humblot i sur. (1990.), su ustvrdili da je razina progesterona u krvi gravidnih životinja nakon 21. dana viša od 1,5 ng/mL.

U istraživanju koje su tijekom 2010. i 2011. godine proveli Grizelj i sur., za potrebe europskog projekta mjerene su razine progesterona kroz period od mjesec i pol dana nakon provedenog svjetlosnog tretmana i uvođenja jarčeva u stado. Ako životinja nije ostala gravidna

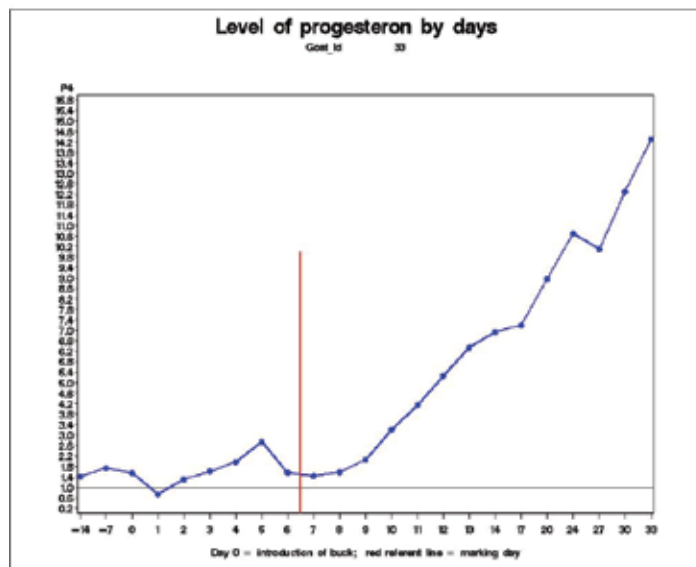
(Grafikon 3.) razina progesterona je od početnih niskih vrijednosti (ispod 1 ng/mL) nakon estrusa i ovulacije kontinuirano rasla da bi u određenom periodu potom naglo pala. To je rezultat razgradnje žutog tijela pod utjecajem prostaglandina, koji se izlučuju od strane negavidne maternice ukoliko nije došlo do oplodnje (Vince, 2009.). Kod koza koje su koncipirale uočen je više-manje stalan porast razine progesterona nakon estrusa i ovulacije bez pada tijekom razdoblja mjerenja (Grafikon 4.). Nasuprot tome kod koza koje su tijekom mjerenja imale pseudogavidnost razina progesterona je bila povišena u odnosu na negavidne jedinke i kretala se unutar određenih granica (od 3 ng/mL do 8,1/9,5 ng/mL). U grafikonu 5. prikazan je progesteronski profil karakterističan za koze koje imaju pseudogavidnost. Može se uočiti da su vrijednosti razine progesterona bile nešto niže u odnosu na vrijednosti koje su ustanovljene kod gravidnih jedinki te nije bio zabilježen kontinuirani porast razine progesterona, nego nepravilni uzorak gdje ponekad vrijednosti progesterona porastu, a ponekad padnu.

Redngenološka pretraga se prilikom utvrđivanja gravidnosti u koza koristi za određivanje točnog broja plodova nakon 70./80. dana gravidnosti, međutim metoda je napratična za rad i skuplja je od ultrazvuka te se u terenskim uvjetima slabo koristi (Samardžija i sur., 2010., Matthew, 2013.).

Transabdominalnom ultrazvučnom pretragom se postavlja sigurna dijagnoza pseudogavidnosti na temelju odsutnosti placentoma, fetusa i fetalnih membrana. Izvodi se na lijevom ventrolateralnom dijelu abdomena, između 40. i 70. dana nakon parenja (Hesselink i Taverne, 1994.). Karakteristika ultrazvučne slike kod pseudogavidnosti su ne-ehogena tekućinom ispunjena područja (Hesselink i Taverne, 1994., Matthew, 2013.) Tekućina koja je prisutna u maternici može biti bistra, blago zamućena ili bistra s ponekim zamućenjem. Maternica je tankih stijenki i ne mogu se vizualizirati niti placentomi



Grafikon 3. Prikaz progesteronskog profila u krvnoj plazmi kod koze koja nakon estrusa (crvena linija označava vrijeme kada je uočen estrus) i parenja nije ostala gravidna (Preuzeto: Grizelj i sur., 2011.).

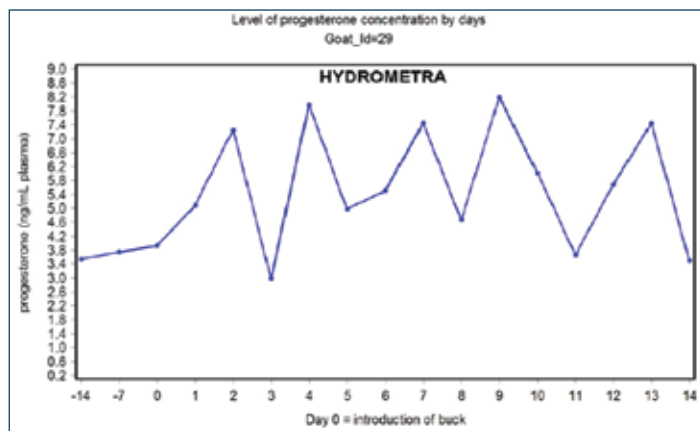


Grafikon 4. Prikaz progesteronskog profila koze koja je nakon estrusa (crvena linija označava vrijeme kada je uočen estrus) nakon parenja i koncepcije (Preuzeto: Grizelj i sur., 2011.).

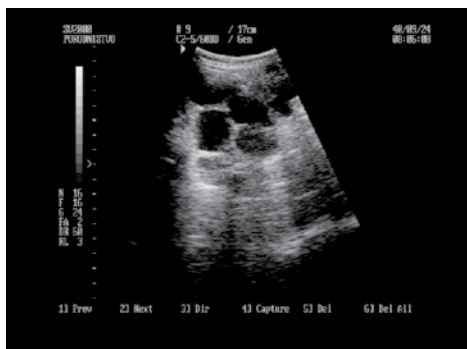
nuti posteljica i fetus (Pugh, 2002., Matthew, 2013.). Uočavaju se tekućinom ispunjeni odjeljci, razdvojeni tkivom tanke stijenke i izgledaju kao membrane koje unduliraju unutar lumena uterusa zbog protresanja stijenke abdomena. Oni predstavljaju dijelove zavijenih i dilatiranih materničnih rogova koji se

međusobno preklapaju. U tekućini mogu biti prisutne bijele mrlje koje se nakon protresanja ili sukusije abdomena smiruju poput snijega (Hesselink i Taverne, 1994., Matthew, 2013.).

U istraživanju koje su proveli Grizelj i sur. (2011.), koze su pregledavane ultrazvučno u periodu od 35. do 50.



Grafikon 5. Prikaz progesteronskog profila u krvnoj plazmi koza kod pseudogavidnosti (Preuzeto: Grizelj i sur., 2011.).



Slika 2. Ultrazvučni prikaz pseudogavidnosti 38. dana nakon parenja (Preuzeto: Grizelj i sur., 2011.).

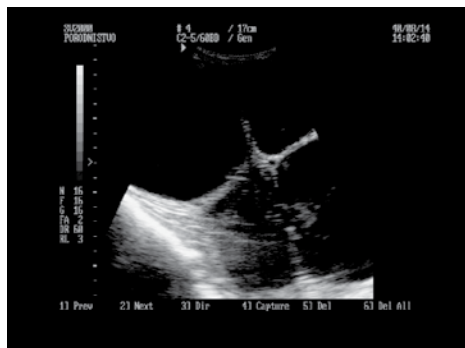
dana nakon parenja, iako je to nešto ranije nego što se navodi u literaturi, a za svaku sumnju na pseudogavidnost prilikom pregleda pretraga je ponovljena 2 do 3 tjedna kasnije. Korištena je transabdominalna sektorska ultrazvučna sonda, frekvencije 3,5 MHz. Pretraga se izvodila na životinjama koje su stajale, s desne, ventrolateralne strane abdomena, uz bazu mliječne žlijezde. Na dobivenim ultrazvučnim prikazima (Slika 2. i Slika 3.) uočeni su tamni, anehogeni tekućinom ispunjeni odjeljci koji su međusobno odvojeni dvostrukim tkivom tankih stijenki, koje predstavljaju stijenku materničnih rogova. Ne uočavaju se placentomi, fetalne membrane niti fetus.

Liječenje i prognoza

Pseudogavidnost u koza se uspješno liječi aplikacijom prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$), koji dovode do luteolize žutog tijela i utječu na evakuaciju aseptične tekućine iz uterusa.

Prostaglandini ($\text{PGF}_{2\alpha}$) se apliciraju u dozama od 2,5 do 20 mg i.m. ili s.c. (Pugh, 2002., Smith i Sherman, 2009., Samardžija i sur., 2010., Matthew, 2013.). Često se primjenjuje njihov sintetički oblik kloprostenol (cloprostenol), u dozama od 62,5–125 μg i.m. ili s.c. (Pugh, 2002., Matthew, 2013.). Dovode do luteolize, regresije žutog tijela i izlučivanja tekućine iz uterusa, a estrus bi trebao nastupiti između 1,5 i 4 dana od početka terapije (Pietrese i Taverne, 1986.). Isti autori navode da estrusno vladanje nastupa unutar 1,5 i 4 dana od početka terapije, ali da jedna aplikacija prostaglandina ne eliminira svu nakupljenu tekućinu iz uterusa. Druga injekcija $\text{PGF}_{2\alpha}$ se daje 12 dana nakon prve, njome se postiže dobar postotak koncepcije (do 85%), djeluje na evakuaciju ostatka tekućine u uterusu i smanjuje se mogućnost ponovne pojave pseudogavidnosti (Noakes i sur., 2001.).

Hesselink (1993.b) je ustanovio da druga aplikacija prostaglandina 12 dana nakon prve znatno poboljšava reproduktivne osobine koza, a ujedno se smanjuje pojavnost pseudogavidnosti



Slika 3. Ultrazvučni prikaz pseudogravidnosti nakon 3 do 4 mjeseca nakon parenja (Preuzeto: Grizelj i sur., 2011.).

u idućoj sezoni. U istraživanju koje su 2007. godine proveli Morales i sur., ustanovljeno je da su koze, bilo da su tretirane prostaglandinima jednokratno ili dvokratno, očitovala znakove estrusnog vladanja unutar 2 do 5 dana nakon terapije. Kod većine koza je ultrazvučnom pretragom dijagnosticirana gravidnost 30. do 35. dana nakon parenja.

Injekcija oksitocina, u dozama od 0,2 do 1,0 mL i.m. ili s.c, nekoliko dana nakon terapije prostaglandinima stimulira kontrakcije i pomaže involuciju uterusa (Matthew, 2013.). Svim kozama kojima je u istraživanju, koje se proveli Grizelj i sur. (2011.), dijagnosticirana pseudogravidnost su aplicirani prostaglandini ($\text{PGF}_{2\alpha}$), dvokratno, druga aplikacija nakon 11 do 12 dana. Prema kasnijem kazivanju vlasnika rečeno je da su koze izbacile tekućinu unutar 1,5 do 2,5 dana od aplikacije. Životinje su na preporuku bile parene nakon druge injekcije prostaglandina bez obzira što su pokazivale znakove estrusa nakon prve injekcije te su naposljetku sve ostale gravidne. To je ujedno dokaz uspješnosti terapije, pogotovo ako se pseudogravidnost na vrijeme dijagnosticira (u rasplodnoj sezoni).

Prognoza je za daljnju plodnost dobra, većina koza nakon terapije vrati estrus i mogu ostati gravidne unutar 2 mjeseca. Kod nekih jedinki se ponovo iduće

godine može javiti pseudogravidnost (Smith i Sherman, 2009., Matthew, 2013.).

Sažetak

Pseudogravidnost (Hydrometra) je patološko stanje koje je karakterizirano nakupljanjem različite količine sterilne tekućine u negravidnoj maternici, uz prisustvo žutog tijela i stalno povišenim koncentracijama progesterona u krvnoj plazmi (više od 3 ng/mL). Predstavlja jedan od najčešćih uzroka smanjene plodnosti u koza. Pojavnost pseudogravidnosti je učestalija u stadima mliječnih pasmina koza i kreće se od 3% do 5% (7,69%). Etiologija stanja još nije sasvim razjašnjena, ali se kao mogući uzroci navode prisutnost perzistentnog žutog tijela, embrionalna smrtnost s posljedičnom resorpcijom embrija i učestala hormonalna manipulacija spolnim ciklusom. Tipični klinički simptom pseudogravidnosti je znatno povećanje maternice s tankom stijenkom u kojoj fluktuira rijetko sluzavi, vodenasti, aseptični sadržaj. Transabdominalna ultrazvučna pretraga je najbolja dijagnostička metoda pseudogravidnosti. Izvodi se na lijevom ventrolateralnom dijelu abdomena, između 40. i 70. dana nakon parenja. Karakteristika ultrazvučne slike kod pseudogravidnosti prikazuje ne-ehogena tekućinom ispunjena područja koja su međusobno odvojena dvostrukim tkivom tankih stijenki, a predstavljaju dilatirane maternične rogove. Ne uočavaju se placentomi, fetalne membrane niti fetus. Pseudogravidnost u koza se uspješno liječi aplikacijom prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$), koji dovode do luteolize žutog tijela i utječu na evakuaciju aseptične tekućine iz uterusa. Druga injekcija $\text{PGF}_{2\alpha}$ se daje 12 dana nakon prve, njome se postiže dobar postotak koncepcije (do 85%) i smanjuje se mogućnost ponovne pojave pseudogravidnosti. Prognoza pseudogravidnosti je povoljna ako se na vrijeme dijagnosticira, većina životinja nakon učinkovite terapije prostaglandinima očituje znakove estrusnog vladanja i nakon parenja koncipira.

Ključne riječi: *pseudogravidnost, dijagnoza, liječenje, koza*

Literatura

1. AIELLO, S. E. and M. A. MOSES (2012): Reproductive System. Overview of Pseudopregnancy in Goats

- (Taverne, M., 2013.). In: The Merck Veterinary Manual. Merck & Co., Inc., Whitehouse.Station, N. J., U.S.A. URL:(http://www.merckmanuals.com/vet/reproductive_system/pseudopregnancy_in_goats/overview_of_pseudopregnancy_in_goats.html) [9.lipanj 2014.]
2. BRETZLAFF, K. N. (1993): Development of hydrometra in a ewe flock after ultrasonography for determination of pregnancy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 203, 122–125.
 3. CURRIE, W. B., R. C. GOREWIT and F. J. MICHEL (1988): Endocrine changes, with special emphasis on oestradiol-17 β , prolactin and oxytocin, before and during labour and delivery in goats. *J. Reprod. Fertil.* 82, 299–308.
 4. DAWSON, L. (2002): Pregnancy Diagnosis in Goats. 17th Ann. Goat Field Day. Langston University. Langston. pp. 41–44.
 5. DE MONTIGNY, G., P. MILLERIOUX, N. JEANGUYOT, P. HUMBLLOT and M. THIBIER (1982): Milk fat progesterone concentrations in goats and early pregnancy diagnosis. *Theriogenology* 17, 423–431.
 6. DUQUESNEL, R., D. PARISOT, G. PIROT, J. P. MIALOT, J. SABOUREAU, P. ÉTIENNE, J. DELAVAL, J. M. GUÉRAUD, E. PRENGERE, G. DE MONTIGNY, P. GUERRAULT, G. PERRIN, P. HUMBLLOT, Y. DE FONTAUBERT and P. CHEMINEAU (1992): La pseudogestation chez la chèvre. *Ann. Zootech.* 41, 407–415.
 7. GORDON, I. (1997): Controlled Reproduction in Sheep and Goats. In: Introduction to Controlled Breeding in Goats: Factors Affecting Fertility in the Female Goat. (Gordon, I. Ed.). CAB International. pp. 360–361.
 8. GRIZELJ, J., S. VINCE, M. AVDI, J. P. BARBAS, K. BOISSARD, A. BRANCA, J. A. CARRIZOSA, S. CAVACO - GONCALVES, G. P. EPIFANI, A. FATET, B. FLORIS, S. FRERET, A. LOPEZ - SEBASTIAN, R. MASCARENHAS, G. MICHAELIDIS, S. ZAMFIRESCU, P. BOUE i M. T. PELLICER (2011): FLOCK-REPROD Europski istraživački projekt: Nehormonalno rasplodivanje koza tijekom i izvan sezone spolne aktivnosti za održivo europsko tržište kozjeg mlijeka. *Vet. stn.* 42, 485–488
 9. HPA (2011): Ovlaštenost, kozarstvo i male životinje. Godišnje izvješće za 2011. godinu.
 10. HUMBLLOT, P., G. DE MONTIGNY, N. JEANGUYOT, F. TETEDOIE, B. PAYEN, M. THIBIER and R. G. SASSER (1990): Pregnancy-specific protein B and progesterone concentrations in French Alpine goats throughout gestation. *J. Reprod. Fertil.* 89, 205–212.
 11. HESSELINK, J. W. (1993a): Incidence of hydrometra in dairy goats. *Vet. Rec.* 132, 110–112.
 12. HESSELINK, J. W. (1993b): Hydrometra in dairy goats: reproductive performance after treatment with prostaglandins. *Vet. Rec.* 133, 186–187.
 13. HESSELINK, J. W. and M. A. M. TAVERNE (1994): Ultrasonography Of The Uterus Of The Goat. *Vet. Quart.* 16, 41–45.
 14. HUMBLLOT, P., G. BRICE, P. CHEMINEAU and C. BROQUA (1995): Embryo mortality in the dairy goat after oestrus synchronization and artificial insemination outside the normal breeding season. In: Les Colloques des Zemes Rencontres des Recherches sur Ruminants. Paris: Institut de l'Elevage, pp. 387–389.
 15. KORNALIJNSLIJPER, J. E., M. M. BEVERS, H. A. VAN OORD and M. A. M. TAVERNE (1997a): Induction of hydrometra in goats by means of active immunization against prostaglandin F2 alpha. *Anim. Reprod. Sci.* 46, 109–122.
 16. KORNALIJNSLIJPER, J. E., B. KEMP, M. M. BEVERS, H. A. VAN OORD and M. A. M. TAVERNE (1997b): Plasma prolactin, growth hormone and progesterone concentrations in pseudopregnant, hysterectomized and pregnant goats. *Anim. Reprod. Sci.* 49, 169–178.
 17. LEBOEUF, B., G. RENAUD, Y. DE FONTAUBERT, B. BROQUA and P. CHEMINEAU (1994): Echographie et pseudogestation chez la chèvre. 7th Inter. Meeting on Animal Reprod. MURCIA, 6–9 Juillet 1994. pp. 251–255.
 18. LLEWELYN, C. A., J. S. OGAA and M. J. OBWOLO (1992): Plasma progesterone concentrations during pregnancy and pseudopregnancy and onset of ovarian activity postpartum in indigenous goats in Zimbabwe. *Trop. Anim. Health Product.* 24, 242–250
 19. LOPES JUNIOR, E. S., J. F. CRUZ, D. I. A. TEIXEIRA, J. B. LIMA VERDE, N. R. O. PAULA, D. RONDINA and V. J. F. FREITAS (2004): Pseudopregnancy in Saanen Goats (*Capra hircus*) Raised in Northeast Brazil. *Vet. Res. Comm.* 28, 119–125.
 20. MATTHEW, J. G. (2013): Diseases of the goat. 3rd ed. Wiley-Blackwell. USA. pp. 5–15.
 21. MORALES, E. P. B. X., M. H. B. SANTOS, I. J. ARRUDA, F. Q. G. BEZERRA, C. R. AGUIAR FILHO, J. P. NEVES, P. F. LIMA and M. A. L. OLIVEIRA (2007): Hydrometra and mucometra in goats diagnosed by ultrasound and treated with PGF2 α . *Med. Vet. Recife* 1, 33–39.
 22. MOGHADDAM, A. and D. GOORANINEJAD (2007): Abattoir survey of gross abnormalities of the ovine genital tracts in Iran. *Small Rumin. Res.* 73, 259–261.
 23. NOAKES, D. E., T. J. PARKINSON and G. C. W. ENGLAND (2001): Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. Pregnancy and its diagnosis. Infertility In The Ewe And Doe (Female Goat). In: Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics. 8th ed. WB Saunders Company. London, Philadelphia, Sydney, Toronto, Tokyo. pp. 27–30; 102–110; 570–571.
 24. PIETRESE, M. C. and M. A. M. TAVERNE (1986): Hydrometra in goats: Diagnosis with real-time ultrasound and treatment with prostaglandins or oxytocin. *Theriogenology* 26, 813–821.
 25. PUGH, D. G. (2002): Sheep & Goat Medicine. 1st ed. Saunders Elsevier, Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto. p. 174.
 26. REGASSA, F., D. MENGESHA, M. DARGIE and T. TOLOSA (2009): Abattoir evidence on association between uterine and ovarian abnormalities in Ethiopian highland ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 111, 384–390.
 27. SAMARDŽIJA, M., Đ. ĐURIČIĆ, T. DOBRANIĆ, M. HERAK i S. VINCE (2010): Fiziologija

- rasplodivanja. Fiziologija i patologija gravidnosti. Patologija rasplodivanja. U: Rasplodivanje ovaca i koza. Veterinarski fakultet, Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, str. 45–114; 205–254; 315–316.
28. SMITH, M. C. and D. M. SHERMAN (2009): *Goat Medicine*. 2nd ed. Wiley – Blackwell. Iowa, USA. pp. 579–581.
 29. SMITH, K. C., S. E. LONG and T. J. PARKINSON (1998): Abattoir survey of congenital reproductive abnormalities in ewes. *Vet. Rec.* 143, 679–685.
 30. TAVERNE, M. A. M., J. W. HESSELINK, M. M. BEVERS, H. A. VAN OORD and J. E. KORNALIJNSLIJPER (1995): Aetiology and Endocrinology of Pseudopregnancy in the Goat. *Reprod. Dom. Anim.* 30, 228–230.
 31. VINCE, S. (2009): Primjena modificiranoga protokola za izazivanje superovulacije u koza Burske pasmine. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 3–22.
 32. WITTEK, T., J. ERICES and K. ELZE (1998): Histology of the endometrium, clinical chemical parameters of the uterine fluid and blood plasma concentrations of progesterone, estradiol-17 β and prolactin during hydrometra in goats. *Small Rumin. Res.* 30, 105–12.
 33. YOTOV, S., D. DIMITROV and I. FASULKOV (2009): Hydrometra in a sheep after oestrus synchronization and insemination in the anoestral season. *Slov. Vet. Res.* 46, 143–147.

Diagnosis and Treatment of Pseudopregnancy in Goats

Silvijo VINCE, DVM, PhD, Assistant Professor, Juraj GRIZELJ, DVM, PhD, Associate Professor, Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Full Professor, Branimira ŠPOLJARIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Velimir BERTA, DVM, Veterinary Practice Varaždin, Croatia; Nikola ROŠIĆ, DVM, Veterinary Practice Jastrebarsko, Croatia; Daria JURKOVIĆ, DVM, Ministry of Agriculture, Veterinary Directorate, Zagreb, Croatia

Pseudopregnancy (hydrometra) is a pathological condition of the uterus characterized by an accumulation of aseptic fluid within the uterus in the presence of a corpus luteum, with constantly elevated plasma progesterone levels (> 3 ng/mL). It is a major cause of subfertility in goats. The incidence of pseudopregnancy occurs more often in herds of dairy goats and varies from 3 to 5% (7.69%). The aetiology of the condition is yet not fully elucidated, though possible causes of establishment of pseudopregnancy could be the presence of a persistent corpus luteum (CL), early embryonic mortality with the consequent resorption of the embryo, or the frequent use of hormones within and during the sexual cycle. A typical clinical symptom that occurs during pseudopregnancy is a substantial increase of the uterus with a thin tissue wall filled with thin mucous and a watery, aseptic fluid. Transabdominal ultrasound examination is the best diagnostic method for pseudopregnancy. It is performed on the left

ventrolateral portion of the abdomen, between 40 and 70 days after mating. The typical ultrasonographic image shows non-echogenic fluid filled compartments that are separated by double-layered thin tissue walls which represent dilated uterine horns, in the absence of fetuses, fetal membranes and placentomes. Pseudopregnancy is successfully treated by the administration of prostaglandines (PGF_{2 α}) which leads to luteolysis of the corpus luteum and causes drainage of the aseptic fluid from the uterus. The second application of PGF_{2 α} is administered after 12 days, and achieves a good conception rate (85%), reducing the possibility of a recurrence of pseudopregnancy. The prognosis of pseudopregnancy is favourable if diagnosed on time, and after efficient treatment with prostaglandins, most animals show signs of oestrus behaviour and remain pregnant after mating.

Key words: *Pseudopregnancy, Diagnosis, Therapy, Goats*

Pozitivni i negativni učinci reaktivnih kisikovih spojeva na oplodnu sposobnost spermija

Ivona Žura Žaja, M. Samardžija*, S. Vince, Iva Ljubičić, Lada Radin, Jadranka Pejaković Hlede, D. Đuričić, H. Valpotić, N. Rošić i Suzana Milinković-Tur



Uvod

Ejakulat je mješavina spermija proizvedenih u testisima i sjemene plazme koju izlučuju aksesorne spolne žlijezde i epididimisi, a tijekom ejakulacije se miješaju (Cergolj i Samardžija, 2006.). Sjemeni plazma sadrži različite sastojke koji utječu na funkciju i preživljavanje spermija tijekom prolaska kroz ženski reproduktivni sustav, a ima i važne regulatorne funkcije u raznim procesima prije penetracije spermija u jajnu stanicu (Juyena i Stelletta, 2012.). Navedene se funkcije odnose na prehranu, zaštitu, regulaciju gibljivosti i kapacitaciju spermija, imunološko prepoznavanje i vezanje gameta (Rodriguez-Martinez i sur., 2011., López Rodríguez i sur., 2013.).

Obilježje bioloških staničnih membrana je asimetrični, dvoslojni razmještaj lipida. Lipidni sastav stanične membrane spermija sisavaca znatno razlikuje od onih u somatskih stanica sisavaca. Tako stanične membrane spermija imaju vrlo velik udio fosfolipida,

sterola, zasićenih i višestrukonezasićenih masnih kiselina (Sanocka i Kurpisz, 2004.). Ovakva je struktura stanične membrane spermija odgovorna za fleksibilnost i funkcionalnu sposobnost spermija. Nadalje, sve su lipidne komponente koje se nalaze u membrani spermija uključene u spermatogenezu, regulaciju maturacije spermija, kapacitaciju, akrosomsku reakciju te u fuziju membrana gameta. No, veliki udio višestrukonezasićenih masnih kiselina u staničnoj membrani spermija, čini spermije osobito podložnim oštećenjima prouzročenim prekomjerno stvorenim reaktivnim kisikovim spojevima (engl. *reactive oxygen species*, ROS), a koji induciraju lipidnu peroksidaciju (engl. *lipid peroxidation*, LPO). Stoga su spermiji jedinstveni po strukturi, funkciji, ali i izrazitoj osjetljivosti na oštećenja prouzročena LPO, koja mogu prouzročiti znatne funkcionalne poremećaje spermija (Alvarez i sur., 1987.).

Dr. sc. Ivona ŽURA ŽAJA, dr. med. vet., postdoktorandica, dr. sc. Marko SAMARDŽIJA*, dr. med. vet., redoviti profesor (dopisni autor, email: smarko@vef.hr), dr. sc. Silvijo VINCE, dr. med. vet., docent, dr. sc. Lada RADIN, dr. med. vet., viša asistentica, Jadranka PEJAKOVIĆ HLEDE, dr. med. vet., asistentica, dr. sc. Hrvoje VALPOTIĆ, dr. med. vet., docent, dr. sc. Suzana MILINKOVIĆ-TUR, dr. med. vet., redovita profesorica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; dr. sc. Iva LJUBIČIĆ, univ. mag. med. vet., predavačica, Veleučilište „Marko Marulić“, Knin, Hrvatska; dr. sc. Dražen ĐURIČIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Veterinarska stanica Đurđevac, Hrvatska; Nikola ROŠIĆ, dr. med. vet., Veterinarska stanica Jastrebarsko, Hrvatska

U fiziološkim uvjetima, postoji dinamička ravnoteža (ekvilibrij) između oksidansa i antioksidansa u ejakulatu. Prekomjerno stvaranje ROS-a može nadvladati zaštitni antioksidacijski mehanizam i dovesti do nastanka oksidacijskog stresa, a oksidativna oštećenja očituju se kao oksidativno promijenjene makromolekule lipida i/ili bjelančevina u dvosloju stanične membrane spermija te DNK-a u jezgri spermija, čime dolazi do smanjene gibljivosti i preživljavanja spermija (Aitken i sur., 1995.). Da bi se umanjili negativni učinci ROS-a, spermiji i sjemeni plazma imaju nekoliko mehanizama kojima neutraliziraju ROS. Ti mehanizmi uključuju enzimске i neenzimске antioksidacijske sustave koji djeluju sinergijski kako bi spriječili štetne učinke nusproizvoda aerobnog metabolizma (Ogbuewu i sur., 2010.). Ejakulat sisavaca (priješvegasjemenaplazma) sadrži mnoge spojeve s neenzimskim antioksidacijskim djelovanjem (primjerice askorbinsku kiselinu, α -tokoferol, taurin i albumine) (Žura Žaja i sur., 2009., Juyena i Stelletta, 2012.). Međutim, antioksidacijski enzimi imaju značajniju funkciju u zaštiti spermija protiv ROS-a (Ogbuewu i sur., 2010.).

Reaktivni kisikovi spojevi i slobodni radikali

Slobodni su radikali čestice, ioni, atomi ili molekule koji u izvanjskoj ljusci imaju jedan ili više nesparenih elektrona (Poljsak i sur., 2013.). Slobodni radikali nastaju homolitičkim cijepanjem kovalentnih veza, pri čemu svaki elektron ostaje vezan

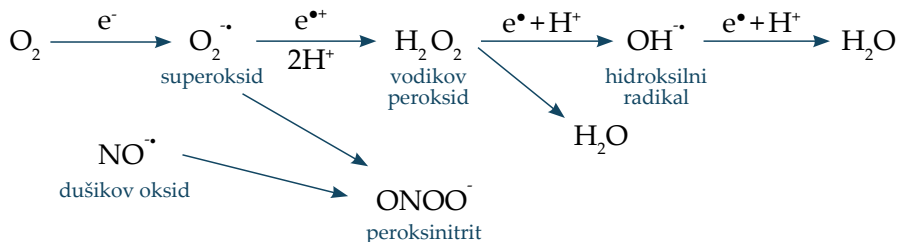
u susjednom atomu. Nespareni elektroni čine molekule izrazito nestabilnim i reaktivnim. Pri nastojanju da se uspostavi stabilno stanje reagiraju s elektronima najbližih molekula. Tako se primjerice, sparuju s elektronom iz izvanjske orbite drugog elektrona, uzrokujući pri tome njihovo davanje ili oduzimanje iz drugih molekula. Slobodni su radikali uglavnom organskog podrijetla, a mogu reagirati s organskim i/ili neorganskim spojevima te imati pozitivan, negativan ili neutralan naboj (Halliwell i Gutteridge, 2007.). Jednom stvoren slobodni radikal može izazvati niz lančanih reakcija reagirajući međusobno ili s drugim manje reaktivnim molekulama, pri čemu nespareni elektroni stvaraju kemijske veze uz oslobađanje energije. Poluživot slobodnih radikala u biološkim sustavima vrlo je kratak i traje najčešće nekoliko mikrosekundi što otežava njihovo kvantificiranje (Kehrer, 2000., Horton, 2003.).

Naziv "reaktivni kisikovi spojevi" obuhvaća slobodne radikale i reaktivne molekule koje nisu slobodni radikali. U organizmu su ROS najzastupljeniji radikali, a najznačajniji su superoksidni anion ($O_2^{\bullet -}$) i hidroksilni radikal ($OH^{\bullet}$). Najznačajniji neradikali biološkog sustava jesu vodikov peroksid (H_2O_2), singletni kisik (1O_2) i hipoklorna kiselina ($HOCl$) (Tabela 1.).

Superoksidni anion i vodikov peroksid su vrlo selektivni i stoga manje reaktivni. Hidroksilni radikal je vrlo reaktivan te reagira sa svim molekulama u staničnom okolišu, a nastaje spajanjem $O_2^{\bullet -}$ s H_2O_2 u reakciji koju kataliziraju prijelazni metali tzv. Haber-Weissovoj ili u Fentonovoj reakciji.

Tabela 1. Reaktivni kisikovi spojevi [prema Štefan i sur., 2007.]

Slobodni radikali	Čestice koje nisu slobodni radikali
superoksidni, $O_2^{\bullet -}$ hidroksilni, $OH^{\bullet}$ peroksilni, ROO alkoksilni, RO hidroperoksilni, $HO_2^{\bullet}$	vodikov peroksid, H_2O_2 hipokloritna kiselina, $HOCl$ ozon, O_3 singletni kisik, 1O_2



Slika 1. Redukcija kisika i nastanak slobodnih radikala (Šverko, 2011.).

Osim ROS-a u slobodne radikale pripadaju: reaktivni dušikovi spojevi (RDS), reaktivni kloridni spojevi, reaktivni bromovi spojevi te reaktivni sumporni spojevi (Halliwell i Gutteridge, 2007.). U biološkim su sustavima značajni RDS poput dušikovog oksida ($\text{NO}^{\bullet}$) ili dušikovog dioksida ($\text{NO}_2^{\bullet}$), a od neradikala nitratna kiselina (HNO_2) i peroksinitrit ($\text{ONOO}^{\bullet}$). Dušikov oksid nije jako toksičan, ali lako reagira s H_2O_2 ili $\text{O}_2^{\bullet -}$ te nastaje jako toksični $\text{ONOO}^{\bullet}$ i $\text{NO}_2^{\bullet}$ koji ubijaju bakterije, gljivice, helminte i tumorske stanice (Stevanović i sur., 2011.). Poznato je da $\text{NO}^{\bullet}$ u malim koncentracijama ima značajnu funkciju u reprodukciji i oplodnji, održavajući gibljivost spermija, a ostali RDS, primjerice $\text{NO}_2^{\bullet}$ i $\text{ONOO}^{\bullet}$, smatraju se štetnima. Dušikov oksid u velikim koncentracijama oštećuje spermije mehanizmom inhibicije mitohondrijske respiracije i sinteze DNK-a (Ogbuewu i sur., 2010.). Sintaza $\text{NO}^{\bullet}$ uslijed infekcije i upale doprinosi smanjenju gibljivosti i funkciji spermija te posljedično tome prouzroči neplodnost (Rosselli i sur., 1995.).

Stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva

U stanicama ROS mogu nastati uslijed djelovanja endogenih i egzogenih čimbenika. Egzogeni su čimbenici primjerice, ultraljubičasto i ionizirajuće zračenje, ozon, stres, određeni lijekovi (citostatici), ksenobiotici, herbicidi, a ponekad može biti i hrana, posebno bo-

gata nezasićenim masnim kiselinama i stoga izložena oksidiranju (Poljsak i sur., 2013.). Male se količine ROS-a u stanicama pa tako i spermijima, neprestano stvaraju tijekom metaboličkih procesa, prije svega u procesima oksidativne fosforilacije. Mitohondriji pri transportu elektrona troše oko 90% staničnog kisika, koji nije u potpunosti učinkovit. Pri tome 1-4% elektrona izbjegne iz lanca oksidativne fosforilacije, a tijekom redukcije kisika u vodik stvaraju se superoksidni radikali (Jacob i Winyard, 2009.). U mitohondrijima, približno 2% od ukupne potrošnje kisika, odlazi na stvaranje ROS-a (Kehrer, 2000.). Stoga su mitohondriji glavni unutarstanični izvor ROS-a i slobodnih radikala uslijed „curenja“ elektrona iz respiratornog lanca. Slobodni radikali nastaju u redukcijско-oksidativnim reakcijama tijekom fizioloških i patoloških procesa, primjerice u ciklooksigenaznom putu mitohondrijskog respiratornog lanca, u sustavu citokroma P450 u endoplazmatskoj mrežici, oksidacijom masnih kiselina u peroksisomima, metabolizmom arahidonske kiseline u staničnim membranama, aktivnošću stanica imunskog sustava (Raha i Robinson, 2000., Poljsak i sur., 2013.). Slobodni radikali mogu nastati i tijekom enzimatske oksidacije i autooksidacije različitih kemijskih spojeva poput tiola, glicer aldehida, reduciranog flavinmononukleotida, reduciranog flavinadenin dinukleotida, pojedinih hormona i neurotransmitora (katekolamini), pri čemu dolazi do redukcije molekularnog

kisika i nastajanja superoksida, najčešće uz prisutnost iona prijelaznih metala (Halliwell i Gutteridge, 2007.). Enzimi koji stvaraju ROS su brojni, a uključuju citokrome P450, različite oksidaze, peroksidaze, lipooksigenaze i dehidrogenaze (Kehrer, 2000., Poljsak i sur., 2013.).

ROS ima dvojaku funkciju u biološkim sustavima, a mogu imati štetan i/ili koristan učinak u živih organizama (Buonocore i sur., 2010.). Pri tome neprijeporno značenje imaju u mnogobrojnim procesima, primjerice u unutarstaničnoj signalizaciji, proliferaciji, apoptozi, embriogenezi te imunosnom odgovoru (Matés i Sánchez-Jiménez, 1999.). Aktivnošću stanica imunosnog sustava ROS nastaju kao dio mehanizma unutarstaničnog uklanjanja mikroorganizama (Klebanoff i sur., 2013.). Slobodnih radikala u organizmu, odnosno stanicama, ima u vrlo malim koncentracijama, a veće koncentracije imaju nepovoljan pa i toksičan učinak, tj. zbog velike koncentracije ili neučinkovitog uklanjanja ROS-a dolazi do oksidacijskog stresa, a time do oštećenja makromolekula i razvoja metaboličkih poremećaja. Kisikovi radikali mogu prouzročiti LPO, oštećenje DNK, bjelančevina i ugljikohidrata te oksidirati gotovo svaku organsku molekulu tako što destabiliziraju dušikove atome u DNK, RNK i aminokiselinama te dvostruke veze masnih kiselina (Davies, 2003., Jacob i Winyard, 2009.).

Oksidacijski stres

Oksidacijski se stres može definirati kao nesrazmjer između oksidansa i antioksidansa u korist oksidansa (Sies, 1997.). Oksidansi uključuju sve čimbenike koji imaju aktivnu funkciju u pojačanom stvaranju slobodnih radikala i drugih ROS-eva. Poremećaj ravnoteže između stvaranja i eliminacije ROS-a prouzroči oksidacijski stres, a može nastati kao posljedica povećanog stvaranja oksidansa i/ili smanjene antioksidacijske

zaštite. Organizam nastoji nadvladati oksidacijski stres povećanom sintezom antioksidansa. Nenadvladani oksidacijski stres ima posljedice, odnosno oštećenja, ovisno o tipu stanica i o intenzitetu oksidativnog oštećenja, a može doprinijeti nastanku bolesti poremetnjom regulacije u prijenosu signala i/ili oksidativnom oštećenju staničnih makromolekula koji nadmašuje stanični kapacitet za regeneraciju i popravak oštećenih molekula (Wells i sur., 2009.). Stoga posljedice nenadvladanog oksidacijskog stresa jesu poremetnje u fluidnosti i propusnosti membrana, ionskom transportu, staničnoj signalizaciji, ekspresiji gena i sintezi bjelančevina, zatim u razvoju mutacija, kancerogenezi te staničnoj smrti (nekroza ili apoptoza) (Halliwell i Gutteridge, 2007.).

Pomak u korist oksidansa, odnosno pojačano stvaranje slobodnih radikala i drugih reaktivnih kisikovih spojeva, u spermi i vaginalnom sekretu može prouzročiti oksidacijski stres spermija. Kronična se asimptomatska urogenitalna upala može smatrati stanjem koje prouzroči oksidacijski stres, a moguća je posljedica idiopatske neplodnosti.

Biološke implikacije oštećenja spermija prouzročenih ROS-om

Lipidna je peroksidacija višestruko nezasićenih masnih kiselina u staničnoj membrani spermija autokatalitička samopropagirajuća reakcija, koja može prouzročiti stanične disfunkcije povezane s gubitkom integriteta stanične membrane te može poremetiti funkcije spermija, a gdjekad i potpuno inhibirati spermatogenezu. Lipidna peroksidacija bioloških membrana prozroči umanjene funkcionalnosti membrane, smanjenje fluidnosti, opadanje vrijednosti membranskog potencijala, inaktivaciju enzima i receptora vezanih na membranu te povećanje nespecifične propusnosti iona. Smanjenje fluidnosti, odnosno rigidnost stanič-

ne membrane može prouzročiti rupturu membrane i gubitak staničnog sadržaja (Štefan i sur., 2007., Catalá, 2010.). Dokazano je da djelomično smanjenje plodnosti spermija može biti posljedica oksidativnih oštećenja nastalih prekomjernim stvaranjem ROS-a, LPO membrana i apoptoze te time smanjenja broja spermija i kakvoće sjemena (Kumaresan i sur, 2009., Zakošek Pipan i sur., 2014.).

Proizvodi LPO i ROS-a osim oštećenja na membrani spermija mogu prouzročiti oštećenja DNK-a i bjelančevina, koja mijenjaju strukturu i funkciju spermija te povećavaju osjetljivost spermija prema majčinskim makrofagima (Aitken i sur., 1994.). Oksidativno se oštećenje mitohondrijske DNK-a zbiva u svim aerobnim stanicama koje su bogate mitohondrijima, što uključuje i spermije. Osim toga, redoks stanje spermija utječe na fosforilaciju i stvaranje ATP-a, a koje utječu na oplodni potencijal spermija (Cummins i sur., 1994.). Tijekom oksidacije bjelančevina nastaje mnoštvo fizikalnih i biokemijskih promjena kao što su primjerice: povećanje osjetljivosti oksidiranih bjelančevina na proteolitičku enzimsku razgradnju, promjene mehaničkih svojstava, promjene u građi, povećanje hidrofnosti, promjena u vezanju kočimbenika te metalnih iona i drugo. Slobodni radikali stvaraju unakrsne veze među bjelančevinama i agregate velikih molekularnih masa, fragmentiraju bjelančevine, oksidiraju okosnice polipeptidnih lanaca uslijed čega dolazi do promjena enzimске aktivnosti i ionskog prijenosa (Davies, 2003.). Nadalje, slobodni radikali u enzimima oksidiraju sulfhidrilne skupine aminokiselina, uzrokuju disocijaciju peptidnih veza što dovodi do promjene u katalitičkom djelovanju, toplinskoj stabilnosti te proteolitičkoj osjetljivosti. Sve su aminokiseline podložne na oksidaciju OH^{*} radikalom, a osobito one koje sadrže sumpor poput cisteina i metionina (Berlett i Stadtman, 1997., Ljubičić i sur., 2013.). Djelovanjem slobodnih radikala

mogu nastati oksidativna oštećenja nukleinskih kiselina disocijacijom šećera i modifikacijom purinskih i pirimidinskih baza i oduzimanjem H atoma iz metilne skupine što prouzroči pucanje prstenova baza u molekuli DNK-a. Posljedice štetnog učinka slobodnih radikala na DNK su greške pri replikaciji, translaciji i inhibiciji sinteze bjelančevina, ekspresiji gena, što izaziva mutacije i posljedičnu kancerogenezu i/ili apoptozu (Cooke i sur., 2003.). Oštećenja DNK-a bivaju popravljena sustavom za reparaciju, a ukoliko reparacija izostane mogu nastati mutacije, apoptoza ili razvoj tumorskih bolesti. Modificirane bjelančevine i masti su funkcionalno neaktivne molekule koje se zamjenjuju uobičajenim staničnim sustavom zamjene molekula ili se nakupljaju te prouzroče razna oštećenja i oboljenja, dok je oštećenje DNK-a neophodno reparirati (Evans i sur., 2004., Ljubičić i sur., 2013.).

Štetni učinci ROS-a/lipidne peroksidacije na funkciju spermija

Patološki oblici spermija i mrtvi spermiji te leukociti u kontaminiranim ejakulatima stvaraju ROS u prekomjernim količinama što dovodi do oksidacijskog stresa ejakulata, a on je najučestaliji uzrok neplodnosti u mužjaka (De Lamirande i Gagnon, 1995.). Oksidacijski stres ejakulata može iscrpiti antioksidacijsku aktivnost, što rezultira smanjenom gibiljivošću spermija, zbog naglog gubitka unutarstaničnog ATP-a, koje prouzroči oštećenja aksoneme, kraće vrijeme preživljavanja spermija, veći stupanj morfoloških oštećenja u središnjem dijelu spermija sa štetnim učincima na njihovu kapacitaciju i akrosomsku reakciju (De Lamirande i Gagnon, 1992.). Nadalje, kritično male količine ROS-a onemogućuju njihov fiziološki značaj u regulaciji funkcija spermija, a što može rezultirati neplodnošću.

Međutim, prekomjerne količine ROS-a mogu poremetiti strukturu i funkciju stanične membrane spermija (Aitken, 1995.) i prouzročiti oštećenja lipidnog matriksa, što je povezano sa smanjenom gibljivosti spermija (Chatterjee i Gagnon, 2001., Zakošek Pipan i sur., 2014.). Veća je koncentracija ROS-a povezana sa smanjenim brojem gibljivih spermija, dok je veći broj gibljivih spermija opažen u uzorku sjemena s manjom koncentracijom ROS-a (Iwasaki i Gagnon, 1992.). Slično je utvrđeno u istraživanju Beer-Ljubić i sur. (2012.), odnosno utvrđena je značajno veća koncentracija lipidnih peroksida u bičjim spermijima s vrlo malom gibljivošću u odnosu na spermije velike gibljivosti. Nadalje, i patološki oblici spermija stvaraju ROS, a velika koncentracija H_2O_2 inducira LPO i rezultira staničnom smrću spermija.

Smanjenje je mitohondrijskog membranskog potencijala (MMP) povezano i s povećanim stvaranjem ROS-a u spermijima. Ejakulati muškaraca s lošim pokazateljima kakvoće imaju značajno niži MMP (Wang i sur., 2003.a). Neplodni su muškarci imali snižene vrijednosti pokazatelja kakvoće ejakulata prouzročene većom koncentracijom ROS-a u ejakulatu te je ustanovljena pozitivna korelacija između povećanog oštećenja spermija ROS-om i povećane aktivnosti citokroma C, kaspaza 9 i 3, koji upućuju na apoptozu (Wang i sur., 2003.b).

Prekomjerno stvaranje slobodnih radikala često ima za posljedicu greške u spermiogenezi, koje rezultiraju oslobađanjem spermija iz germinalnog epitela sa citoplazmatskom retencijom u neprimjereno velikom stupnju. Suvišak citoplazme sadrži enzime koji potiču dodatno stvaranje ROS-a u redoks sustavu stanične membrane spermija. Gubitak funkcije spermija nastaje uslijed LPO nezasićenih masnih kiselina u staničnoj membrani spermija, stoga stanična membrana gubi fluidnost, a stanične funkcije (Aitken i Sawyer, 2003.). Osim navedenog, posljedice oksidativ-

nog stresa uključuju gubitak gibljivosti i fertilizacijskog potencijala te indukciju DNK-a oštećenja u jezgri spermija. Endogeno je oksidativno oštećenje DNK-a zametnih stanica povezano s ranim prekidom gravidnosti nasljednim mutacijama, genetskim bolestima i povećanom učestalošću urođenih psihofizičkih mana, morbiditetom potomaka i karcinomima u mlađoj životnoj dobi. Većina DNK-a oštećenja se poprave, ali oštećeni se dijelovi mogu ispoljiti kao mutacije tijekom DNK-a replikacije koja prati diobu stanica u spermatogenezi, oogenezi i embriogenezi.

Vodikov peroksid izravno utječe na funkcije spermija napose na proces oplodnje. Male koncentracije podržavaju kapacitaciju, dok velike koncentracije imaju štetne učinke, a koji ovise o promjenama stanične membrane i unutarstaničnoj homeostazi oksidacijskih procesa (Oehninger i sur., 1995.).

Oksidativni je stres rezultirao znatnim smanjenjem gibljivosti i inducirao oštećenja DNK-a vrlo gibljivih spermija nakon izdvajanja u Percoll-u. Subletalni učinci oksidativnog stresa na gibljivost spermija su povezani s membranskom translokacijom fosfatidilserina u staničnoj membrani spermija, koja je rani pokazatelj poremećaja funkcije membrane povezanog s apoptozom (Kemal Duru i sur., 2000.). Nadalje, oksidacijski stres induciran leukocitima ima štetan učinak na višestruko nezasićene masne kiseline u fosfolipidima spermija, a što može rezultirati smanjenjem fluidnosti stanične membrane (Zalata i sur., 1998.).

Pozitivni učinci ROS-a na funkciju spermija

Reaktivni kisikovi spojevi se fiziološki stvaraju tijekom staničnog metabolizma te male koncentracije reaktivnih oksidansa imaju pozitivan učinak i djeluju selektivno (De Lamirande i sur., 1997., Majić-Balić i sur., 2012.), i to na metabolizam protuupalnih prostanoida

u regulaciji gena ili u regulaciji staničnog rasta, unutarstaničnoj signalizaciji i ostalih vrsta prijenosa signala. Štoviše, slobodni radikali kisika imaju važnu funkciju u regulaciji tonusa krvnih žila i antimikrobnoj zaštiti. Određene količine ROS-a ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 i $NO^{\cdot}$) reguliraju različite funkcije spermija (Ford, 2004.). Male količine slobodnih radikala u ejakulatu poboljšavaju sposobnost vezanja spermija za zona pellucidu. Nadalje, inkubacija spermija s malim koncentracijama H_2O_2 stimulira kapacitaciju, hiperaktivaciju, akrosomsku reakciju i fuziju spermija s oocitom (De Lamirande i Gagnon, 1993., Sanocka i Kurpisz, 2004.).

Antioksidacijski zaštitni mehanizmi

Da bi spriječio štetne posljedice koje se zbivaju u stanici, organizam/stanica je razvio nekoliko mehanizama kojima neutralizira oksidacijski stres, primjerice prevenciju od oštećenja, reparabilni procesi sanacije oksidativnih oštećenja,

mehanizam fizičke zaštite oštećenja te najznačajniji antioksidacijski zaštitni mehanizmi (Slika 2.).

Antioksidansi su tvari koje štite stanice od oštećenja prouzročenih slobodnim radikalima. Interferencijom antioksidansi stabiliziraju slobodne radikale te tako sprječavaju njihove neželjene učinke (Shinde i sur., 2012.). Temeljem teorije oksidativnog stresa antioksidansi su primarni u sanaciji stresa nastalog zbog djelovanja slobodnih radikala (Rahal i sur., 2014.). Endogeni se antioksidansi stalno stvaraju u organizmu te se dijele na enzimske i neenzimske molekule, koje su umrežene i djeluju interaktivno, a obično su raspoređene u citoplazmi i različitim staničnim organelama, ali se nalaze i u izvanstaničnoj tekućini. Endogeni i egzogeni antioksidansi neutraliziraju djelovanje slobodnih radikala pa stoga utječu na stvaranje učinkovitijeg imunskog odgovora, a smanjuju rizik od karcinoma, degenerativnih oboljenja te od pojave neplodnosti jedinki (Yadav i sur., 2006., Shinde i sur., 2012.).



Slika 2. Podjela unutar staničnih zaštitnih antioksidacijskih mehanizama (prema Kohen i Nyska, 2002.)

Eukariotski organizmi posjeduju nekoliko sveprisutnih primarnih antioksidacijskih enzima, kao što su superoksid dismutaza (engl. *superoxide dismutase*, SOD), katalaza (engl. *catalase*, CAT) i glutation peroksidaza (engl. *glutathione peroxidase*, GSH-Px), koji kataliziraju kompleks kaskada u reakcijama gdje dolazi do pretvorbe ROS-a u stabilnije molekule vode i kisika, a za što su im potrebni elementi u tragovima kao kočimbenici (Rahal i sur., 2014.). Osim primarnih antioksidansa, veliki broj sekundarnih enzima djeluje u uskoj interakciji s antioksidansima male molekulske mase kako bi formirali redoks cikluse koji osiguravaju potrebne kočimbenike za osnovne funkcije enzimskih antioksidansa. Neenzimski su antioksidansi podijeljeni u endogene (metaboličke) i egzogene (nutrijenti). Endogeni antioksidansi uključuju lipoičnu kiselinu, glutation, L-arginin, mokraćnu kiselinu, bilirubin, koenzim Q10, melatonin, bjelančevine male molekulske mase koje vežu teške metale (Kohen i Nyska, 2002). Egzogeni antioksidansi su

spojevi koji se ne mogu proizvesti u tijelu te se moraju unijeti hranom i/ili dodacima hrani, a mogu biti prirodni i sintetski, primjerice vitamini E i C, karotenoidi, flavonoidi, likopen, elementi u tragovima (Shinde i sur., 2012.).

Antioksidacijski sustav štiteći stanice od prekomjerne koncentracije slobodnih radikala djeluje na tri zaštitne razine (Slika 3.), koji se sastoji od:

- antioksidansa topljivih u mastima (vitamin A, E, karotenoidi, ubikinoni, itd.),
- antioksidansa topljivih u vodi (vitamin C, mokraćna kiselina, taurin, itd.),
- antioksidacijskih enzima (GSH-Px, CAT, SOD),
- tiol redoks sustava, kojega čine sustav glutationa (glutation/glutation reduktaza/glutaredoksin/glutation peroksidaza) i sustav tioredoksina (tioredoksin/tioredoksin peroksidaza/tioredoksin reduktaza) (Surai, 2006.).



Slika 3. Zaštitne razine antioksidacijskog sustava (prema Surai, 2006.).

Antioksidacijski zaštitni mehanizmi u ejakulatu

Spermiji, u fosfolipidima stanične membrane, sadrže velike količine višestruko nezasićenih masnih kiselina te imaju relativno mali antioksidacijski kapacitet, što ih čini, vrlo osjetljivima na oksidativna oštećenja (Kowalowka i sur., 2008., Žura Žaja i sur., 2013.a). Antioksidansi su smješteni uglavnom u središnjem dijelu spermija, području oskudnom s citoplazmom te u tekućinama akcesornih spolnih žlijezda. Oskudni volumen citoplazme u središnjem dijelu spermija, ograničava i antioksidacijski kapacitet, stoga postoje ograničeni endogeni mehanizmi spermija koji nastoje poništiti nastala oštećenja. Osim navedenog, antioksidacijski enzimi koji se nalaze u središnjem dijelu spermija ne mogu osigurati zaštitu membranskih lipida u glavi i repu spermija od peroksidativnog oštećenja (Aitken, 1995., Kowalowka i sur., 2008.). Funkcija i preživljavanje spermija ne ovise samo o biokemijskim sastojcima sjemene plazme (Žura Žaja i sur., 2016.a), već i o izvanstaničnoj antioksidacijskoj zaštiti spermija (Zakošek Pipan i sur., 2014.). Spermiji u aerobnim uvjetima tijekom normalnih metaboličkih procesa stvaraju ROS, a izloženi su visokoj razini kisika tijekom prolaska kroz muški i ženski spolni sustav te tijekom procesa oplodnje, no istodobno u ejakulatu postoje višestruki mehanizmi za zaštitu od oksidativnih oštećenja, unutarstanični i izvanstanični antioksidacijski enzimski i neenzimski sustavi. Enzimski antioksidansi i antioksidansi male molekularne mase uklanjaju slobodne radikale kao mehanizam samozaštite (Lewis i sur., 1995.). Spermiji sadrže antioksidacijske enzime, kao što su SOD, GSH-Px i CAT, dok je sjemena plazma bogata i neenzimskim antioksidansima male molekularne mase (primjerice L-glutation; glutation; L-ergotionein, ERT) (Kowalowka i sur., 2008.).

Prisutnost i koncentracija antioksidansa u spermijima i sjemennoj plazmi

Prisutnost i koncentracija antioksidansa u spermijima i sjemennoj plazmi razlikuju se među životinjskim vrstama (Kowalowka i sur., 2008., Strzezek i sur., 2009.). Tako su spermiji u pastuha iznimno dobro zaštićeni od oštećenja prouzročenih ROS-om u usporedbi sa spermijima nerasta, koji imaju ograničen antioksidacijski sustav u usporedbi s drugim životinjskim vrstama (Strzezek i sur., 1999., Kowalowka i sur., 2008., Strzezek i sur., 2009.). Enzimski je antioksidacijski zaštitni sustav protiv ROS-a u spermija nerasta vrlo oskudan za razliku od mužjaka drugih vrsta te ga čine velika aktivnost SOD-a i mala aktivnost GSH-Px (Koziorowska-Gilun i sur., 2011., Žura Žaja i sur., 2013.b, Žura Žaja i sur., 2016.b). Osim toga, CAT nije nađena u spermijima nerasta i pasa (Strzezek i sur., 2009.). Spermiji pastuha, za razliku od nerasta, imaju kompletni enzimski obrambeni sustav protiv ROS-a (SOD, CAT, GSH-Px), dok u psa spermiji i spermalna frakcija ejakulata sadrže uglavnom SOD (Strzezek i sur., 2009.). Budući da spermiji nerasta imaju slabu enzimsku antioksidacijsku zaštitu, taj je nedostatak nadoknađen bjelančevinama sjemene plazme i antioksidansima male molekularne mase primjerice GSH i ERT, koji imaju važnu funkciju u detoksikaciji ROS-a (Kowalowka i sur., 2008., Zakošek Pipan i sur., 2014.). Usprkos prethodnom, navedeni su antioksidansi male molekularne mase u sjemenju pastuha prisutni u znatno većoj koncentraciji nego u nerasta (Strzezek i sur., 2009.). Među enzimskim antioksidansima u sjemennoj plazmi pastuha CAT ima najveću aktivnost (Kowalowka i sur., 2008., Strzezek i sur., 2009.), dok je SOD najznačajniji antioksidans u sjemennoj plazmi nerasta te ima najveći kapacitet u uklanjanju slobodnih radikala (Kowalowka i sur., 2008., Koziorowska-Gilun i sur., 2011.). Smanjenje antioksi-

dacijskog kapaciteta u sjemenoj plazmi povezano je s pojačanom lipidnom peroksidacijom u membrani spermija, što rezultira oštećenjem oplodne sposobnost spermija. Koncentracija je ukupnog antioksidativnog statusa (engl. *total antioxidant status*, TAS) u sjemenoj plazmi nerasta manja od one u pastuha, ali i veća od one u psa (Strzezek i sur., 2009., Koziorowska-Gilun i sur., 2011.).

Pri malim koncentracijama, ROS imaju pozitivan učinak na spermije, potiču kapacitaciju, hiperaktivaciju, akrosomsku reakciju spermija te signalizacijske procese koji osiguravaju oplodnju. Međutim, prekomjerne količine ROS-a mogu prouzročiti oštećenja lipidnog matriksa i poremetiti strukturu te funkciju stanične membrane spermija, što je pak povezano sa smanjenom gibljivosti i brojem spermija u ejakulatu. Iz svega navedenog proizlazi, da je za preživljavanje i normalnu funkciju spermija, neophodna ravnoteža između korisnih i štetnih učinaka ROS-a te antioksidansa.

Sažetak

U fiziološkim uvjetima, u ejakulatu postoji ravnoteža između oksidansa i antioksidansa, koja osigurava preživljavanje i normalnu funkciju spermija. Prekomjerno stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) može nadvladati zaštitni antioksidacijski mehanizam i u dvosloju stanične membrane spermija, inicirati oksidativne promjene u lipidima i/ili bjelančevinama te izazvati promjene u DNK-a, čime dolazi do smanjene gibljivosti i preživljavanja spermija. U nekim patološkim stanjima, primjerice upalama reproduktivnoga sustava, aktivirani leukociti, ali i/ili patološki oblici i mrtvi spermiji prekomjerno stvaraju ROS, što dovodi do oksidativnog stresa spermija u ejakulatu. Naime, oksidativni je stres najučestaliji uzrok neplodnosti mužjaka, a nastaje zbog narušavanja ravnoteže stvaranja oksidansa (slobodnih radikala, ROS-a itd.) i antioksidacijske zaštite na staničnoj razini ili razini cijeloga organizma. Stanična membrana spermija sisavaca sadrži veliki udio višestruko nezasićenih masnih kiselina, a takva je struktura odgovorna za fleksibilnost i funkcionalnu sposobnost spermija. Međutim,

lipidi su spermija glavni supstrati za lipidnu peroksidaciju (LPO) prouzročenu ROS-om, što može dovesti do znatnih funkcionalnih poremećaja spermija. Sukladno tome, spermiji su jedinstveni po strukturi, funkciji i izrazitoj osjetljivosti na oštećenja prouzročena LPO. S druge strane, male (fiziološke) količine ROS-a poboljšavaju sposobnost spermija u interakciji sa zona pellucidom, stimuliraju kapacitaciju, hiperaktivaciju, akrosomsku reakciju i fuziju spermija s oocitom. Nepoznato je koja količina ROS-a ima pozitivan učinak na funkcionalnu sposobnost spermija, a koja količina može dovesti do neplodnosti mužjaka. Spermiji u aerobnim uvjetima tijekom normalnih metaboličkih procesa stvaraju ROS, a izloženi su visokoj razini kisika tijekom prolaska kroz muški i ženski spolni sustav te tijekom procesa oplodnje. Istodobno u ejakulatu postoje višestruki mehanizmi za zaštitu od oksidativnih oštećenja, unutarstanični i izvanstanični antioksidacijski enzimski i neenzimski sustavi. Enzimski antioksidansi i antioksidansi male molekularne mase spermija i sjemene plazme djeluju sinergijski kao mehanizam samozaštite u uklanjanju slobodnih radikala. Najdjelotvorniji enzimski antioksidansi obuhvaćaju superoksid dismutazu, katalazu i glutation peroksidazu, a neenzimski antioksidansi uključuju tiolne antioksidanse, vitamine C i E, karotenoide, prirodne flavonoide, albumine, mokraćnu kiselinu te druge spojeve i minerale, primjerice Se. Međutim, antioksidacijski enzimi imaju značajniju funkciju u zaštiti spermija od ROS-a. Antioksidansi su smješteni uglavnom u središnjem dijelu spermija, području oskudnom citoplazmom te u tekućinama akcesornih spolnih žlijezda i epididimisa. Oskudni volumen citoplazme u središnjem dijelu spermija, ograničava i antioksidacijski kapacitet, stoga postoje ograničeni endogeni mehanizmi spermija koji nastoje reparirati nastala oštećenja. Osim navedenog, antioksidacijski enzimi koji se nalaze u središnjem dijelu spermija ne mogu osigurati zaštitu membranskih lipida u glavi i repu spermija od peroksidativnog oštećenja. Mali antioksidacijski kapacitet spermija kompenziraju antioksidansi iz sjemene plazme, stoga spermiji ovise i o izvanstaničnoj antioksidacijskoj zaštiti, koja je u interakciji s biokemijskim sastojcima sjemene plazme. Nadalje, sama prisutnost i koncentracija antioksidansa u spermijima i sjemenoj plazmi razlikuje se među životinjskim vrstama.

Zbog svega navedenog, vidljivo je značenje u održavanju ravnoteže između stvaranja i uklanjanja ROS-a te pravo vrijeme i mjesto stvaranja ROS-a u cilju postizanja optimalne oplodne sposobnosti spermija.

Ključne riječi: ROS, oksidacijski stres, antioksidansi, spermiji

Literatura

1. AITKEN, R. J. and D. SAWYER (2003): The human spermatozoon - not waving but drowning. *Adv. Exp. Med. Biol.* 518, 85-98.
2. AITKEN, R. J., D. W. BUCKINGHAM, J. BRINDLE, E. GOMEZ, H. W. G. BAKER and D. S. IRVINE (1995): Andrology: Analysis of sperm movement in relation to the oxidative stress created by leukocytes in washed sperm preparations and seminal plasma. *Hum. Reprod.* 10, 2061-2071.
3. AITKEN, R. J., K. WEST and D. W. BUCKINGHAM (1994): Leukocytic infiltration into the human ejaculate and its association with semen quality, oxidative stress and sperm function. *J. Androl.* 15, 343-352.
4. ALVAREZ, J. G., J. C. TOUCHSTONE, L. BLASCO and B. T. STOREY (1987): Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa. Superoxide dismutase as major enzyme protectant against oxygen toxicity. *J. Androl.* 8, 338-348.
5. BEER-LJUBIĆ, B., J. ALADROVIĆ, T. S. MARENJAK, I. MAJIC-BALIĆ, R. LAŠKAJ and S. MILINKOVIĆ-TUR (2012): Biochemical properties of bull spermatozoa separated in iodixanol density solution. *Res. Vet. Sci.* 92, 292-294.
6. BERLETT, B. S. and E. R. STADTMAN (1997): Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. *J. Biol. Chem.* 272, 20313-20316.
7. BUONOCORE, G., S. PERRONE and M. L. TATARANNO (2010): Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 15, 186-190.
8. CATALÁ, A. (2010): A synopsis of the process of lipid peroxidation since the discovery of the essential fatty acids. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 399, 318-323.
9. CERGOJLJ, M. i M. SAMARDŽIJA (2006): Veterinarska andrologija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
10. CHATTERJEE, S. and C. GAGNON (2001): Production of reactive oxygen species by spermatozoa undergoing cooling, freezing and thawing. *Mol. Reprod. Dev.* 59, 451-458.
11. COOKÉ, M. S., M. D. EVANS, M. DIZDAROGLU and J. LUNEC (2003): Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation and disease. *FASEB J.* 17, 1195-1214.
12. CUMMINS, J. M., A. M. JEQUIER and K. RAYMOND (1994): Molecular biology of human male infertility: Links with aging, mitochondrial genetics and oxidative stress. *Mol. Rep. Dev.* 37, 345-362.
13. DAVIES, M. J. (2003): Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 305, 761-770.
14. De LAMIRANDE, E. and C. GAGNON (1992): Reactive oxygen species and human spermatozoa. I. Effects on the motility of intact spermatozoa and on sperm axoneme and II. Depletion of adenosine triphosphate plays an important role in the inhibition of sperm motility. *J. Androl.* 13, 379-386.
15. De LAMIRANDE, E. and C. GAGNON (1993): A positive role for the superoxide anion in triggering hyperactivation and capacitation of human spermatozoa. *Int. J. Androl.* 16, 21-25.
16. De LAMIRANDE, E. and C. GAGNON (1995): Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum. Reprod.* 10, 15-21.
17. De LAMIRANDE, E., H. JIANG, A. ZINI, H. KODAMA and C. GAGNON (1997): Reactive oxygen species and sperm physiology. *Rev. Reprod.* 2, 48-54.
18. EVANS, M. D., M. DIZDAROGLU and M. S. COOKE (2004): Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat. Res.* 567, 1-61.
19. FORD, W. C. (2004): Regulation of sperm functions by reactive oxygen species. *Hum. Reprod. Update* 10, 387-399.
20. HALLIWELL, B. and J. M. C. GUTTERIDGE (2007): Free radicals in biology and medicine. 4th edition. Oxford University Press: Oxford.
21. HORTON, J. W. (2003): Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy. *Toxicology* 189, 75-88.
22. IWASAKI, A. and C. GAGNON (1992): Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertil. Steril.* 57, 409-416.
23. JACOB, C. and P. G. WINYARD (2009): Redox signaling and regulation in biology and medicine. Wiley-VCH, Weinheim.
24. JUYENA, N. S. and C. STELLETTA (2012): Seminal plasma: an essential attribute to spermatozoa. *J. Androl.* 33, 536-551.
25. KEHRER, J. P. (2000): The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 149, 43-50.
26. KEMAL DURU, N., M. MORSHEDI and S. OEHNINGER (2000): Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. *Fertil. Steril.* 74, 1200-1207.
27. KLEBANOFF, S. J., A. J. KETTLE, H. ROSEN, C. C. WINTERBOURN and W. M. NAUSEEF (2013): Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. *J. Leukoc. Biol.* 93, 185-198.
28. KOHEN, R. and A. NYSKA (2002): Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol. Pathol.* 30, 620-650.
29. KOWALOWKA, M., P. WYSOCKI, L. FRASER and J. STRZEZEK (2008): Extracellular Superoxide Dismutase of Boar Seminal Plasma. *Reprod. Dom. Anim.* 43, 490-496.
30. KOZIOROWSKA-GILUN, M., M. KOZIOROWSKI, J. STRZEZEK and L. FRASER (2011): Seasonal changes in antioxidant defence systems in seminal plasma and fluids of the boar reproductive tract. *Reprod. Biol.* 11, 37-47.
31. KUMARESAN, A., G. KADIRVEL, K. M. BUJARBARUAH, R. K. BARDOLOI, A. DAS, S. KUMAR and S. NASKAR (2009): Preservation of boar semen at 18 °C induces lipid peroxidation and apoptosis like changes in spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 110, 162-171.
32. LEWIS, S. E. M., P. M. BOYLE and K. A. MCKINNEY (1995): Total antioxidant capacity of seminal plasma is different in fertile and infertile men. *Fertil. Steril.* 64, 868-870.
33. LÓPEZ RODRÍGUEZ, A., T. RIJSSELAERE, J. BEEK, P. VYT, A. VAN SOOM and D. MAES (2013): Boar seminal plasma components and their relation with semen quality. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 59, 5-12.
34. LJUBIČIĆ, I., L. RADIN, I. ŽURA ŽAJA, J. PEJAKOVIĆ HLEDE i S. MILINKOVIĆ-TUR (2013):

- Slobodni radikali, oksidacijski stres i parazitarne bolesti. *Vet. stn.* 44, 285-297.
35. MAJIĆ-BALIĆ, I., S. MILINKOVIĆ-TUR, M. SAMARDŽIJA and S. VINCE (2012): Effect of age and environmental factors on semen quality, glutathione peroxidase activity and oxidative parameters in Simmental bulls. *Theriogenology* 78, 423-431.
 36. MATÉS, J. M. and F. SÁNCHEZ-JIMÉNEZ (1999): Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiological processes. *Front. Biosci.* 4, D339-345.
 37. OEHNINGER, S., P. BLACKMORE, M. MAHONY and G. HODGEN (1995): Effects of hydrogen peroxide on human spermatozoa. *J. Assist. Reprod. Genet.* 12, 41-47.
 38. OGBUEWU, I. P., N. O. ALADI, I. F. ETUK, M. N. OPARA, M. C. UCHEGBU, I. C. OKOLI and M. U. ILOJE (2010): Relevance of oxygen free radicals and antioxidants in sperm production and function. *Res. J. Vet. Sci.* 3, 138-164.
 39. POLJŠAK, B., D. ŠUPUT and I. MILISAV (2013): Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2013, Article ID 956792, 11 pages. doi:10.1155/2013/956792
 40. RAHA, S. and B. H. ROBINSON (2000): Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends Biochem. Sci.* 25, 502-508.
 41. RAHAL, A., A. KUMAR, V. SINGH, B. YADAV, R. TIWARI, S. CHAKRABORTY and K. DHAMA (2014): Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. *Biomed Res. Int.* vol. 2014, Article ID 761264, 19 pages. doi:10.1155/2014/761264
 42. RODRIGUEZ-MARTINEZ, H., U. KVIST, J. ERNERUDH, L. SANZ and J. J. CALVETE (2011): Seminal plasma proteins: what role do they play? *Am. J. Reprod. Immunol.* 66, 11-22.
 43. ROSSELLI, M., R. K. DUBEY, B. IMTHURN, E. MACAS and P. J. KELLER (1995): Effects of nitric oxide on human spermatozoa: Evidence that nitric oxide decreases sperm motility and induces sperm toxicity. *Hum. Reprod.* 10, 1786-1790.
 44. SANOČKA, D. and M. KURPISZ (2004): Reactive oxygen species and sperm cells. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2, 1-7.
 45. SHINDE, A., J. GANU and P. NAIK (2012): Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress. *J. Dent. Allied Sci.* 1, 63-66.
 46. SIES, H. (1997): OXIDATIVE STRESS: Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp. Physiol.* 82, 291-295.
 47. STEVANOVIĆ, J., S. BOROŽAN, S. JOVIĆ I I. IGNJATOVIĆ (2011): Fiziologija slobodnih radikala. *Vet. glasnik* 65, 95-107.
 48. STRZEZEK, J., S. LAPKIEWICZ and M. LECEWICZ (1999): A note on antioxidant capacity of boar seminal plasma. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 17, 181-188.
 49. STRZEZEK, R., M. KOZIORÓWSKA-GILUN, M. KOWALÓWKA and J. STRZEZEK (2009): Characteristics of antioxidant system in dog semen. *Pol. J. Vet. Sci.* 12, 55-60.
 50. SURAI, P. F. (2006): Selenium in nutrition and health. Nottingham University Press, Nottingham.
 51. ŠTEFAN, L., T. TEPŠIĆ, I. ZAVIDIĆ, M. URUKALO, D. TOTA and R. DOMITROVIĆ (2007): Lipidna peroksidacija - uzroci i posljedice. *Medicina* 43, 84-93.
 52. ŠVERKO, A. (2011): Povezanost pojavnosti i proširenosti bubrežnog karcinoma i tkivne ekspresije citokroma P450. Disertacija, Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Hrvatska.
 53. WANG, X., R. K. SHARMA, A. GUPTA, V. GEORGE, A. J. THOMAS, T. FALCONE and A. AGARWAL (2003a): Alterations in mitochondria membrane potential and oxidative stress in infertile men: a prospective observational study. *Fertil. Steril.* 80, 844-850.
 54. WANG, X., R. K. SHARMA, S. C. SIKKA, A. J. THOMAS JR, T. FALCONE and A. AGARWAL (2003b): Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertil. Steril.* 80, 531-535.
 55. WELLS, P. G., G. P. MCCALLUM, C. S. CHEN, J. T. HENDERSON, C. J. J. LEE, J. PERSTIN, T. J. PRESTON, M. J. WILEY and A. W. WONG (2009): Oxidative stress in developmental origins of disease: teratogenesis, neurodevelopmental deficits, and cancer. *Toxicol. Sci.* 108, 4-18.
 56. YADAV, S. B., A. N. SURYAKAR, A. D. HUDDER, P. P. DURGAWALE and P. S. SHUKLA (2006): Antioxidant treatment a new therapeutic approach to reversible male infertility. *Biomed. Res.* 17, 175-178.
 57. ZAKOŠEK PIPAN, M., J. MRKUN, M. KOSEC, A. NEMEC SVETE and P. ZRIMŠEK (2014): The effect of dialysis on the lipid peroxidation and antioxidant status of boar seminal plasma during liquid preservation. *Vet. arhiv* 84, 129-141.
 58. ZALATA, A. A., A. B. CHRISTOPHE, C. E. DEPUYDT, F. SCHOONJANS and F. H. COMHAIRE (1998): White blood cells cause oxidative damage to the fatty acid composition of phospholipids of human spermatozoa. *Int. J. Androl.* 21, 154-162.
 59. ŽURA ŽAJA, I., I. MAJIĆ-BALIĆ, B. BEER LJUBIĆ, J. ALADROVIĆ I S. MILINKOVIĆ-TUR (2009): Mokraćna kiselina i albumini kao neenzimski antioksidansi u sjemennoj plazmi bikova. Zbornik sažetaka radova, Veterinarska znanost i struka, Znanstveno-stručni sastanak, 1. i 2. listopada, Zagreb, Hrvatska, str. 104-105.
 60. ŽURA ŽAJA, I., I. MAJIĆ-BALIĆ, B. BEER LJUBIĆ, J. ALADROVIĆ, S. VINCE, M. SAMARDŽIJA, R. LAŠKAJ, M. VILIĆ and S. MILINKOVIĆ-TUR (2013a): Antioxidative system parameters in boars seminal plasma and spermatozoa. 3rd Congress of Croatian Physiological Society and 1st Regional Congress of the Physiological Societies. 13.-15. September, Rijeka, Croatia. *Period. Biol.* 115, Suppl. 2, p. 60.
 61. ŽURA ŽAJA, I., I. MAJIĆ-BALIĆ, B. BEER LJUBIĆ, J. ALADROVIĆ, S. VINCE, M. SAMARDŽIJA, R. LAŠKAJ, M. VILIĆ and S. MILINKOVIĆ-TUR (2013b): Antioxidative system parameters in boars spermatozoa separated in iodixanol density solution. Book of Abstracts The 5th International Congress „Veterinary science and profession“, 3-4 October, Zagreb, Croatia, p. 53.
 62. ŽURA ŽAJA, I., M. SAMARDŽIJA, S. VINCE, I. MAJIĆ-BALIĆ, M. VILIĆ, D. ĐURIČIĆ and S. MILINKOVIĆ-TUR (2016a): Influence of boar breeds or hybrid genetic composition on semen quality and seminal plasma biochemical variables. *Anim. Reprod. Sci.* 164, 169-176.
 63. ŽURA ŽAJA, I., M. SAMARDŽIJA, S. VINCE, I. MAJIĆ-BALIĆ, D. ĐURIČIĆ and S. MILINKOVIĆ-TUR (2016b): Antioxidant system parameters in boar spermatozoa of different morphology and motility. *Vet. arhiv* (in press).

Positive and Negative Effects of Reactive Oxygen Species on the Fertilization Ability of Spermatozoa

Ivona ŽURA ŽAJA, DVM, PhD, Postdoctoral Student, Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Full Professor, Silvijo VINCE, DVM, PhD, Assistant Professor, Lada RADIN, DVM, PhD, Assistant, Jadranka PEJAKOVIĆ HLEDE, DVM, Assistant, Hrvoje VALPOTIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Suzana MILINKOVIĆ-TUR, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Croatia; Iva LJUBIČIĆ, DVM, PhD, Master, Lecturer, Polytechnic „Marko Marulić“, Knin, Croatia; Dražen ĐURIČIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Veterinary Practice Đurđevac, Croatia; Nikola ROŠIĆ, DVM, Veterinary Practice Jastrebarsko, Croatia

Under physiological conditions, there is a balance between oxidants and antioxidants in ejaculate, which ensures the survival and normal function of spermatozoa. Excessive production of reactive oxygen species (ROS) may overcome the protective antioxidant mechanism, and in spermatozoa, the cell membrane bilayer initiates oxidative changes of lipids and/or proteins as well as alterations in DNA. This consequently leads to reduced motility and survival of spermatozoa. In certain pathological conditions, such as inflammation of the reproductive system, the activated leucocytes and pathological forms and dead spermatozoa excessively produce ROS, which may result in oxidative stress of the spermatozoa in ejaculate. Namely, oxidative stress is the most frequent cause of male infertility, which appears due to a disturbed balance between oxidant production (free radicals, ROS, *etc.*) and antioxidant protection at either the cellular level or the level of the organism. The cell membrane of mammalian spermatozoa contains a high proportion of polyunsaturated fatty acids, and such a structure enables the flexibility and functional ability of spermatozoa. However, spermatozoa lipids are the main substrate for lipid peroxidation (LPO) induced by ROS, which may lead to significant functional alterations of spermatozoa. Accordingly, the spermatozoa are unique in structure, function and are extremely sensitive to damage induced by LPO. On the other hand, a low (physiological) quantity of ROS may improve the ability of spermatozoa in their interaction with *zona pellucida*, or may stimulate capacitation, hyperactivation, acrosomal reaction and fusion of spermatozoa with the oocyte. It is unknown what quantity of ROS has a positive effect on the functional ability of spermatozoa, and what quantity might lead to male infertility. Under aerobic conditions, spermatozoa produce ROS during normal metabolic processes and are exposed to high oxygen conditions during passage through the male and female reproductive

systems, and during the fertilization process. Simultaneously, there are multiple mechanisms in ejaculate that protect against oxidative damage, including intracellular and extracellular antioxidant enzymatic and non-enzymatic systems. Enzymatic antioxidants and low molecular weight antioxidants in spermatozoa and seminal plasma act in synergy as part of the self-protection mechanism through the removal of free radicals. The most effective of the enzymatic antioxidants are superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase, while the non-enzymatic antioxidants include thiole antioxidants, vitamins C and E, carotenoids, natural flavonoids, albumins, uric acid and other compounds and minerals such as Se. However, antioxidant enzymes have a more significant function in the protection of spermatozoa from ROS. Antioxidants are mostly located in the middle part of spermatozoa, an area poor in cytoplasm and in fluids of the accessory sex glands and epididymis. The low volume of cytoplasm in the middle part of spermatozoa also limits antioxidant capacity, limiting the endogenous mechanisms of spermatozoa that can repair induced damages. Furthermore, antioxidant enzymes located in the middle part of the spermatozoa cannot provide protection from peroxidation damage to the membrane lipids in the head and tail of spermatozoa. The rather low antioxidant capacity of spermatozoa is compensated by antioxidants in the seminal plasma, and thus, spermatozoa also depend on extracellular antioxidant protection, through interactions with the biochemical constituents of seminal plasma. Further, the presence and concentration of antioxidants in the spermatozoa and seminal plasma differ among animal species. Therefore, it is important to maintain the balance between the production and removal of ROS, and the proper time and site of ROS production, in order to attain the optimal fertilization ability of the spermatozoa.

Key words: ROS, Oxidative stress, Antioxidants, Spermatozoa

zagrebački MASTITIS REAGENS[®]



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



Proizvodi : Laboratorij za mastitise i kakvoću sirovog mlijeka

Glaukom



Darko Capak, Marijana Šešo, Boris Pirkić i Hrvoje Capak*

Uvod

Glaukom je dobro poznata, ali i nedovoljno istražena bolest oka životinja i ljudi. Poremećaj očnog tlaka je neizlječiva bolest, no pacijenti s takvom dijagnozom, u slučaju pravovremenog prepoznavanja bolesti, imaju povoljniju prognozu.

Na povoljan ishod uvelike utječe liječenje u specijalističkoj ustanovi te je za dobro pacijenta osnovno da doktori veterinarske medicine u primarnoj praksi budu u mogućnosti prepoznati životinju s glaukomom.

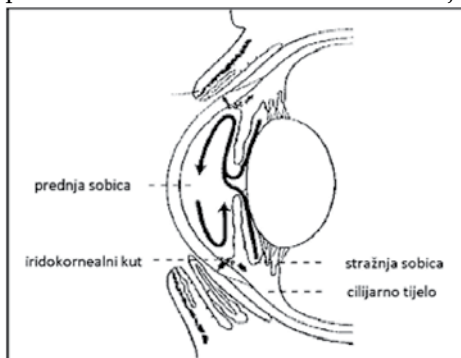
Svrha ovog rada je pregledno približiti veterinarima praktičarima prepoznavanje, primarnu obradu, mogućnosti liječenja i rizike koji se susreću u svakodnevnom radu s oftalmološkim pacijentima.

Anatomija, fiziologija i patofiziologija produkcije i cirkulacije očne vodice

Očnu vodicu producira nepigmentirani cilijarni epitel procesom difuzije, sekrecije i ultrafiltracije. Brzina nastajanja očne vodice je 2,5 mikrolitara u minuti, a isto toliko cirkulira i istječe u zdravom oku. Sekreciju kontrolira Na-K aktivacija ATP-aze u membrani nepigmentiranih stanica epitela

procesusa ciliarisa. Očna vodica sadrži enzime, lipide, elektrolite i anorganske tvari, uključujući ugljikohidrate, ureju, aminokiseline te vrlo male količine proteina i imunoglobulina. Očna vodica ulazi u stražnju očnu sobicu, prolazi uz pupilu i izlazi iz oka kroz iridokornealni ugao između *ligamentum pectinatum* i kroz splet trabekularnih krvnih žila. Očna vodica koja izlazi iz oka prolazi kroz trabekularnu mrežu, potom kroz korneo – skleralnu mrežu te konačno ulazi u skleralne vene i ulazi u sistemski venski krvotok (Gum i sur., 1999.)

Korneoskleralna trabekularna mreža je odvojena od trabekularnih vena vaskularnim endotelnim stanicama. Točan mehanizam prelaska očne vodice preko stanica endotela krvnih žila i dalje



Slika 1. Produkcija i cirkulacija očne vodice u oku

Dr. sc. Darko CAPAK*, dr. med. vet., redoviti profesor (dopisni autor, e-mail: dcapak@vef.hr), dr. sc. Boris PIRKIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Hrvoje CAPAK, dr. med. vet., viši asistent, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Marijana ŠEŠO, dr. med. vet., Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju, Zagreb, Hrvatska

je kontraverzan. Jedna od teorija je da prelazi pinocitozom u vakuolama (Hart, 1992., Capak i sur., 2008.).

Ovim putem izlazi 85% očne vodice. Drugi izlaz iz oka je uveoskleralnim putem. Tada očna vodica prolazi kroz iris, *corpus ciliare* i koroid u uvealne vene. Na taj način iz oka izlazi 15% očne vodice (Slika 1.) (Gelatt i sur., 1979., Cruise i McClure, 1981.).

Glaukom je klinički sindrom kojeg karakterizira povišeni očni tlak, oštećenje nervusa opticus i sljepoća. Javlja se progresivni gubitak vida i funkcije retine. Glaukom je česta bolest u pasa, koja, unatoč brojnim novijim spoznajama dovodi do gubitka vida.

Teoretski glaukom može nastati zbog:

1. povećane produkcije očne vodice
2. smanjenog otjecanja očne vodice.

Dokazano je da većina glaukoma nastaje zbog smanjenog otjecanja očne vodice (Pfeiffer i Gellat, 1980.). Fiziološki očni tlak u pasa je 15-25 mm Hg, a glaukomom se smatra tlak veći od 30 mm Hg. Intraokularni se tlak mjeri tonometrom. U veterinarskoj medicini se koriste dva tipa tonometra: Schiotzov i Aplanacijski tonometar (Tonopen XL, Ophthalmic Division, Santa Clara, CA, SAD). Jedan od ovih instrumenata je nužno potreban u svakoj ambulanti opće prakse (Dziezyk i sur., 1992., Miller i Murphy, 1995.).

Schiotzov tonometar je manje precizan u odnosu na aplanacijski, ali je dostupniji, pouzdan i adekvatan za primjenu u maloj praksi. Ovaj tonometar potiskuje očnu vodicu, zbog čega ponovljeno mjerenje pokazuje niži očni tlak nego što doista jest. Povećanje očne jabučice najbolje se uočava u mladih životinja, jer je sklera elastičnija nego u starijih.

Povećani očni tlak u pasa oštećuje ganglijske stanice i živčana vlakna te posljedično izaziva degeneraciju retine. Degeneracijom aksona ganglijskih stanica oštećuje se područje optičkog diska očnog živca i ono postaje udubljeno. Aplanacijski tonometar kod mjerenja uzima u obzir i

onu silu kojom je prislonjen na korneu te tlak izražava u mm Hg. Ovakav tonometar precizniji je, ali i skuplji. Povišeni očni tlak stvara pritisak na sve očne strukture, a globus se širi. Dugotrajni glaukom izaziva smanjenje mogućnosti kontrakcije sfinktera irisa što rezultira dilatacijom pupile (zelena mrena). Povišeni intraokularni tlak interferira s funkcijom kornealnog endotela te nastaje difuzni edem rožnice. Dugotrajno povišeni očni tlak uzrokuje kidanje *fibræ zonulares*, leću više nema što držati u poziciji pa nastaje luksacija i buftalmus. Ruptura Descementove membrane (kornealne strije) obično se pojavljuje u pasa s kroničnim glaukomom. Trajniji glaukom uzrokuje atrofiju cilijarnog tijela, a sklera se stanji do te mjere da se tlak može vratiti u fiziološke granice kao rezultat smanjene produkcije očne vodice koja se filtrira kroz koroid i skleru (Brooks i Dziezyk, 1983., McLaughlin i sur., 1987., Brooks, 1990.).

Sindrom glaukoma

U literaturi postoje nejasnoće u vezi klasifikacije glaukoma u pasa. Za razumijevanje je potrebno pojasniti klasifikaciju, a veterinare potaknuti da glaukom klasificiraju kao kongenitalni, primarni i sekundarni glaukom.

Kongenitalni glaukom

Kongenitalni glaukom se rijetko pojavljuje u pasa. Već nakon rođenja možemo zapaziti unilatelan ili bilateralni glaukom. Klinički znaci su buftalmus, kornealni edem i stria.

Dijagnoza se potvrđuje kompletnim oftalmološkim pregledom što uključuje i mjerenje očnog tlaka. Kao što je vidljivo na slici 2. štenad se rađa s povećanim okom. Zahvaćeno oko ne pokazuje reakciju na prijetnju niti pupilarni refleks. Schirmerov suzni test je unutar normalnih referentnih vrijednosti. Intraokularni tlak je 40 mm Hg na desnom oku i 20 mm Hg na lijevom. Biomikroskopija, neizravna oftalmoskopija ni gonioskopija



Slika 2. Kongenitalni glaukom desnog oka šteneta starog 4 mjeseca. Intraokularni tlak 40 mm Hg (Grahn i sur., 2004.).

ne ukazuju na nikakve nepravilnosti lijevog oka (Grahn i sur., 2004., Capak i sur., 2008.).

U štenaca se buftalmus razvija vrlo brzo. Inicijalno povećani očni tlak može se vratiti u fiziološke granice nakon smanjenja produkcije očne vodice zbog atrofije ciliarnog epitela i povećanog istjecanja očne vodice kroz koroid i skleru. Često se javljaju i smetnje u vidu zbog buftalmusa, tj. pritiska na retinu prije nego što je ona u potpunosti razvijena. Ovakva očna jabučica ima disgeneziju prednjeg segmenta uključujući mikrofakiju, hipoplaziju irisa i ciliarnog tijela. Ekstenzivni buftalmus je preduvjet za nastanak ulceracije i ogrebotine na rožnici zbog prevelikog ispupčenja. Preporučena terapija je enukleacija ili evisceracija i postavljanje silikonske proteze. Međutim, normotenzivno oko s blagima buftalmusom ne treba terapiirati dok god su palpebralni refleksi i suzni film u redu. Nakon enukleacije ili evisceracije dijagnozu treba patohistološki potvrditi (Gelatt i Rooks, 1999., Matić i Capak, 1999.).

Primarni glaukom

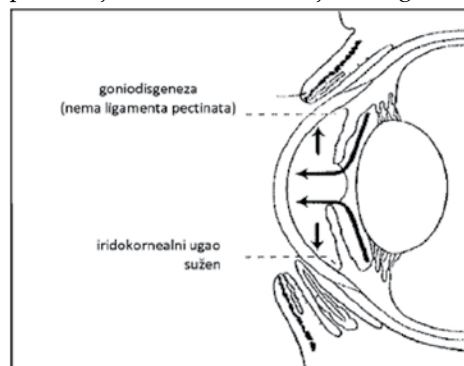
Oko u kojem se razvija glaukom obično ima abnormalni iridokornealni ugao (goniodisgeneza), no ponekad je taj ugao u fiziološkim granicama (primarni

glaukom otvorenog ugla) (Barnett, 1970., Bedford, 1970., Gelatt i Ladds, 1971.). Primarni glaukom obično zahvaća oba oka i nasljedan je. Patogeneza primarnog glaukoma je prilično nejasna. Poznato je da su neke pasmine pasa predisponirane na glaukom: američki koker španijel, basset, bouvier, velški špringer španijel, toy pudl, sibirski haski, aljaški malamut, samojed, shar pei, chow-chow i njemački špic (Martin i Wyman, 1968., Gelatt i Gum, 1981., Ekesten i Narfstrom, 1991., Ekesten i Torrang, 1995. a,b). Primarni glaukom pojavljuje se i u križanim pasmina.

Nalaz goniodisgeneze predstavlja značajnu predispoziciju da bi se kasnije u životu mogao razviti primarni glaukom, međutim ne treba se u praksi oslanjati na ovu činjenicu, jer se i sekundarni glaukom također može razviti na oku s goniodisgenezom.

Akutni primarni glaukom obično se razvija na jednom oku s difuznim edemom kornee, konjunktiva je hiperemična, javljaju se episkleralno krvne žile, midrijaza na pupili, fokalni edem retine, recesija optičkog diska te smanjenje vida ili sljepoća. Klinička manifestacija kroničnog primarnog glaukoma je sljepoća, buftalmus, kornealni edem, vaskularizacija, luksacija leće, konjuktivalna i episkleralna kongestija, degeneracija retine i oštećenje optičkog diska.

Dijagnoza primarnog glaukoma potvrđuje se tonometrijom, gonio-



Slika 3. Cirkulacija očne vodica u psa s goniodisgenezom i primarnim glaukomom

Tabela 1. Klinički znaci akutnog i kroničnog primarnog glaukoma

Klinički znaci akutnog i kroničnog primarnog glaukoma	
Akutni primarni glaukom	
	kornealni edem
	kongestija konjuktivalnih i episkleralnih krvnih žila
	midrijaza (dilatacija pupile)
	oslabljen vid ili sljepoća
Kronični primarni glaukom:	
	buftalmus i luksacije leće
	kongestija konjuktivalnih i episkleralnih krvnih žila i kornealna vaskularizacija
	edem
	stria (ponekad)
	midrijaza
	sljepoća

skopijom i kompletnim pregledom oka (Matičić i Capak, 1999.).

Primarni glaukom je teško liječiti. Veterinari opće prakse trebali bi se konzultirati s oftalmolozima oko ovakvih slučajeva. Izbor terapije treba biti vezan uz kronicitet bolesti i prisutnost ili odsutnost vida. Kada je u zahvaćenom oku vid prisutan, ili je klinička manifestacija kraća od tri dana, veterinar kliničar treba provesti cjelovit hitni medicinski postupak.

Hitna terapija uključuje 1-2 g/kg manitola i/v i inhibitora karboanhidraze p/o (disklorfenamid ili acetazolamid), te lokalno ukapavati antiglaukomske



Slika 4. Osmogodišnja kastrirana ženka američkog koker španijela koja tjedan dana na lijevom oku ima blefarospazam i plavkastu diskoloraciju rožnice. Očni tlak u lijevom oku je 40 mm Hg, a u desnom 20 mm Hg. Primarni glaukom desnog oka (Grahn i sur., 2004.).

lijekove prostaglandina (latanoprost 2x dnevno), beta-adrenergične blokatore (Timolol 3x dnevno) i inhibitor karboanhidraze (Dorzolamid 2x dnevno). Uspješna terapija unutar 6 sati vratit će povišeni očni tlak u fiziološke granice.

Suprotno oko treba doživotno lokalno terapiрати (profilaktički) β-adrenergičnim blokatorom ili inhibitorima karboanhidraze, kako se i na drugom oku ne bi razvio primarni glaukom. Kada se vid vrati ili održi uz navedenu hitnu terapiju, treba nastaviti s lokalnom primjenom lijekova. Ako se vid ne vrati na normalu, a povišeni očni tlak se smanjuje nakon primjene lokalne i sistemske terapije preporuča se enukleacija ili evisceracija. Važno je napomenuti da je lokalna i sistemska terapija korisna u hitnim slučajevima i kratkoročno.

Dugoročno primjenjivana terapija za smanjenje povećanog očnog tlaka je dubiozna.

Lokalna primjena kolinergika (pilocarpin, demecarium bromid ili fosfalni jodid) mora se oprezno primjenjivati, jer može izazvati uveitis. Sistemski pak djeluje toksično (mioza, ciliarni spazam, bradikardia, povraćanje i proljev), tako da je i takva primjena ograničena. Lokalni simpatomimetici (dipiverfin) su također poželjni u terapiji glaukoma. Mogu se koristiti inhibitori karboanhidraze

Tabela 2. Kirurški postupci za oko koje ima oslabljen ili izgubljen vid

Kirurški postupak za oko koje ima oslabljen vid ili je sljepo	
Oko koje ima oslabljen vid	
	transskleralna laserska ciklofotokoagulacija
	transkleralna ciklokrioterapija
	intraokularni šant
Sljepo oko	
	transskleralna ciklofotokoagulacija ili krioterapija
	evisceracija
	intraskleralna proteza
	enukelacija

p/o i diklorfenamid 10-15 mg/kg 2-3x dnevno ili acetazolomid 10-25 mg/kg 2-3 doze dnevno. Ovi lijekovi mogu imati nuspojave: acidozu, hipokalemiju i gastrointestinalne komplikacije (Grahm i Wolfer, 2001.)

Primarni glaukom dugoročno slabo reagira na medikamentoznu terapiju pa oftalmolozi preporučuju kiruršku terapiju. Kirurška terapija za primarni glaukom uključuje procedure u slučajevima kada još postoji vid te "spasonosne" procedure kada je već nastupila sljepoća oka (Tabela 2).

Kirurški se može djelovati na produkciju očne vodice laserskom fotokoagulacijom, krioterapijom kojom se oštećuje epitel cilijarnog tijela i na taj način smanjuje produkciju očne vodice. Intraokularno-ekstraokularni šant u terapijske svrhe povećava izlazak očne vodice.

Kada je dijagnosticiran primarni glaukom, a zahvaćeno oko djelomice je zadržalo vid (utvrđujemo neurooftalmološkim pregledom i testiranjem kretanja među preprekama uz prekriveno zdravo oko) pacijenta treba hitno dovesti oftalmologu na kiruršku terapiju.

Kao kratkoročna terapija za glaukom primjenjuju se raznovrsni kirurški šantovi. To uključuje Silastic implantate koji premještaju očnu vodicu u subkonjuktivalno tkivo, u intravenozne, nazolakrimalne ili parotidne slinske duktuse, u subkutano tkivo ili u frontalni sinus. Ovo je kratkotrajno rješenje, jer se uvijek na završetku šanta stvara fibroza.

U nekim istraživanjima postavljanje šanta iz prednje očne sobice u frontalni sinus unutar 6 mjeseci je smanjilo intraokularni tlak na fiziološke vrijednosti, a primarni glaukom je nestao. Ovakav šant iz prednje očne sobice u frontalni sinus ima dobar rezultat i bez antiglaukomske terapije, a dobar vid se na ovaj način može održavati 12 mjeseci pa i više, ako se radi o primarnom glaukomu. Znatne se komplikacije s vidom javljaju ako se pojave sekundarne komplikacije, primjerice hipotonija, uveitis i katarakta. Ovakav šant omogućava stalno otjecanje očne vodice iz oka (Gelatt i sur., 1987., Bedford, 1989.).

Ciklofotokoagulacija je postupak kojim se zaustavlja proizvodnja očne vodice. Uvijek se preporuča kao terapijska metoda za primarni glaukom. Laserske zrake se usmjere na epitel zrakastog tijela (*corpus ciliare*) koji proizvodi očnu vodicu pa se očni tlak reducira. Komplikacije kao posljedica ciklofotokoagulacije su: katarakta, uveitis, *phthisis bulbi*, ablacija retine, *hyphema* i recidiv glaukoma (Nasisse i sur., 1988.).

Ciklokrioterapija se danas rijetko preporučuje. Slično kao i ciklofotokoagulacija, smanjuje produkciju očne vodice, a time smanjuje i očni tlak. Učinkovitost ove terapije smanjuju komplikacije kao što su uveitis, ptoza i recidiv glaukoma (Brightman i sur., 1982., Vestre i Brightman, 1983., Roberts i sur., 1984.a,b).

Oko na kojem nije prisutan vid može biti podvrgnuto ciklokrioterapiji, ciklofotokoagulaciji, evisceraciji i zamjeni silikonskim protetičkim implantatom ili enukleaciji (Koch, 1981., Gionfriddo, 1995., Whitley i sur., 1995.). Nakon enukleacije i evisceracije, silikonska proteza je metoda izbora u estetske svrhe.

Intravitreoznu primjenu gentamicina kod slijepih pacijenta s buftalmusom i glaukomom preporučili su Moller i suradnici 1986. godine. Pri aplikaciji treba biti oprezan da se ne probije kapsula leće, što može dovesti do fakoklastičnog uveitisa (kronične osljepljujuće upale). Doza od 25-30 mg gentamicina aplicira se u staklovinu. Gentamicin je toksičan za cilijarni epitel i retinu, smanjuje proizvodnju očne vodice, a samim time i očni tlak. Umjesto gentamicina u terapiji kroničnog glaukoma može se koristiti cidofovir. Naglašavamo da su komplikacije česte nakon primjene spomenutih injekcija, a uključuju uveitis i ptozu očne jabučice, stoga se ne preporuča rutinska primjena ove terapije.

Uz kiruršku terapiju glaukoma u pravilu je nužna i medikamentozna lokalna ili sistemska terapija. Kombinirana terapija nažalost otežava tumačenje rezultata terapije. U pasa još nije zabilježen slučaj primarnog glaukoma gdje je vid kroz nekoliko godina očuvan. Još treba učiniti brojna istraživanja u pronalasku učinkovite antiglaukomatozne terapije.

Lokalna primjena timolol maleata ili inhibitora karboanhidraze smanjuju intraokularni tlak na kontralateralnom oku još nezahvaćenom glaukomom te odgađaju njegov nastanak. Profilaktička terapija kontralateralnog oka za koje su dijagnosticirani goniodisgeneza i primarni glaukom, u praksi uvijek kasni nekoliko mjeseci pa čak i godina.

Sekundarni glaukom

Sekundarni glaukom ima istu patofiziološku osnovu kao primarni -

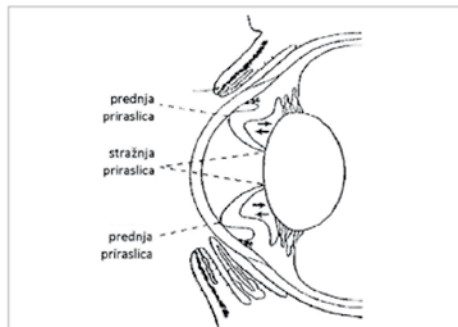
problem u otjecanju očne vodice. Prisutni su svi simptomi povišenog očnog tlaka (pupilarni blok kojeg prouzroči potpuna posteriorna sinehija, periferna anteriorna sinehija, posteriorna sinehija, prednja sinehija/priraslica, stražnja sinehija, intumescencija katarakta, luksacija leće i uveitis) (Peterson-Jones, 1991., Smith i sur., 1996.).

Opisano stanje dovodi do pomicanja irisa prema naprijed te tako zatvori filtracijski ugao, ili prouzroči poremećaj protjecanja očne vodice kroz pupilu i prednju očnu komoricu, ili blokira izlazak tekućine kroz trabekularnu mrežu.

Nakon uveitisa prouzročenog sekundarnim glaukomom nema prednjih ni stražnjih sinehija, a patogeneza ovog procesa je nedovoljno razjašnjena. Luksacija leće je nasljedno svojstvo primarno u terijerskih pasmina, a sekundarni glaukom je komplikacija, tj. posljedica luksacije leće.

Uklještenje vitreusa između pupile i filtracijskog ugla, i upale mogu biti direktno uključeni u patogenezu povišenog očnog tlaka. Važno je razlikovati primarnu luksaciju leće kao uzrok sekundarnog glaukoma, od kroničnog, kongenitalnog ili sekundarnog glaukoma prouzročenog buftalmusom koji prouzroči zonularno kidanje (oštećenje zonularnih vlakana), s posljedičnom sekundarnom luksacijom leće.

Potvrda dijagnoze sekundarnog glaukoma zahtijeva oftalmološki pregled,



Slika 5. Cirkulacija očne vodice u očima s perifernom prednjom sinehijom i stražnjom sinehijom

Tabela 3. Etiologija sekundarnog glaukoma u pasa

Sekundarni glaukom	Patogeneza
Primarna luksacija leće	Vitreus se uklješti između pupile i filtracijskog ugla
Uveitis	Stanična opstrukcija trabekularne mreže, anteriorne i posteriorne sinehije, iris bombe, preiridalne fibrovaskularne membrane
Neoplazija	Preiridalna fibrovaskularna membrana začepљуju trabekularnu mrežu, novotvorevine pritišću cilijarni procjep
Intumescencijska katarakta	Periferna prednja sinehija i cilijarni procjep kolabiraju



Slika 6. Sekundarni glaukom. Prije nekoliko tjedana liječena perforacija lijeve rožnice. Očni tlak je 60 mm Hg (Grahm i sur., 2004.).

gonioskopiju, tonometriju i otkrivanje uzroka povišenog očnog tlaka (Tabela 3).

Klinička manifestacija sekundarnog glaukoma vrlo je slična primarnom glaukomu i ako je filtracijski ugao normalan, uveitis, sinehije, primarna luksacija leće ili intraokularne neoplazije mogu se potvrditi kompletnim pregledom oka (Gelatt i Gum, 1981., Peterson-Jones, 1991.). Pupila je obično u diskoriji i u konstrikciji.

Sekundarni glaukom se počinje terapiirati nakon otkrivanja njegovog uzroka. Lokalna primjena kortikosteroida se kombinira s lokalnim lijekovima za glaukom (β -adrenergični blokatori, inhibitori karboanhidraze). Na oku s kroničnim sekundarnim glaukomom, sljepoćom i bez ispravka povišeni očni tlak koji se ne spušta na fiziološke vrijednosti treba učiniti enukleaciju

ili evisceraciju i ugraditi protezu. Nakon enukleacije bulbusa pregledom svjetlosnim mikroskopom treba potvrditi etiologiju sekundarnog glaukoma.

Na oku sa sekundarnim glaukomom uvijek postoji očuvan vid (što nije slučaj s primarnim glaukomom), a terapija takvog oka može produžiti vrijeme u kojem će vid biti očuvan.

Ako veterinar opće prakse dijagnosticira glaukom kod psa, a ne može utvrditi uzrok, takvog pacijenta treba poslati specijalistu oftalmologu koji će odrediti adekvatnu terapiju, naročito u slučajevima kada je pas sljep ili slabo reagira na svjetlosne podražaje te zbog glaukoma trpi bolove.

Sažetak

Glaukom je klinički sindrom kojeg karakterizira povišeni očni tlak, oštećenje n. opticus i sljepoća. Glaukom je česta bolest u pasa, koja unatoč brojnim istraživanjima dovodi do gubitka vida u tih pacijenata. Dokazano je da glaukom uglavnom nastaje zbog smanjenog otecanja očne vodice. Povećani očni tlak u psa oštećuje ganglijske stanice i živčana vlakna te posljedično izaziva degeneraciju retine. Degeneracijom aksona ganglijskih stanica područje optičkog diska oćnog živca se oštećuje i postaje udubljeno. Dugotrajni glaukom izaziva smanjenje mogućnosti kontrakcije sfinktera irisa što rezultira dilatacijom pupile (zelena mrena). Duže vrijeme povišeni očni tlak uzrokuje kidanje *lens zonulae*, leću više nema što držati u poziciji pa nastaje luksacija i bulphthalmija. U pasa s kroničnim glaukomom obično se javlja i ruptura Descementove membrane

(kornealne strije). Dugotrajni glaukom isto tako prouzroči atrofiju cilijarnog tijela, a sklera se stanji do te mjere da se tlak može vratiti u fiziološke granice kao rezultat smanjene produkcije očne vodice koja se filtrira kroz koroid i skleru. Glaukom je klasificiran kao: kongenitalni, primarni ili sekundarni. Kongenitalni glaukom je neuobičajen oblik koji se manifestira pri rođenju, a povezan je s buftalmusom, disgenezom prednjeg segmenta i mikrofakijom. Primarni glaukom predstavlja idiopatsko povećanje očnog tlaka u čistokrvnih pasa, kada se u oku ne može utvrditi bolest. Sekundarnom glaukomu uzrok je povišeni očni tlak koji se razvija kao posljedica nepravilnosti oka kao što su uveitis i iris bombé. Ako veterinar opće prakse dijagnosticira glaukom kod psa, a ne može utvrditi uzrok, takvog pacijenta treba poslati specijalistu oftalmologu koji će odrediti adekvatnu terapiju, naročito u slučajevima kada je pas slijep ili slabo reagira na svjetlosne podražaje te trpi bolove zbog glaukoma.

Ključne riječi: *primarni glaukom, sekundarni glaukom, pas*

Literatura

- BARNETT, K. C. (1970): Glaucoma in the dog. *J. Small Anim. Pract.* 11, 113-128.
- BEDFORD, P. G. C. (1989): A clinical evaluation of a one piece drainage system in the treatment of canine glaucoma. *J. Small Anim. Pract.* 30, 68-75.
- BEDFORD, P. G. C. (1970): The etiology for primary glaucoma in the dog. *J. Small Anim. Pract.* 26, 217-239.
- BRIGHTMAN, A. H., W. A. VESTRE, L. C. HELPER and J. E. TOMES (1982): Cryosurgery for the treatment of canine glaucoma. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 18, 310-322.
- BROOKS, D. E. (1990): Glaucoma in the dog and cat. *Vet. Clin. North Am. Small. Anim. Pract.* 20, 775-797.
- BROOKS, D. E. and J. DZIEZYC (1983): The canine glaucomas: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.* 5, 292-301.
- CAPAK, D., J. BIGGI, R. BALI, B. PIRKIĆ i H. BOROŠAK (2008): Usporedba metoda liječenja prolapsusa žlijezda treće očne vjeđe u pasa. *Vet. str.* 39, 79-90.
- CRUISE, L. J. and R. McCLURE (1981): Posterior pathway for aqueous humor drainage in the dog. *Am. J. Vet. Res.* 42, 992-995.
- DZIEZYC, J., N. J. MILLICHAMP and W. B. SMITH (1992): Comparison of applanation tonometers in dogs and horses. *Am. J. Vet. Med. Assoc.* 201, 430-434.
- EKESTEN, B. and K. NARFSTROM (1991): Correlation of morphologic feature of the iridocorneal angle to intraocular pressure in Samoyeds. *Am. J. Vet. Res.* 52, 1875-1878.
- EKESTEN, B. and I. TORRANG (1995a): Heritability of the depth of the opening of the ciliary cleft in Samoyeds. *Am. J. Vet. Res.* 56, 1138-1143.
- EKESTEN, B. and I. TORRANG (1995b): Age related changes in ocular distances in normal eyes of Samoyeds. *Am. J. Vet. Res.* 56, 127-133.
- GELATT, K. N. and G. G. GUM (1981): Inheritance of primary glaucoma in the Beagle. *Am. J. Vet. Res.* 42, 1691-1693.
- GELATT, K. N. and P. W. LADDS (1971): Gonioscopy in dogs and cats with glaucoma and ocular tumors. *J. Small Anim. Pract.* 12, 105-117.
- GELATT, K. N., G. G. GUM, D. A. SAMUELSON, R. M. MANDELKORN, K. W. OLANDER and T. J. ZIMMERMAN (1987): Evaluation of the Krupin-Denver value implant in normal tissue and glaucomatous Beagles. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 191, 1404-1409.
- GELATT, K. N., G. G. GUM, L. W. WILLIAMS and K. P. BARRIES (1979): Uveoscleral flow of aqueous humor in the normal dog. *Am. J. Vet. Res.* 40, 845-847.
- GELATT, K. N. and D. E. ROOKS (1999): The canine glaucomas. In: GELATT, K. N.: *Veterinary ophthalmology*. 3rd ed., New York, Lippincott Williams & Wilkins (701-754).
- GIONFRIDDO, J. R. (1995): Recognizing and managing acute and chronic cases of glaucoma. *Vet. Med.* 90, 265-275.
- GRAHN, B. H. and J. WOLFER (2001): Ocular therapeutics. In: PEIFFER, R. L. and S. M. PETERSON-JONES: *Small animal ophthalmology*. 3rd ed., London, WB Saunders (237-283).
- GRAHN, B. H., C. L. CULLEN and R. L. PEIFFER (2004): *Veterinary Ophthalmology Essentials*. Philadelphia: Butterworth Heinemann.
- GUM, G. G., K. N. GELATT and R. OFRI (1999): Physiology of the eye. In: GELATT, K. N.: *Veterinary ophthalmology*. 3rd ed., New York, Lippincott Williams & Wilkins (151-182).
- HART, W. M. (1992): Intraocular pressure. In: HART, W. M.: *Adler's physiology of the eye*. Ed. 9, Toronto, Mosby.
- KOCH, S. A. (1981): Intraocular prosthesis in the dog and cat: the failures. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 179, 883-885.
- MARTIN, C. L. and M. WYMAN (1968): Glaucoma in the Basset Hound. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 153, 1320-1328.
- MATIČIĆ, Ž. i D. CAPAK (1999): Oftalmologija domaćih životinja. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb.
- McLAUGHIN, S. A., J. A. RENDER, A. H. BRIGHTMAN, H. E. WHITELEY, L. C. HELPER and J. A. SHADDUCK (1987): Intraocular findings in three dogs and one cat with chronic glaucoma. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 191, 1443-1445.
- MILLER, P. E. and C. J. MURPHY (1995): Intraocular pressure measurement through two types of plano therapeutic soft contact lenses in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 56, 1418-1420.
- MOLLER, J., C. S. COOK, R. L. PEIFFER, M. P. NASISSE and D. E. HARLING (1986): Implications

- for and complications of pharmacological ablation of the ciliary body for the treatment of chronic glaucoma in the dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 22, 319-326.
29. PETERSON-JONES, S. M. (1991): Abnormal ocular pigment deposition associated with glaucoma in the Cairn Terrier. *J. Small Anim. Pract.* 32, 19-22.
 30. PFEIFFER, R. L. and G. N. GELATT (1980): Aqueous humor outflow in beagles with inherited glaucoma: gross and light microscopic observation of the iridocorneal angle. *Am. J. Vet. Res.* 91, 861-867.
 31. ROBERTS, S. M., G. A. SEVERIN and J. D. LAVACH (1984a): Cyclocryotherapy: Part I. Evaluation of a liquid nitrogen system. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 20, 823-827.
 32. ROBERTS, S. M., G. A. SEVERIN and J. D. LAVACH (1984b): Cyclocryotherapy: Part II. Clinical comparison of a liquid nitrogen and nitrous oxide cryotherapy on glaucomatous eyes. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 20, 828-833.
 33. SMITH, P. J., D. E. BROOKS, J. A. LAZARUS, P. S. KUBILIS and K. N. GELATT (1996): Ocular hypertension following cataract surgery in dogs: 139 cases (1992-1993). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 209, 105-111.
 34. VESTRE, W. A. and A. H. BRIGHTMAN (1983): Effects of cyclocryosurgery on the clinically normal canine eye. *Am. J. Vet. Res.* 44, 187-194.
 35. WHITLEY, R. D., K. W. SHAFFER and R. A. ALBERT (1995): Implantation of intraocular silicone prosthesis in dogs. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.* 7, 802-811.

Glaucoma

Darko CAPAK, DVM, PhD, Full Professor, Boris PIRKIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Hrvoje CAPAK, DVM, PhD, Senior Assistant, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Marijana ŠEŠO, DVM, Paying Agency for Agriculture, Fisheries and Rural Development, Zagreb, Croatia

Glaucoma is a related group of clinical syndromes characterized by elevated intraocular pressure (IOP), optic nerve damage, and blindness. Glaucoma is a common disease in dogs, and a leading cause of blindness in these animals. It is well documented that glaucoma results from the mechanism of decreased aqueous humour outflow. It leads to progressive vision loss due to deterioration of the retina. Elevated IOP exerts tension on all ocular structures. In response to the elevated pressure, the globe expands, ganglion cells degenerate, nerve fibre layer is damaged, and the optic nerve becomes cupped. With sustained glaucoma, the iris sphincter muscle fails to contract, and pupillary dilatation commonly results. With prolonged elevations in IOP, the lens zonules break, the lens luxates as buphtalmos develops, and corneal striae (Descemet's membrane fractures) may occur. With prolonged and sustained glaucoma, the ciliary body atrophies, and the sclera may thin to the point

that IOP returns to a normal range as a result of decreased aqueous humour production. Glaucoma syndromes are classified as congenital glaucoma, primary glaucoma, and secondary glaucoma. Congenital glaucoma is an uncommon form of glaucoma that manifests at birth and is associated with buphtalmos, anterior segment dysgenesis, and microphakia. Primary glaucoma is an idiopathic elevation of intraocular pressure that is commonly seen in purebred dogs when no identifiable intraocular disease is present. Secondary glaucoma is an elevated intraocular pressure that develops secondary to a confirmed intraocular abnormality such as uveitis and iris bombé. Glaucoma is a challenging syndrome for veterinarians who are encouraged to consult with a veterinary ophthalmologist to determine appropriate therapy for this common blinding, poorly responsive, and painful condition.

Key words: *Primary glaucoma, Secondary glaucoma, Dog*

Enrotron 100 mg/ml

Otopina za injekciju za
goveđa 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 goveđa i svinje.

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

Indikacije:

Goveđa - Bolesti dišnog i probavnog sustava uzrokovane bakterijama i mikoplazmama (npr. pastereloza, mikoplazmoza, kolibaciloza, koliseptikemija i salmoneloze) i sekundarne bakterijske infekcije koje uslijede nakon virusnih infekcija (npr. virusna upala pluća), gdje kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma uzročnika, upućuje da je enrofloksacin lijek izbora. Liječenje lokalnih znakova (upala, kvaliteta i količina mlijeka) pridruženih perakutnom/ akutnom mastitisu mliječnih 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. pastereloza, mikoplazmoza, kolibaciloza, koliseptikemija i salmoneloze) i multifaktorske bolesti kao što su atrofični rinitis i enzootska pneumonija, gdje kliničko iskustvo, po mogućnosti potkrijepljeno nalazom antibiograma uzročnika, upućuje da je enrofloksacin lijek izbora.

Doze: Pročitati uputu o VMP prije primjene.

Primjena tijekom graviditeta, laktacije ili nosenja: 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

Goveđa, s/c: meso i iznutrice
12 dana
mlijeko - 4 dana
Goveđa, 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**

Paraneoplastični sindrom u pasa – (II. dio)



Sonja Kozma, Martina Crnogaj* i Nada Kučer

Endokrinološki paraneoplastični sindromi

Hiperkalcemija

Hiperkalcemija se u sklopu paraneoplastičnog sindroma uočava s takvom učestalošću (čak u dvije trećine pasa s dijagnosticiranim neoplazijama) da, gledano diferencijalno-dijagnostički, kod kliničkog nalaza hiperkalcemije, treba prvo isključiti neoplastične bolesti. Prisutna je kod limfoma, karcinoma analnih žlijezda, multiplog mijeloma, timoma, osteosarkoma, karcinoma mliječne žlijezde, karcinoma paraštitne žlijezde, ali i kod mnogih drugih vrsta tumora i njihovih metastaza. Incidencija njene pojave u veterinarsko-onkoloških pacijenata nije u potpunosti istražena (Reif, 2013.). Smatra se da je najčešća u pasa s limfomom (10%-35%), zatim kod adenokarcinoma paraanalnih žlijezda (više od 25%), dok kod mijeloma iznosi 10%. Ostali uzroci hiperkalcemije (Tabela 1), koje je potrebno isključiti su: kronično zatajenje bubrega, otrovanje vitaminom D, hipoadrenokorticism i granulomatozne bolesti (Bergman, 2013.).

Paratireoidne žlijezde preko paratireoidnog hormona (PTH), reguliraju nivo serumskog kalcija i metabolizam u kostima. Povratno, koncentracija kalcija u serumu regulira sekreciju PTH. Tako, visoka koncentracija kalcija u serumu suprimira sekreciju

PTH, dok je niska stimulira. Promjene u koncentraciji kalcija se registriraju u nekoliko sekundi preko kalcij-osjetljivog receptora na stanicama žlijezde. Efekti PTH na metabolizam kalcija djeluju preko specifičnih receptora za paratireoidni hormon (tip 1 receptora) (Kubota i sur., 2002.). Ciljni organi za PTH su: kosti, bubrezi i crijeva. Homolog paratireoidnog hormona je oslobađajući peptid za paratireoidni hormon PTHrP (engl. *parathormone related peptid*) koji se sintetizira u hrskavici i mnogim drugim tkivima, ali njegova sekrecija nije regulirana koncentracijom kalcija. Ovaj peptid se veže i za tip 1 receptore i ostvaruje iste efekte kao i sam PTH (Bergman, 2013.).

Proizvodnja PTHrP odvija se i u normalnim tkivima te ima fiziološku funkciju u metaboličkim procesima. Izlučuje se u malim količinama. Protein se brzo raspada, prelazi u neaktivan oblik u krvi i izlučuje se putem bubrega. Psi sa zatajenjem bubrega mogu imati povišene razine neaktivnog PTHrP. Međutim, mjerljive količine aktivnog PTHrP u serumu mogu se naći samo u pasa sa zloćudnim tumorima. Ipak, cirkulatorni PTHrP ne prouzroči uvijek malignu hiperkalcemiju. Njen razvoj će ovisiti o tipu tumora kao i o količini proizvedenog PTHrP. PTHrP nam može poslužiti kao marker za rane faze malignosti u veterinarskoj medicini (Anderson i sur., 1999.)

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

Tabela 1. Ostali uzroci hiperkalcemije

Hiperparatireoidizam
Renalna insuficijencija
Hipoadrenokorticism (Addisonova bolest)
Laboratorijska pogreška
Hiperalbuminemija
Hipevitaminoza D
Osteoliza

Kod adenokarcinoma analnih žlijezda u pasa postoji linearna korelacija između serumskog kalcija i koncentracije PTHrP. Stoga, PTHrP ima središnje mjesto u etiologiji maligne hiperkalcemije kod ove bolesti. Slična korelacija nije dokazana kod pasa s limfomom, što bi značilo da proizvodnja PTHrP nije jedini mehanizam u nastanku maligne hiperkalcemije kod ove neoplazije. Kod pasa s limfomom u kranijalnom medijastinumu, postoji veća vjerojatnost da će se razviti maligna hiperkalcemija, nego kod pasa s drugim anatomskim i imunofenotipskim oblicima bolesti (Henry, 2010.).

Mehanizmi razvoja paraneoplastične hiperkalcemije u pasa su složeni. Postoje dva glavna mehanizma. Prvi je, humoralna hiperkalcemija. Tumorsko tkivo udaljeno od kosti producira jedan ili više faktora koji stimuliraju osteoklastnu resorpciju. PTHrP je najznačajniji od njih, jer je najdosljednija značajka humoralne hiperkalcemije. Imunološki je dokazana prisutnost ekstracelularnih kalcij-senzornih receptora koji reguliraju sekreciju PTHrP kako na zdravim, tako i na maligno alteriranim stanicama. Vezujući se za PTH receptore u kostima i bubrezima, PTHrP prouzroči pojačanu resorpciju kosti i njeno smanjeno formiranje. To se događa na način da ovaj peptid aktivira osteoklaste i stimulira osteoklastnu resorpciju te oslobađanje kalcija u krvotok. Daljnji patofiziološki slijed obuhvaća povećanu apsorpciju kalcija u crijevima te njegovu povećanu renalnu tubularnu reapsorpciju, pojačanu

fosfaturiju i povišenje urinarnog nivoa cikličkog adenozin-monofosfata (cAMP). PTH i PTHrP isto tako mogu povećati proizvodnju receptorskog aktivatora NF- κ B (RANK) ligand i smanjiti proizvodnju osteoprotegrina (OPG) što će dovesti do povećanja broja i aktivnosti osteoklasta, a posljedično i do povećane koštane resorpcije. Različiti faktori rasta, citokini i hormoni su uključeni u RANKL/OPG sustav. Među njima su interleukin β -1 (IL-1 β), faktor nekroze tumora (TNF- α) i transformirajući faktor rasta β (TGF- β). Drugi mehanizam je lokalna osteolitička hiperkalcemija. Tumorske stanice invadiraju kost i koštanu srž te lokalno proizvode aktivirajuće faktore za resorpciju kosti. Najčešće se javlja kod limfoma i multiplog mijeloma (Foley i sur., 2000.).

Serumski kalcij (Ca) je prisutan u tri frakcije. Jedan je dio vezan za proteine (40%), drugi je u ioniziranom obliku (50%), treći je kompleksiran anion (10%) kao što su: fosfati, citrati, laktati, sulfati ili bikarbonati. Jedino je kalcij u ioniziranom obliku biološki aktivan i izravno utječe na paratireoidni hormon (PTH) i vitamin D. Ionizirani kalcij (iCa) sudjeluje u mnogim vitalnim enzimatskim reakcijama te regulira intrastanične i ekstrastanične signalne puteve. Stoga je glavni regulator mnogih staničnih funkcija. Ionizirani kalcij je biološki aktivan u stvaranju kostiju, živčanoj i mišićnoj aktivnosti, staničnim biokemijskim procesima i koagulaciji krvi. Zbog svoje važnosti njegova koncentracija je strogo

Tabela 2. Terapija hiperkalcemije

Cilj	Potrebno je poduzeti:
Povećati cirkulatorni volumen	Intravenozna terapija s 0,9% NaCl
Smanjiti koncentraciju Ca u plazmi	Diureza: 0,9% NaCl Fursemid Glukokortikoidi nakon postavljene dg. (npr. prednizolon)
Identificirati i liječiti uzrok	Specifična kemoterapija, operacija ili zračenje

regulirana u krvi (Kubota i sur., 2002.). Čimbenici koji utječu na koncentraciju kalcija u plazmi su kompleksni i uključuju interakciju s drugim kemijskim tvarima, bjelancevinama i hormonima. Metabolizmi kalcija, fosfora i albumina su međusobno ovisni. Kod pasa kalcij treba biti prilagođen koncentraciji albumina (Bergman, 2013.).

Maligna hiperkalcemija ima direktan učinak na bubrege. Zbog smanjene osjetljivosti distalnih tubula na antidiuretski hormon (ADH) dolazi do poliurije i polidipsije. Smanjen je bubrežni protok krvi i glomerularna filtracija, a time se smanjuje i bubrežna funkcija. Odlaganje kalcija u bubrežnom parenhimu dovodi do mineralizacije bazalne membrane te dolazi do daljnjeg oštećenja bubrega.

Od kliničkih simptoma zabilježeni su: inapetencija ili anoreksija, gubitak težine, poliurija, polidipsija, slabost, povraćanje, bradikardija te neurološki poremećaji (Morris, 2008.).

Kako bi se uspostavila dijagnoza potrebno je izmjeriti ioniziranu koncentraciju kalcija u serumu, jer je on biološki aktivna frakcija. Ukoliko je on u serumu povećan, potrebno je izmjeriti koncentracije fosfora, PTH i PTHrP. Kod pasa s malignom hiperkalcemijom, povišena je koncentracija ioniziranog kalcija, smanjena je ili normalna vrijednost fosfora (4 mg/dL ili niža), dok je koncentracija PTH smanjena. Ostali dijagnostički postupci uključuju temeljiti klinički pregled s rektalnom pretragom, kompletnu krvnu sliku, biokemijski profil seruma i urina te snimke prsne i trbušne šupljine (Henry, 2010.).

Pristup liječenju u velikoj mjeri ovisi o težini kliničkih znakova i veličini hiperkalcemija. Terapija maligne hiperkalcemije (Tabela 2) treba biti usmjerena na ponovno uspostavljanje normalne koncentracije kalcija i liječenje osnovnog tumora. Vrijednost kalcija > 18 mg/dL smatra se hitnim stanjem. Ako su klinički simptomi blagi, terapija s 0,9% NaCl i/v dovoljno će sniziti kalcij dok se ne sanira primarni problem (NaCl povećava glomerularnu filtraciju, povećava izlučivanje kalcija mokraćom te smanjuje reapsorpciju kalcija u bubrežima). Kada su klinički simptomi umjereni potrebno je postići diurezu (proizvodnja urina > 2 mL/kg/sat). Nakon postignute rehidracije može se koristiti diuretik (npr. furosemid) kako bi se spriječila reapsorpcija kalcija putem bubrega. Ostale farmakološke mogućnosti terapije mogu uključivati glukokortikoide (npr. prednizon) koji će smanjiti serumski kalcij (on bi trebao biti rezerviran za pse kod koji je utvrđena dijagnoza maligne bolesti), a u slučaju teških kliničkih simptoma mogu se koristiti i sljedeći lijekovi: kalcitonin, pamidronat i zoledronat (Chun, 2010.). Hitno liječenje hiperkalcemije je potrebno kako ne bi došlo do trajnog oštećenja bubrega, oštećenja drugih tkiva te neuroloških učinaka (Finora, 2003.).

Hipoglikemija

Hipoglikemija je definirana koncentracijom glukoze u krvi manjom od 3,33 mmol/L. U pasa je najčešće povezana s inzulinomom. Međutim, paraneoplastična se hipoglikemija

može javiti i kod ekstrapankreatičnih tumora kao što su: karcinomi i hepatomi jetre, limfomi i plazmocitomi, crijevni tumori glatkog mišićja, lejomiosarkomi, melanomi i hemangiosarkomi (Grabarević, 2002.). Uzroci hipoglikemije koji nisu neoplastične etiologije su hipoadrenokorticism, jetrena disfunkcija, pasminske predispozicije (hipoglikemija lovačkih pasa ili minijaturnih pasmina), sepsa ili umjetna hipoglikemija zbog produljenog skladištenja uzoraka krvi prije obrade (Henry, 2010.).

Hipoglikemija se može razviti u brojnih tumora, pretežito u terminalnoj fazi bolesti. Inzulinomi (tumori beta stanica otočića gušterače) izlučuju znatne količine inzulina, kontinuirano, bez obzira na količinu glukoze u krvi. Stoga je nalaz hipoglikemije i istodobne hiperinzulinemije patognomoničan za ove tumore. Maligna hipoglikemija može biti izazvana izlučivanjem inzulina ili inzulinu sličnih tvari, bilo pojačanom potrošnjom glukoze u velikim količinama kod brzodijelećih tumora, bilo onemogućavanjem jetrene glukoneogeneze i glikogenolize (Grabarević, 2002.).

Mehanizmi nastajanja maligne hipoglikemije su nejasni, iako postoji nekoliko mogućih opcija koje treba uzeti u obzir:

1. Inzulinom može izlučiti inzulin, u kratkim naletima, što prouzroči široke fluktuacije u razinama inzulina u plazmi.
2. Postoji mogućnost izlučivanja abnormalnog inzulina od strane tumora koji se lako razgrađuje.
3. Inzulinom može osloboditi prekomjerne količine proinzulina, koji pokazuje manju biološku potentnost od odgovarajućih molekula inzulina.
4. Cirkulirajući inzulinu sličan faktor rasta IGF-I i IGF-II (engl. *insulin-like growth factor IGF-I, IGF-II*) može doprinijeti hipoglikemiji na način

da pojačavaju potrošnju glukoze u tkivima domaćina, najčešće, u mezenhimalnim tumorima.

Učestalost malignih tumora beta stanica otočića gušterače je visoka. Klinički, gotovo svi inzulinomi (> 95%) su maligni. Patološki, karcinomi čine gotovo 60% tumora gušterače beta stanica (Madarame i sur., 2009.).

Rani klinički znaci su neprimjetni i uključuju promjene u ponašanju, polifagiju, poliuriju i polidipsiju. Kasnije su očigledni znaci mišićne fascikulacije, letargije, slabosti, napadaja te kolapsa (Chun, 2010.).

Dijagnozu je lako uspostaviti. Psi mogu imati izrazitu hipoglikemiju < 1,67 mmol/L. Dijagnoza inzulinoma se najčešće postiže putem identifikacije niske razine glukoze u krvi (< 3,33 mmol/L) u isto vrijeme kada je razina inzulina u krvi neprimjereno povišena (> 10 µU/mL).

Terapija izbora za hipoglikemiju prouzročenu inzulinomom je kirurško otklanjanje tumora. Nekad je potrebna intervencija prije same operacije. Ukoliko pas ima znakove neuroglikopenije, liječenje je potrebno započeti s bolusom od 2-10 mL 25% glukoze, lagano kroz 10 minuta i/v. Parenteralna primjena glukoze može rezultirati naglim oslobađanjem inzulina te pogoršanjem kliničkih znakova. Životinje je potrebno hraniti s više malih obroka (hrana bogata mastima, proteinima i složenim ugljikohidratima). Nakon kirurškog odstranjivanja tumora, hipoglikemiju reguliramo prehrambenim putem ili pomoću lijekova (prednizon, diazoksid, glukagon) (Henry, 2010.).

Hiperestrogenizam

Tumori sjemenika predstavljaju najčešće tumore spolnog sustava pasa. Oni čine više od 90% svih tumora reproduktivnog sustava. Tumori sjemenika najčešće se javljaju u starijih pasa, a osobito je sa starošću povezana pojavnost tumora Sertolijevih stanica.

Ovaj tip tumora je najčešći uzrok hiperestrogenizma. Tumori su puno češće lokalizirani u desnom sjemeniku. Kriptorhidni pas ima oko 13,6 puta veći rizik da bi obolio od seminoma ili tumora Sertolijevih stanica sjemenika od nekriptorhidnog. Dob u kojoj se razvijaju tumori sjemenika u kriptorhidnih životinja je niža nego u životinja koje nisu kriptorhidne (Hayes i Pendergras, 1976.).

Klinički znaci uključuju simetrične alopecije bez svrbeža, hiperpigmentaciju, alopekomastiju, asimetrično povećanje prostate, preputium pendulans te znake feminizacije.

Značajan učinak hiperestrogenizma je supresija koštane srži koja pokazuje hipocelularnost te rezultira pancitopenijom. Javljaju se pospanost, krvarenja zbog sekundarne trombocitopenije, petehije, povraćanje, anoreksija, groznica i blijede sluznice (Henry, 2010.).

Dijagnoza se temelji na anamnestičkim podacima, kliničkim simptomima, ultrazvučnom pregledu i kliničko-patološkim nalazima (Chun, 2010.).

Terapija izbora je kirurško otklanjanje tumora. Psima sa suprimiranom koštanom srži daju se antibiotici širokog spektra i transfuzija pune krvi. Ne postoji učinkovito rješenje za povećanje broja trombocita. Prognoza za oporavak koštane srži je obično loša. Ukoliko se i oporavi, mogu proći tjedni/ mjeseci dok se krvna slika ne normalizira (Chun, 2010.).

Sindrom ektopičnog stvaranja adrenokortikotropnog hormona

Zabilježen je u ljudi s različitim malignim bolestima. Ektopično stvaranje adrenokortikotropnog hormona (ACTH) ili tvari nalik njemu kod životinja jako je rijetko. Zabilježena je u jednog psa s neuroendokrinim tumorom u trbuhu, jednog s karcinoidom jetre i kod više njih s primarnim tumorom pluća (Henry, 2010.).

Sindrom neodgovarajućeg izlučivanja antidiuretskog hormona

Ovaj sindrom je široko prepoznat u humanoj onkologiji. Međutim, u veterinarsko medicini ne postoji niti jedan prijavljen slučaj. Razlog tome može biti asimptomatska priroda ovog poremećaja. Stoga, nedostatak prijavljenih slučajeva, može biti zbog neprepoznavanja ovog poremećaja u pogođenih životinja.

Sindrom neodgovarajućeg izlučivanja ADH karakterizira hiponatrijemija, serumski hipoosmolaritet i hiperosmolaritet urina. Klinički simptomi u ljudi odnose se na učinke hiponatrijemije na središnji živčani sustav, a mogu uključivati umor, anoreksiju i napadaje (Henry, 2010.).

Kod pasa s tipičnim laboratorijskim nalazima potrebno je uvijek razmotriti mogućnost pojave ovog paraneoplastičnog sindroma.

Pojavnost ovog sindroma zbog određenog tumora treba razlikovati od iste pojave prouzročene lijekovima. Vinkristin, ciklofosamid, cisplatin i morfij su među lijekovima koji se koriste u veterinarskoj onkologiji, a kod ljudi su prepoznati kao mogući uzrok ovog sindroma (Henry, 2010.).

Gastrointestinalni paraneoplastični sindromi

Tumorska kaheksija

Čest i jako važan klinički simptom, u životinja oboljelih od malignih bolesti, je duboka neuhranjenost (malnutricija) i gubitak tjelesne težine. Gubitak na tjelesnoj težini uz metaboličke promjene u životinja s malignim bolestima unatoč adekvatnom unosu hrane zove se tumorska kaheksija, dok se unos siromašan nutritivnim vrijednostima zove tumorska anoreksija (Bergman, 2013.). Tumorska kaheksija je kompleksan sindrom koji uključuje gubitak težine i gubitak tjelesne mase sa ili bez anoreksije. Kaheksija je često i po život opasno stanje



Slika 1. Tumorska kaheksija u psa s limfomom.

u ljudi s karcinomom koja može znatno smanjiti vrijeme preživljavanja. Tumorska kaheksija, u humanoj onkologiji javlja se u oko 40%-90% hospitaliziranih bolesnika. Zabilježena je kao uzrok smrti u 20% ljudi oboljelih od zloćudnih bolesti (Bergman, 2013.). Međutim, ovaj paraneoplastični sindrom u pasa oboljelih od malignih tumora mnogo je rjeđi. Incidencija tumorske kaheksije u veterinarskoj onkologiji nije u potpunosti poznata, ali neki autori procjenjuju da je oko 25% u pasa (Bergman, 2013.). Tumorska kaheksija se češće javlja u pasa s limfomom (Slika 1) nego u pasa sa solidnim tumorima (Henry, 2010.).

U humanih i veterinarskih onkoloških pacijenata zabilježene su metaboličke promjene udružene s ovim sindromom prije nego što je nastao gubitak na težini (Bergman, 2013.). Metaboličke promjene koje se događaju pri ovom sindromu su kompleksne i proizlaze iz natjecanja između domaćina i tumora za hranjivim tvarima. Pritom se favorizira anaerobni metabolizam zajedno s promijenjenim

citokinima, hiperlaktatemijom i promjenama u inzulinskom odgovoru.

Klinički znaci uključuju gubitak težine, smanjenje masne i mišićne mase, često i unatoč dobrom apetitu (Henry, 2010.).

Pozornost treba obratiti na vrstu primarnog tumora ili njegovo liječenje, što može utjecati na unos hrane. Primjeri uključuju oralne iritacije zbog tumora u usnoj šupljini ili primjene terapije kao što su zračenje i kemoterapija. Mučnina i averzija prema hrani nakon kemoterapije može utjecati na apetit. Stimulansi apetita (mirtazapin, ciproheptadin, diazepam, oksazepam) i lijekovi protiv mučnine (maropitant, ondansetron) mogu biti korisni zajedno s prehranbenim promjenama. Osim liječenja osnovne maligne bolesti, potrebna je intenzivna prehrambena potpora koja bi trebala uključivati održavanje visokih kalorijskih vrijednosti enteralnim putem. U jako kahektičnih pacijenata preporuča se hrana bogata mastima (uključujući n-3 masne kiseline) s malo ugljikohidrata (Henry, 2010.).

Gastrointestinalne ulceracije

Gastrointestinalne ulceracije se mogu, sekundarno, pojaviti kod životinja s malignim bolestima zbog neoplastične infiltracije gastrointestinalnog trakta ili zbog oštećenja sluznice prouzročenog zračenjem ili kemoterapijom (Henry, 2010.).

Paraneoplastične gastrointestinalne ulceracije se javljaju neizravno, a rezultat su ulceroznog djelovanja tvari koja se oslobađa iz primarnog tumora. Tako dolazi do tumorske hipersekrecije histamina iz mastocitoma i gastrina iz gastrinoma. Obje tvari se vežu na želučane H_2 receptore, što dovodi do pojačanog izlučivanja želučane kiseline i posljedičnih ulceracija (Bergman, 2013.). Najčešći uzroci paraneoplastične gastrointestinalne ulceracije su mastocitni tumori. Koncentracija histamina je povišena u oko 75% pasa s makroskopskim mastocitomom, a njegovo abnormalno povi-

šenje je nepovoljan prognostički faktor. Iako su gastrinomi rijetki u pasa, oni mogu prouzročiti paraneoplastične gastrointestinalne ulceracije. Povezani su s vomitusom, letargijom, anoreksijom, krvarenjima i abdominalnom bolnošću. Ovi simptomi se javljaju i kod ljudi s gastrinomom i zovu se Zollinger-Elison-ov sindrom (Bergman, 2013.).

Dijagnoza se postavlja identifikacijom primarnog tumora, zajedno s vizualnim (unutarnjim) ili laboratorijskim dokazima.

Terapija je usmjerena na otklanjanje primarnog tumora, obično kirurškim zahvatom. Ulkusi se liječe s inhibitorima protonske pumpe, blokatorima H_2 receptora i antiulkusnim lijekovima (Henry, 2010.).

Bubrežni paraneoplastični sindromi

Glomerulonefritis i nefropatije

Značajne bubrežne komplikacije se mogu razviti u humanih i veterinarskih onkoloških pacijenata. Oko 6%-10% ljudi ima znatan glomerulonefritis i gubitak bjelancevina putem urina. Isto tako, 11% ljudi s nefrotičnim sindromom ima istovremeno dijagnosticiran karcinom. Karcinom pluća i gastrointestinalnog trakta je najčešće povezan s paraneoplastičnim glomerulonefritsom u ljudi. Učestalost glomerulonefritisa u životinja je nepoznata. Zabilježen je u pasa s policitemijom vera i limfocitnom leukemijom (Bergman, 2013.).

Glomerularne bolesti se javljaju kod pasa s tumorima zbog nastanka imunih kompleksa koji se pohranjuju u glomerulima. Zbog toga, neoplazije treba uzeti u obzir pri diferencijalnoj dijagnozi kod pasa koji proteine gube putem bubrega.

Nefropatije se javljaju u pasa s paraneoplastičnom hiperkalcemijom koja prouzroči mineralizaciju bazalne membrane (Henry, 2010.).

Terapija oba poremećaja je usmjerena na otklanjanje temeljnog uzroka, a po-

trebna je osobita pažnja prilikom odabira tekućine i elektrolita. Isto tako, potrebno je izbjegavati lijekove koji mogu pogoršati bubrežno oštećenje (Henry, 2010.).

Neurološki paraneoplastični sindromi

Više od 50% humanih onkoloških bolesnika ima neuromuskularne poremećaje blagog stupnja (miopatije ili periferne neuropatije). Paraneoplastični efekti tumora su rezultat oštećenja ili disfunkcije živčanog sustava bez njegove direktne zahvaćenosti tumorskim stanicama. Paraneoplastičan proces može zahvatiti sve strukture: mozak, kralježničnu moždinu, periferne živce, neuromišićnu spojnicu i mišiće. Učestalost u veterinarskih pacijenata je nepoznata. Kod pasa su zabilježeni neurološki paraneoplastični sindromi koji uključuju mozak, periferne živce i neuromišićne spojnice. Prethodno se mora isključiti direktno djelovanje neoplazme (kompresija, infiltracija), metastatski procesi, neželjena djelovanja terapije tumora (radijacija i kemoterapija), cerebrovaskularni poremećaji izazvani poremećajima koagulacije i trombocitopenijom te infekcije. Uzroci disfunkcije su najčešće kombinirani (Bergman, 2013.). Neuromuskularni paraneoplastični sindromi s pridruženim tumorima opisani su u tabeli 3.

Miastenija gravis

Miastenija gravis (MG) se izuzetno rijetko javlja u sklopu paraneoplastičnog sindroma, međutim, opisani su slučajevi miastenije u pasa s timomom. Jedno je istraživanje, provedeno na 36 pasa s timomom, pokazalo da čak 50% jedinki ima paraneoplastičnu miasteniju. Zabilježena je još i kod kolangiocelularnog karcinoma, limfoma i osteosarkoma (Bergman, 2013.).

Smatra se da je uzrok autoimuni poremećaj izazvan tumorskim antigenom.

Nastaje autoimunom reakcijom u kojoj su protutijela usmjerena protiv nikotinske podskupine acetilkolinskih receptora (AChR) na postsinaptičkoj membrani neuromišićnih spojnica što prouzroče prekid neuromuskularnog prijenosa. Vežanje protutijela na AChR dovodi do gubitka njihove funkcije i razgradnje. Nedostatak funkcionalnih receptora sprječava prijenos akcijskog potencijala mišićnim neuronima (Webb i sur., 1997.).

Klinički znaci su: mišićna slabost, disfagija, povraćanje i megaezofagus koji može prouzročiti aspiracijsku pneumoniju (Henry, 2010.).

Definitivna se dijagnostička metoda temelji na određivanju titra protutijela za AChR imunoprecipitacijom. Test je osjetljiv, specifičan, a lažno pozitivni rezultati su rijetkost. U obzir dolazi imunohistokemijska dijagnostika, elektromiografski test s tensilon kloridom (Webb i sur., 1997.).

Mogućnosti liječenja psa s timomom uključuju timektomiju, kemoterapiju i zračenje. Timektomija je tretman izbora za neinvazivni oblik bez megaezofagusa. Vrijeme preživljavanja u prvoj godini je 88%. Psi koji prolaze

timektomiju s megaezofagusom, imaju malih izgleda za preživljavanje zbog aspiracijske pneumonije, masovnog recidiva i pogoršanja kliničkih znakova. Međutim, vlasnici moraju biti upozoreni da titar anti-AChR nije uvijek znatno smanjen nakon odstranjivanja tumora (Webb i sur., 1997.). Kombinacija kemoterapije i terapije zračenjem može biti najučinkovitiji tretman za invazivni timom s megaezofagusom (Webb i sur., 1997.). Znakove mišićne slabosti, možemo ublažiti s antikolinergicima (piridostigmin bromid i neostigmin) koji su osnova simptomatske terapije. Oni produljuju interakciju ACh s raspoloživim receptorima. Uporaba imunosupresivnih sredstava, kao što su prednizon ili azatioprin je kontroverzna. Rizik od aspiracije se može umanjiti uzdižući zdjele prilikom konzumacije hrane i vode (Henry, 2010.).

Periferna neuropatija

Oštećenja perifernih živaca koja je prouzročio tumor su relativno česta, kako u ljudi tako i u veterinarskih pacijenata (Dewey, 2005.). Etiologija oštećenja perifernog živčanog sustava pasa

Tabela 3. Neuromuskularni paraneoplastični sindromi s pridruženim tumorima

Sindromi	Vrste tumora
Miastenija gravis: prekid neuromuskularne transmisije, vjerojatno zbog autoimunsne reakcije protutijela usmjerenih protiv nikotinskih ACh receptora	Timom, kolangiocelularni karcinom, osteosarkom
Periferna neuropatija: uključuje demijelinizaciju i aksonalna oštećenja na perifernim živcima	Karcinom bronha, inzulinom, lejomiosarkom, hemangiosarkom, adenokarcinom nadbubrežne žlijezde, multipli mijelom

Tabela 4. Etiologija oštećenja perifernog živčanog sustava pasa oboljelih od malignih bolesti

Etiologija oštećenja perifernog živčanog sustava pasa oboljelih od malignih bolesti
1. izravna oštećenja živaca i/ili pleksusa zbog urastanja tumora
2. posljedica kemoterapije i zračenja
3. imunološki odgovor na malignu bolest (paraneoplastična periferna neuropatija)

oboljelih od malignih bolesti prikazani su u tabeli 4.

Paraneoplastična periferna neuropatija u pasa vezana je za nekoliko tipova tumora uključujući limfom, multipli mijelom, inzulinom, mastocitom, tireoidni adenokarcinom, melanom, hemangiosarkom i drugi (Chun, 2010.).

Paraneoplastična periferna neuropatija nastaje kao neizravan učinak temeljne neoplazije. Patogeneza ovog fenomena je nepoznata, ali postoji nekoliko hipoteza. Potencijalna objašnjenja uključuju razradu nekih neurotoksičnih faktora od strane tumora, poremećaje metabolizma u aksonima i/ili švanovim stanicama i stvaranja mijelinskih globula. Nadalje, u zadnja je dva desetljeća otkriveno da su ovi paraneoplastički sindromi udruženi s protutijelima direktno protiv antigena koji je prisutan na tumorskim stanicama i u živčanom tkivu (onkoneuralna antitijela), što upućuje na autoimuni proces. Od neuroloških paraneoplastičnih sind. najčešće su polineuropatije (Dewey i Cerda-Gonzales, 2003.).

Istraživanje koje su proveli Braund i sur. (1987.) na 21 psu s različitim tumorima i prosječne dobi 9,3 godine bez kliničkih znakova polineuropatije je pokazalo da su najveću incidenciju oštećenja perifernih živaca imali psi s bronhijalnim karcinomom (59%) i adenokarcinomom mlječne žlijezde (59%). Kod pasa s malignim melanomom (48%) i insulinomom (47%) incidencija je bila nešto niža. Morfološke promjene živaca bile su najmanje u pasa s limfosarkomom. Njihovo istraživanje je ukazalo na postojanje mogućnosti da maligni tumori izazovu subkliničke paraneoplastične lezije perifernih živaca (Dewey, 2005.).

Ovaj paraneoplastični sindrom karakterizira fokalna ili generalizirana slabost tijela. Češći je u starijih pasa (Henry, 2010.).

Elektrofiziološka metoda kojom se procjenjuje stupanj i vrsta oštećenja je elektromioneurografija – EMNG (Henry, 2010.).

Ne postoji specifičan tretman. Liječenje se zasniva na uklanjanju primarnog tumora. Prognoza za oporavak od paraneoplastične neuropatije (pretpostavljajući adekvatnu kontrolu primarnog tumora) kod pasa je trenutno nepoznata. U ljudi s paraneoplastičnim neuropatijama, prognoza je često loša. Prognoza za kontrolu temeljnih neoplazija u velikoj mjeri ovisi o lokaliziranosti i vrsti tumora (Dewey i Cerda-Gonzales, 2003.).

Ostali paraneoplastični sindromi

Hipertrofična osteopatija

Paraneoplastična hipertrofična osteopatija (PHO) je dobro opisana i prepoznata u pasa s malignim bolestima. Prije je nosila naziv pulmonalna hipertrofična osteopatija. Javlja se sekundarno, a najčešće je povezna s intratorakalnim malignomima kao što je karcinom pluća. Zabilježena je u pasa s tumorom bubrega i nadbubrežne žlijezde te tumorom Sertolijevih stanica i mokraćnog mjehura. Ostali mogući uzroci hipertrofične osteopatije, koji nisu paraneoplastične prirode, su lezije u prsnoj i trbušnoj šupljini koje uključuju apscese, granulome, strana tijela i parazite (Henry, 2010.).

Patogeneza HO-je nije razjašnjena. Novija istraživanja upućuju na značajnu ulogu čimbenika rasta podrijetlom iz trombocita (engl. *platelet-derived growth factor*, PDGF) koji zajedno s transformirajućim faktorom β stimulira fibroblaste potičući stanični rast i sintezu kolagena. Najšire prihvaćena teorija je stimulacija vagusa koja je uzrok neurovaskularnom refleksnom mehanizmu (Bergman, 2013.). Zbog

pojačanog protoka krvi u distalnim dijelovima nogu te zbog periferne vazodilatacije dolazi do reakcije periosteuma. Drugi faktori su svakako hiperestrogenizam i insuficijentna oksigenacija krvi (Couto, 2003.).

Klinički znaci uključuju edem nogu, očni iscjedak, hromost i letargiju. Vlasnici u svojih pasa primjećuju nevoljkost prilikom kretanja. Zahvaćene noge su edematozne i tople. U nekim se slučajevima može palpirati periostalna proliferacija. Najčešći hematološki i biokemijski poremećaji uključuju anemiju, neutrofiliju i povišenu alkalnu fosfatazu. Na radiografskim snimkama mogu se vidjeti karakteristične periostealne reakcije. Dijagnozu dodatno podupire nalaz mase u prsnoj ili trbušnoj šupljini.

Uspješnost liječenja ovisi o liječenju primarnog tumora. Kada to nije moguće, potrebno je ukloniti bol protuupalnim lijekovima. Preporuča se davanje prednizona. Vagotomija može dovesti do suzbijanja hipertrofične osteopatije, ali njena primjena nije uobičajena zbog loše prognoze u pasa s neoperabilnim primarnim tumorom (Henry, 2010.).

Groznica

Premda su najčešći uzroci groznice infekcije, upale, autoimune bolesti i dr., i tumori je mogu izazvati u vidu paraneoplastičnog sindroma. Javlja se kod mnogobrojnih tumora ljudi i životinja. Incidencija u veterinarskoj medicini je nepoznata. U ljudi s groznicom nepoznatog podrijetla, tumori su uzrok u jedne trećine pacijenata. Aproximativno, u 10% pacijenata u humanoj medicini groznica će se razviti tijekom maligne bolesti (Bergman, 2013.).

Patogeneza se zasniva na povećanoj proizvodnji citokina (IL-1, IL-6, TNF- α i interferona) i febrilno-promovirajućeg prostaglandina koji djeluju na termoregulacijsko središte

u hipotalamusu (Bergman, 2013.). Neoplastične infiltracije hipotalamusa mogu dovesti i do groznice.

Terapija ovisi o primarnom uzroku. Ukoliko se tumor ne može ukloniti, liječenje je simptomatsko primjenom protuupalnih lijekova (Henry, 2010.).

Zaključak

Paraneoplastični sindromi su složeni poremećaji koji nastaju kao posljedica tumorskog izlučivanja hormona, peptida ili citokina te imunološke međureaktivnosti između malignog i normalnog tkiva. Znatna su poveznica u otkrivanju klinički okultnih tumora u ranoj fazi njihovog nastanka. Utječu na različite organske sustave i često izazivaju znatan morbiditet, često značajniji od samog tumora. Osim toga, u velikom broju slučajeva otežavaju liječenje. Suvremeni medicinski napredak rezultirao je boljim razumijevanjem, preciznijom dijagnostikom i uspješnijim liječenjem paraneoplastičnih sindroma u pasa. Zaključno, kontrola primarnog tumora je najbolje rješenje u suzbijanju paraneoplastičnih sindroma.

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 imunološke 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, koagulopatije, diseminirana intravaskularna koagulacija, hiperglobulinemija), endokrinološki (hiperkalcemija, hipoglikemija, hiperestrogenizam, sindrom ektopičnog stvaranja adrenokortikotropnog hormona, sindrom neodgovarajućeg izlučivanja antidiuretskog hormona), kožni (superficialni nekrolitički dermatitis, nodularna dermatofibroza), gastrointestinalni (tumorska kaheksija, gastrointestinalne ulceracije), bubrežni (glomerulonefritis i nefropatije) i neurološki (mijastenija gravis, periferne neuropatije) paraneoplastični sindrom te hipertrofična osteopatija i groznica. Nekada se mogu pojaviti tjednima i mjesecima prije nego što se klinički dijagnosticira maligna bolest. Prepoznavanje određenog paraneoplastičnog sindroma je značajno, jer primijećeni poremećaj može biti prvi znak određene vrste tumora te se na taj način može olakšati rano utvrđivanje dijagnoze i postavljanje terapije. Pomaže nam u praćenju odgovora organizma na primijenjenu 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, preciznijom dijagnostikom i uspješnijim liječenjem paraneoplastičnih sindroma u pasa. Unaprijeđenje prepoznavanja i liječenja paraneoplastičnih poremećaja ima značajan 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 da bi to bilo moguće potrebno je stabilizirati pacijenta potpornom terapijom koja ovisi o kliničkom stanju pacijenta (infuzija, transfuzija, antibiotici i dr.).

Ključne riječi: *paraneoplastični sindrom, pas*

Literatura

- ANDERSON, G. M., I. LANE, J. FISCHER and A. LOPEZ (1999): Hypercalcemia and parathyroid hormone-related protein in a dog with undifferentiated nasal carcinoma. *Can. Vet. J.* 40, 341-342.
- 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).
- BRAUND, K. G., J. A. MCGUIRE, K. A. AMLING and R. A. HENDERSON (1987): Peripheral neuropathy associated with malignant neoplasms in dogs. *Vet. Pathol.* 24, 16-21.
- 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).
- DEWEY, C. W. (2005): Disorders of the Peripheral Nervous System. In: Dewey, C. W.: *A practical Guide to Canine and Feline Neurology*, (397-401).
- DEWEY, C. W. and S. CERDA-GONZALEZ (2003): Disorders of the Peripheral Nervous System: Mononeuropathies and Polyneuropathies. In: Dewey, C. W.: *A Practical Guide to Canine and Feline Neurology*, (427-469).
- FINORA, K. (2003): Common paraneoplastic syndromes. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 18, 123-126.
- FOLEY, P., D. SHAW, C. RUNYON, S. McCONKEY and B. IKEDA (2000): Serum parathyroid hormone-related protein concentration in a dog with a thymoma and persistent hypercalcemia. *Can. Vet. J.* 41, 867-870.
- GRABAREVIĆ, Ž. (2002): Paraneoplastični sindrom. U: Grabarević, Ž.: *Veterinarska onkologija*, (44-47).
- HAYES, H. M. and T. W. PENDERGRASS (1976): Canine testicular tumors: Epidemiologic feature of 410 dogs. *Int. J. Cancer.* 18, 482-487.
- 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).
- KUBOTA, A., R. KANO, T. MIZUNO, M. HISASUE, P. F. MOORE, T. WATARI, H. TSUJIMOTO and A. HASEGAWAY (2002): Parathyroid Hormone-Related Protein (PTHrP) Produced by Dog Lymphoma Cells. *J. Vet. Med. Sci.* 64, 835-837.
- MADARAME, H., H. KAYANUMA, T. SHIDA and R. TSUCHIYA (2009): Retrospective Study of Canine Insulinomas: Eight Cases (2005-2008). *J. Vet. Med. Sci.* 71, 905-911.
- MORRIS, J. (2008): Endocrine System. In: Morris J. and J. Dobson: *Small Animal Oncology*, (204-227).
- REIF, J. S. (2013): Epidemiology and the Evidence Based Medicine Approach. In: Withrow, S. J., D. M. Vail and R. L. Page: *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*, (68-83).
- WEBB, A. A., S. M. TAYLOR and L. MCPHEE (1997): Focal myasthenia gravis in a dog. *Can. Vet. J.* 38, 493-495.

Paraneoplastic Syndrome in Dogs – (Part II.)

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 antidiuretic 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*

REPRODUKCIJA DOMAĆIH ŽIVOTINJA



Autor: Vlatko Rupić
Izdavač: ZRINSKI d.d. Čakovec
Godina izdanja: 2015., tvrdi uvez

U svibnju 2015. godine publiciran je udžbenik Reprodukcijska domaćih životinja, autora prof. dr. sc. Vlatka Rupića, redovitog profesora u trajnom zvanju u mirovini Agronomskog Sveučilišta u Zagrebu. Spomenuti udžbenik rezultat je dugotrajnog, 14 godišnjeg rada, odnosno prikupljanja podataka i rezultata istraživanja (domaćih i inozemnih) iz područja reprodukcije 8 vrsta domaćih životinja (konja, goveda, ovaca, koza, svinja, pasa, mačaka i kunića). Reprodukciju domaćih životinja prof. Rupić je do sada objavio u dvije knjige (Veterinar u kući i Zaštita zdravlja domaćih životinja: Fiziologija i patologija reprodukcije) koje sadrže manje cjeline reprodukcije, međutim u odnosu na ovaj udžbenik to su manje opsežni prikazi fiziologije i patologije rasplodivanja domaćih životinja.

Treba napomenuti da su u ovom udžbeniku opširno i detaljno prikazane nove biotehnologije reprodukcije domaćih životinja o kojima se do sada u Hrvatskoj malo pisalo i znalo (druga, treća i četvrta generacija rasplodivanja). Prof. Rupić počeo se intenzivno baviti drugom generacijom biotehnologije rasplodivanja (embriotransfer) 1985. godine da bi 1989. godine na specijalizaciji iz područja proizvodnje transgeničnih životinja proveo dva mjeseca u Laboratoriju za reprodukciju domaćih životinja u Beltsville-u, Maryland, SAD.

Udžbenik sadrži 15 poglavlja otisnutih na 902 stranice, a tekst je upotpunjen sa 743 slika u boji, 63 crteža, 33 sheme, 24 grafikona i 26 tabelarnih prikaza. U udžbeniku se navode 2 102 literaturna citata korištena u njegovu stvaranju. Detaljno je opisana anatomija i fiziologija ženskih i muških spolnih organa, endokrinologija reprodukcije, spolna i fizička zrelost, spolni ciklus, pripust i umjetno osjemenjivanje, fiziologija gravidnosti, plodnost domaćih životinja, trajanje gravidnosti, hranidba, držanje i njega gravidnih životinja, dijagnostika gravidnosti, fiziologija porođaja, prirodna i umjetna ohrana mladunčadi kao i reprodukcijski profili 8 prethodno navedenih vrsta domaćih životinja. U području biotehnologije reprodukcije opisana je neurohormonalna regulacija spolnog ciklusa, embriotransfer, umjetna oplodnja, proizvodnja zametaka *in vitro*, određivanje spola zametaka u postzigotnom stadiju (seksiranje zametaka), kloniranje, proizvodnja transgeničnih životinja (miševa, štakora, kunića, svinja, preživača i peradi), mliječna žlijezda te imunologija rasplodivanja. Ovaj će udžbenik biti od pomoći doktorima veterinarske medicine, magistrima agronomije i biologije, jer se u više poglavlja nalaze podatci o novim spoznajama o biotehničkim zahvatima i postupcima koji do sada nisu publicirani u znanstveno-stručnoj literaturi u našoj zemlji.

Marko SAMARDŽIJA

II. hrvatski veterinarski kongres, Cavtat, 2000.

Marijan Sabolić



II. hrvatski veterinarski kongres održan je u Cavtatu od 10. do 13. listopada 2000. godine. Našlo se vremena

za ugodne šetnje i razgovore uz pokoje piće. Bila je to prilika i za koju fotografiju.



S lijeva na desno: mr. sc. Marijan SABOLIĆ, dr. med. vet., mr. Nenad KRAVARŠČAN, dr. med. vet., mr. sc. Dijana KATICA, dr. med. vet., dr. sc. Ivan MAJDAK, dr. med. vet.

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

In memoriam – prof. dr. sc. Vjekoslav Srebočan



Početkom 2016. godine, 31. siječnja, za-
u-
vijek nas je napustio u 89. godini života
cijenjeni profesor Vjekoslav Srebočan.
Rođen je 7. lipnja 1927. godine u Celju,
R. Slovenija od oca Branka Kleina i majke
Ane Srebočan. Imao je dva mlađa brata
(prvi 5, a drugi 10 godina mlađi). Os-
novnu je školu počeo pohađati u Celju,
gdje je završio 2 razreda, nakon čega se
obitelj preselila u Zagreb, gdje je završio
osnovnu školu i državnu 3. mušku realnu
gimnaziju. U svibnju 1943. godine oca
su mu uhapsili i odveli u koncentracijski
logor Auschwitz iz kojega se nikada nije
vratio. S obzirom da majka nije radila, a
on je bio najstariji sin, zaposlio se i radio
godinu i pol dana u jednoj tiskari. Go-
dine 1946. upisao je Veterinarski fakultet
u Zagrebu gdje je diplomirao 1951. go-
dine. Tijekom studija (1947.) se oženio i
imao dva sina. Do odlaska u JNA bio je
asistent na Klinici za unutrašnje bolesti
Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Za-

grebu. U razdoblju 1953.-1958. službovao
je u veterinarskoj ambulanti Martinska
Ves i Sisak u svojstvu terenskog veteri-
nara. Godine 1958. s obitelji se vraća u
Zagreb gdje je izabran za asistenta pred-
meta Ambulantna klinika Veterinarskog
fakulteta Sveučilišta u Zagrebu za pred-
met "Unutrašnje bolesti". Disertaciju pod
naslovom "Značenje poznavanja kolinese-
traze krvi u nekih domaćih životinja pod
fiziološkim i patološkim uvjetima" obra-
nio je godine 1960. Godine 1965. prešao je
na rad u svojstvu asistenta u Zavod za far-
makologiju i toksikologiju istog Fakulteta.
Habilitirao je iz područja "Farmakologije
i toksikologije" godine 1967. pa je iste go-
dine izabran u zvanje docenta. Godine
1973. izabran je u zvanje izvanrednog pro-
fesora, a 1977. u zvanje redovitog profe-
sora. U razdoblju od 1976. do 1980. godine
bio je u dva mandata prodekan za nastavu i
znanstveni rad. Više je puta bio predstojnik
Zavoda za farmakologiju i toksikologiju te
predsjednik komisija Vijeća i Savjeta (stat-
utarne, za znanstveni rad, nastavni plan i
program, poslijediplomski studij). Bio je
i član Kadrovske komisije Sveučilišta u
Zagrebu te član Savezne komisije za lijeke-
ove i Savezne komisije za otrove u bivšoj
državi. U razdoblju od 1959. do 1964. bio
je tajnik Društva veterinarar i veterinarskih
tehničara SR Hrvatske te član uredničkog
odbora časopisa Veterinarski arhiv. Go-
dine 1989. povodom 320. obljetnice *Dies
Academicus*, Sveučilišta u Zagrebu kao
"zaslužnom profesoru" dodijeljeno mu je
priznanje.

Za vrijeme boravka na Ambulant-
noj klinici radio je u znanstvenom timu
na području istraživanja etiologije, pato-
geneze i dijagnostike metaboličkih bolesti
jetre. Nakon prjelaska na Zavod za farma-
kologiju i toksikologiju započeo je timsko
istraživanje utjecaja lijekova na adreno-

kortikalnu reakciju peradi na stres izazvan nepovoljnim vanjskim činiteljima, a u nastavku u istraživanje učinka insekticidnih kloriranih ugljikovodika i triazinskih herbicida na funkcije te žlijezde. Iz tih rezultata proistekla su istraživanja o učinku pesticidnih kloriranih ugljikovodika, polikloriranih bifenila i triazinskih herbicida na enzimatsku regulaciju prijetvora ugljikohidrata u peradi. Sva su istraživanja rezultirala boljem poznavanju subletalne otrovnosti tih pesticida u peradi i bila su sadržaj dva projekta istraživanja u suradnji s Ministarstvom poljoprivrede SAD-a, odnosno financirana iz tzv. "žitnog fonda". Od godine 1980. radi timski na istraživanju kontaminacije okoliša toksičnim kovinama, rukovodi monitoringom programa kontaminacije mesa stoke i riba kovinama i pesticidnim kloriranim ugljikovodicima u SR Hrvatskoj. Treba reći da je u okviru vertrinarske struke prepoznao potrebu za znanstvenim i stručnim usavršavanjem pa je je godine 1970. boravio na stručnom usavršavanju u Kemijskom odjelu, Centralnog laboratorija za zaraze u Tolworth Surbiton, Surrey, Engleska. Nakon toga omogućio je stručna usvršavanja dvoje mlađih kolega iz Zavoda u istom laboratoriju godine 1973. Isto je tako godine 1977. omogućio kolegici kemičarki s matičnog Zavoda stručno usavršavanje u Toksikološkom odjelu Centralnog veterinarskog laboratorija u Weybridge-u, Surrey, Engleska. Godine 1986. omogućio je i meni četveromjesečni boravak u Istraživačkom centru za okoliš u Patuxent-u, Maryland, SAD. Sve je to rezultiralo izradom mnogih stručnih i znanstvenih radova te magistarskih radova i disertacija pod njegovim mentorstvom. Osim stručnog i znanstvenog usavršavanja u Engleskoj boravio je i u Švedskoj, Njemačkoj te SAD-u na kraćim studijskim boravcima.

Nastavni rad prof. dr. sc. Vjekoslava Srebočana iz područja unutrašnjih bolesti započeo je dolaskom na Ambulantnu kliniku, nakon 5 godina terenskog iskustva, a nastavio se u Zavodu za far-

makologiju i toksikologiju gdje je zbog predhodnog dugogodišnjeg iskustva dao veliki doprinos u području opće i specijalne farmakologije te je napisao skriptu iz Opće farmakologije. Istodobno je razvijao teoretsku i praktičnu nastavu iz toksikologije za koju je napisao nastavni sadržaj u obliku knjige, skripte i poglavlja u Veterinarskom priručniku. U poslijediplomskom studiju sudjelovao je u nekoliko smjerova i izvodio nastavu iz primijenjene toksikologije.

Stručna djelatnost prof. dr. sc. Vjekoslava Srebočana vidljiva je iz njegove stručne publicistike koja obuhvaća tekstove u stručnim publikacijama, enciklopedijske članke, stručne referate na kongresima i savjetovanjima te elaborate. Veći dio te publicistike vezan je za veterinarsku toksikologiju iz koje je sa svojim suradnicima u Zavodu razvio kemijsko-toksikološku dijagnostiku u opsegu koji je objektivno bio moguć. Zavod je ujedno bio i informativni punkt na usluzi veterinarskoj terenskoj službi i šire, što je ostao i do danas. Osim toga niz godina prof. dr. sc. Vjekoslav Srebočan izrađivao je farmakološka i toksikološka mišljenja za lijekove i otrove u svrhu njihove registracije.

Njegov hobi bio je planinarenje pa je u više navrata sa svojim kolegama, najčešće akademikom Forenbacherom koji mu je bio i mentor, propješačio Velebitom od sjevera do juga u društvu mazgi ili mula koje su nosile opremu. I ja kao njegov sin s njim sam mnogo put propješačio Medvednicu i Samoborsko gorje, pri čemu sam u dugim razgovorima spoznao veličinu njegove osobe i trnovit put koji je prošao tijekom života te naučio puno životnih lekcija. Prof. dr. sc. Vjekoslav Srebočan bio je izuzetno radišan, požrtvovan i angažiran znanstvenik, nastavnik i stručnjak koji je educirao mnoge generacije studenata, uključujući i mene. U životu je bio strog, ali pravedan, bez obzira je li se radilo o studentima, kolegama ili meni i mom bratu. Oče, hvala Ti za sve.

Emil SREBOČAN

In memoriam – prof. dr. sc. Ante Svetina



Dana 01. ožujka, u svojoj sedamdesetoj godini, napustio nas je naš profesor i kolega Ante Svetina. Nažalost, neizlječiva bolest koja uništava ono najvrjednije što posjedujemo, a to su naša osobnost i naša sjećanja, uzela je svoj danak.

Prof. dr. sc. Ante Svetina rođen je 2. veljače 1947. godine u Čitluku, općini Promina. Diplomom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu stekao je 1974. godine. Znanstveno-istraživački rad započeo je u Laboratoriju za neuropatologiju i neurofarmakologiju Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu te je 1976. god. upisao poslijediplomski studij Biomedicine u Centru za poslijediplomski studij Sveučilišta u Zagrebu, kojeg je završio 1978. god. obranivši magistarski rad pod naslovom „Oslobađanje acetilkolina iz kore velikoga mozga i evocirani kortikalni odgovori pod

utjecajem stroncija i piracetama“ i stekao naslov magistra medicinskih znanosti iz područja biomedicine. Iste godine zaposlio se kao asistent u Zavodu za patološku fiziologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te je odmah upisao i završio tečaj za pedagošku izobrazbu mladih sveučilišnih nastavnika koji je bio organiziran na Filozofskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Godine 1981. odlazi na Medicinski fakultet u Bergen, Norveška, gdje je pohađao tečaj osnovnih metoda za istraživanje mozga i ponašanja životinja, kojeg je organizirala Europska zaklada za znanost. Disertaciju pod naslovom „Utjecaj antimuskarinskih tvari, kolina i rubidija na oslobađanje acetilkolina iz kore velikog mozga“ obranio je 1982. godine i stekao naslov doktora medicinskih znanosti iz područja veterine. Naredne 1983. godine odlazi u Strasbourg, Francuska, gdje je pohađao tečaj neurotransmisije kojeg je organizirala Europska zaklada za znanost.

Za docenta iz kolegija Patološka fiziologija u Zavodu za patološku fiziologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu izabran je 1985. godine, za izvanrednog profesora iz istog kolegija 1996., redovitog profesora 2003. te redovitog profesora u trajnom zvanju 2008. godine. Rezultat dugogodišnjeg znanstvenog rada profesora Svetine su brojni objavljeni znanstveni i stručni radovi. Bio je član trećeg najstarijeg znanstvenog društva u Sjedinjenim Američkim Državama „The New York Academy of Sciences“, član uredništva časopisa Veterinarski arhiv te član brojnih stručnih društava. Bio je izvrstan predavač, a svoje je znanje nastojao pretočiti studentima na što zanimljiviji

način, ne držeći se pritom samo poznatih činjenica iz literature, već je često dodavao i svoja, prilično osebujna, razmišljanja i pretpostavke. Upravo nas je profesor Svetina naučio da je patofiziologija u stvari jedan veliki „zašto?“. Po odlasku u mirovinu nije se prepustio mirnom umirovljeničkom životu, već je redovito dolazio u Zavod, jednom čak pitavši radi li se sutra ili je možda slobodan dan. No, kako nas smrt pa i kada smo svjesni svoje bolesti, uvijek iznenadi, tako i profesor Svetina nije stigao dovršiti svoje, možda i najvrednije djelo, udžbenik iz patološke fiziologije. Gledali smo ga kako piše

stranice i stranice teksta, no rukopis je vremenom postajao sve teže čitljiv, a slova su polako postajala neprepoznatljiva. Savladala ga je upravo bolest kojoj je posvetio velik dio svog istraživačkog rada i energije.

Skromno i s mirom u srcu, oprostili smo se od našeg profesora i dugogodišnjeg predstojnika Zavoda za patološku fiziologiju i s njegovom voljenom obitelji, suprugom Majom, kćerima Ivom i Lanom te sinom Stipom, ispratili na posljednje putovanje do dragog mu zavičaja.

Nina POLJIČAK MILAS

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 iskustvo 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 prihvatit će se i veći broj stranica. Kratka priopćenja i prikazi slučajeva do 7 stranica, a kongresna priopćenja, literarni zapisi i osvrti 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:

a) Izjavu o sukobu interesa

Autori su dužni objaviti svaki potencijalni sukob interesa, kao što su konzultantske, financijske uključenosti, vlasništvo patenta, itd. Autori originalnih znanstvenih članaka moraju u trenutku podnošenja objaviti financijski 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 sudeću odluku, ali ako je članak prihvaćen za objavljivanje, takvi se podatci moraju priopćiti čitatelju.

b) Izjavu o etičnosti

Autori moraju potvrditi da materijal dostavljen za objavljivanje nije objavljen niti poslan 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 pretpostaviti da su im nanijeli nepotrebnu bol ili nelagodu. Kako bi za objavljivanje bili prihvatljivi, pokusi na živim kralježnjacima 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.

Oglašavanje 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 prilažu:

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).

Disertacija: FOLNOŽIĆ, I. (2014): Utjecaj tjelesne kondicije i pariteta na energetske, antioksidacijske i reproduksijske 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 tehnika" (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 odgovor svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti Aujezskog. 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@vef.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:

- single author: Cvetnić (2015)
- two authors: Džaja and Severin (2012)
- 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:

- 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.

- 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): Seroški odziv svinja na eksperimentalnu inaktiviranu vakcinu bolesti Aujezškoga. Kongres mikrobiologa Jugoslavije (Poreč, 24. - 28. rujna 1985). Zbornik plenarnih predavanja i sažetaka priopćenja. Zagreb (104).

Journal: CERUNDOLO, 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@vef.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.