

# Veterinar



Znanstveno-stručni časopis studenata veterinarske medicine

*Utemeljen 1938.*



ISSN: 0303-5409

Godina **2018.**

Godište **56.**

Broj **1.**

# Veterinar

Znanstveno - stručni časopis studenata veterinarske medicine

Utemeljen 1938.

**Izdavač  
Publisher**

Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu  
University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine  
Heinzelova 55, 10 000 Zagreb

**Web stranica  
Web Site**

<http://www.vef.unizg.hr/veterinar>

**Adresa uredništva  
Editorial Office**

Heinzelova 55, 10 000 Zagreb  
tel.: +385 (0)1 2390 111  
e-mail: veterinar@vef.hr

**Glavna urednica  
Editor-in-Chief**

Iva Benvin  
e-mail: iva.benvin55@gmail.com  
mob. +385 (0)99 590 2559

**Zamjenica urednika  
Deputy Editor**

Stefani Fruk

**Grafički urednik  
Graphics Editor**

izv. prof. dr. sc. Krešimir Severin

**Studentski urednički odbor  
Students' Editorial Board**

Ivona Baketarić  
Iva Benvin  
Krunoslav Bodalec  
Zvonimir Delač  
Ivana Filipčić  
Stefani Fruk

Irisz Koutis  
Andrej Kupres  
Matthew Meddings  
Mia Reba  
Mihaela Vranješ

**Urednički kolegij  
Editorial Board**

izv. prof. dr. sc. Martina Đuras  
doc. dr. sc. Gordana Gregurić Gračner  
doc. dr. sc. Suzana Hađina  
doc. dr. sc. Marko Hohšteter  
izv. prof. dr. sc. Ivana Kiš

doc. dr. sc. Dean Konjević, dipl. ECZM  
prof. dr. sc. Boris Pirkić  
izv. prof. dr. sc. Krešimir Severin  
dr. sc. Vesna Špac, dipl. ing., dipl. bibl.  
izv. prof. dr. sc. Silvijo Vince

**Lektori  
Revisors**

Željana Klječanin Franić, prof. – hrvatski jezik  
Janet Ann Tuškan, prof. – engleski jezik

**Naklada  
Print Run**

500

Fotografija na naslovnoj stranici: Silvia Blašković, studentica Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Časopis Veterinar novčano podupire Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Svi izvorni znanstveni radovi, stručni članci, pregledni članci, stručne rasprave i prikazi slučaja podliježu recenziji dvaju recenzenata. Popularizacijski i drugi članci ne podliježu recenziji.

Časopis ne odgovara za točnost objavljenih tekstova ili eventualne tiskarske pogreške.



### ***Dragi čitatelji,***

s ponosom Vam predstavljam novi broj znanstveno-stručnog časopisa studenata veterinarske medicine „Veterinar“. Da bismo upotpunili znanstveno-stručni profil časopisa, u ovom broju možete pročitati dva izvorna znanstvena rada, pregledni te stručni rad. Radovi su nastali u suradnji studenata sa svojim mentorima te su recenzirani od strane dvaju recenzenata. U svrhu popularizacije studentskih aktivnosti objavljeni su popularizacijski članci o studentskim boravcima u inozemstvu te članci studentskih udruga. Osim toga, imate priliku pročitati i dva članka na engleskom jeziku o boravku stranih studenata na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu u okviru programa Erasmus. S obzirom na velik broj objavljenih članaka različite tematike, nadam se da će Vam i ovaj broj časopisa biti zanimljiv i koristan.

Časopis „Veterinar“ nastoji promovirati veterinarsku struku i znanost. Stoga ovom prigodom pozivam sve zainteresirane autore da se pridruže stvaranju novih brojeva tako da nam dostavljaju svoje radove ili popularizacijske članke.

Zahvaljujem svim dosadašnjim oglašivačima koji su pronašli interes za oglašavanje u časopisu „Veterinar“ te pozivam sve potencijalne oglašivače da podrže časopis u idućem razdoblju i odaberu oglašavanje u „Veterinaru“ kao jedan od načina promocije proizvoda, usluga ili tvrtke.

Želim zahvaliti svim autorima koji su ovaj časopis odabrali kao mjesto gdje će predstaviti svoje radove te spoznaje i iskustva iz područja veterinarske medicine. Zahvaljujem i recenzentima na uloženom trudu i izdvojenom vremenu kako bi svojom recenzijom povećali znanstvenu vrijednost objavljenih radova. Posebno zahvaljujem Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu koji nam je pružio veliku potporu i omogućio tiskanje novog broja časopisa „Veterinar“ u većem broju primjeraka. Velika hvala grafičkom uredniku na izdvojenom vremenu za grafičku pripremu i prijelom svakog broja časopisa. Zahvaljujem i članovima Uredničkog kolegija i Uredničkog odbora te ostalim suradnicima koji su sudjelovali u stvaranju ovoga broja časopisa. Nadam se da ćemo i ubuduće zajedno oplemeniti i upotpuniti nove brojeve časopisa sadržajem zanimljive tematike i truditi se da bismo održali kontinuitet izlaženja te kvalitetu časopisa podigli na najvišu moguću razinu.

**Iva Benvin, glavna urednica**



# Biomarkeri periodontalnih bolesti izdvojeni iz sline pasa

## Salivary biomarkers for periodontal disease in dogs

Šoštarić, P.<sup>1\*</sup>, K. Marić<sup>1\*</sup>, H. Valpotić<sup>2</sup>, D. Brozić<sup>2</sup>

### Sažetak

Klinički značajni biomarkeri periodontalnih bolesti, koji imaju ulogu u dijagnostici, terapiji i prognozi bolesti, moraju imati karakteristike sposobnosti klasifikacije periodontalnih promjena i praćenja učinka liječenja. Do danas nije provedeno istraživanje kojim bi se utvrdilo mogu li enzimski biomarkeri i razina ureje u slini pasa poslužiti kao dijagnostički medij kod periodontalnih bolesti. Stoga je cilj ovog istraživanja bio odrediti koncentracije enzimskih biomarkera u slini pasa (ALT, AST i ALP) i ureje te utvrditi njihove koncentracije unutar skupina pasa različita stupnja zubnog kamenca i promjena na gingivi. U istraživanje je uključeno 20 zdravih pasa koji su podijeljeni u četiri skupine prema razini kamenca: K0, K1, K2, K3 i s obzirom na pregled gingive u dvije skupine: gingiva bez promjena (G0) i klinički promijenjena gingiva (Gprom). Razina enzima ALT u slini nije se razlikovala između skupina, dok se koncentracija enzima AST u slini statistički značajno razlikovala između skupina K0 i K3 te K2 i K3. Koncentracija enzima ALP utvrđena je u znatno višoj koncentraciji u skupini K2 u usporedbi sa skupinama K0 i K1 te u skupini K3 ako ih usporedimo sa skupinama K0 i K1. Kod pasa kod kojih je utvrđen gingivitis, utvrđene su statistički značajno više vrijednosti za enzime ALT, AST, ALP. Koncentracija ureje u slini nije pokazala korelaciju s praćenim periodontalnim promjenama, stoga se ne može smatrati pouzdanim biomarkerom periodontalnih bolesti. Nasuprot tomu, enzimi ALT, AST i ALP pokazali su već utvrđene korelacije dokazane u slini kod ljudi, stoga ih možemo smatrati potencijalnim biomarkerima u dijagnostici i praćenju terapijskog učinka u liječenju periodontalnih bolesti kod pasa kao i potencijalnim dijagnostičkim modelom periodontalnih bolesti kod ljudi.

### Abstract

Clinically relevant biomarkers of periodontal disease that have a role in diagnostics, therapy and prognosis must have the ability to classify disease and define follow-up treatment. To this date, no research has been conducted that could determine if enzymatic biomarkers and urea concentration in the saliva of dogs can serve as a diagnostic tool for periodontal disease. The aim of this research was to measure the salivary enzymes: ALT, AST and ALP, as well as urea, and to determine their concentrations in groups of dogs assigned according to calculus index and gingival inflammation. The study included 20 healthy dogs that were divided into groups according to calculus index (K0, K1, K2, K3) and according to the presence of gingivitis (G0 and Gprom) in which saliva enzymes (ALT, AST, and ALP) and urea were determined. The level of ALT in the saliva did not differ between groups, whereas AST concentration differed significantly between groups K0 and K3, and also between groups K2 and K3. We determined significantly higher concentrations of ALP in the K2 group compared to K0 and K1, and also in the K3 group compared to K0 and K1. In the group of dogs with gingivitis (Gprom) we determined significantly higher concentrations of the enzymes ALT, AST,



<sup>1</sup> Petra Šoštarić, Klara Marić, studentice, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu  
<sup>2</sup> doc. dr. sc. Hrvoje Valpotić, dr. sc. Diana Brozić, Zavod za prehranu i dijetetiku životinja, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

\*e-mail:  
 petrasos18@gmail.com,  
 klaramarić93@gmail.com

**Ključne riječi:** periodontalne bolesti, slina, enzimski biomarkeri, ureja, pas

**Key words:** periodontal disease, saliva, enzymatic biomarkers, urea, dog

and ALP. On the other hand the concentration of urea in saliva did not correlate with the periodontal pathologies observed, so it cannot be classified as a biomarker. In contrast, the enzymes ALT, AST and ALP already showed a correlation in human saliva with periodontal disease occurrence and severity, so they can be classified as potential biomarkers in periodontal disease diagnostics in dogs, as well as a potential diagnostic model for human periodontal pathologies.

## UVOD

Razvoj periodontalnih bolesti kod pasa započinje taloženjem bakterijskog plaka koji čine nakupine bakterija i produkti njihova metabolizma te ostaci epitelnih i upalnih stanica (Colmery i Frost, 1986.). Potom, mineralizacijom supragingivalnog i subgingivalnog plaka dolazi do formiranja zubnog kamenca čiji sastav čine kristalizirane soli kalcijeva karbonata i kalcijeva fosfata u slini na površini zuba (Legeros i Shannon, 1979.). Nakupljanje bakterijskog plaka i zubnog kamenca pogodovat će razvoju gingivitisa, reverzibilne upalne reakcije u kojoj ne dolazi do prekida kontinuiteta gingivalnog epitela na površini korijena zuba (Hennet i Harvey, 1992.). Daljnjim nakupljanjem plaka ispod gingivalnog epitela i njegove mineralizacije može doći do ireverzibilne destrukcije periodontalnog ligamenta, alveolarnog koštanog tkiva i posljedično ispadanja zuba te razvoja periodontitisa (Harvey, 1998.; Harvey, 2005.).

Velik je broj biološki aktivnih tvari koje nastaju tijekom formiranja zubnog plaka, kamenca, gingivitisa te periodontitisa, koje mogu poslužiti kao biomarkeri periopatogenog procesa. Dijagnostika periodontalnih bolesti uglavnom se oslanja na klinički pregled i vizualnu inspekciju usne šupljine što je izazov u dijagnostici rane faze periodontalnih bolesti, dok se jasna klinička slika upale uočava kad već dođe do opsežnih, ireverzibilnih promjena u periodontalnim strukturama (Brinkmann i sur., 2011.). Tijekom posljednja dva desetljeća u humanoj medicini slina služi za rano otkrivanje i kontrolu bolesti, određivanje koncentracije lijekova i drugih tvari u organizmu te dijagnostiku oralnih, autoimunskih, kardiovaskularnih, raznih, zloćudnih i krvnih bolesti (Aurer i sur., 2005.). Razlog je tomu što je slina, za razliku od drugih tjelesnih tekućina, jednostavan, jeftin i neinvazivan dijagnostički medij (Malamud i Rodriguez-Chavez, 2011.). Slina je stoga sve privlačnija u dijagnostici periodontalnih bolesti,

zbog lake dostupnosti te jednostavnog i neinvazivnog prikupljanja, a ponajviše zbog važnih enzima koji se oslobađaju nakon ozljede i smrti stanica poput alkalne fosfataze (engl. *alkaline phosphatase*, ALP), alanin-aminotransferaze (engl. *alanine aminotransferase*, ALT) i aspartat-aminotransferaze (engl. *aspartate aminotransferase*, AST) (Paknjad i Rezaei, 2013.). Produkcija enzima pojavljuje se kao obrambeni odgovor na periodontalne bolesti te stoga može upućivati na oštećenje stanica u ranoj fazi bolesti, kada se ona klinički još nije očitovala (Luke i sur., 2015.). U dijagnostičke se svrhe najviše koristi nestimulirana slina koja je sastavljena od mješavine serozne i mukozne sline, tekućine iz gingivnog sulkusa i transudata seruma koji uz stanice epitela sluznice sadržava i krvne stanice, mikroorganizme te čestice hrane sa sluznice. Sastavni dijelovi sline potječu ponajprije iz okolnog krvožilnog sustava, stoga su mnogi spojevi koji se nalaze u krvi prisutni i u slini i na taj način odražavaju patološka stanja organizma (Farnaud i sur., 2010.). To joj svojstvo daje izniman potencijal za dijagnozu različitih bolesti (Miller i sur., 2010.). No slina kao dijagnostički medij ima i određene nedostatke, poput kontaminacije oralnim bakterijama koje će se prilikom prikupljanja sline naći u uzorku i na taj način utjecati na pojedine promatrane parametre. Nadalje, slina nije jednostavan ultrafiltrat plazme, već se proizvodi u sloju epitelnih stanica u acinusima žlijezda te se inicijalna sekrecija dalje modificira u duktusima, stoga će izlučena slina odražavati i njihov integritet (Miller, 1994.).

Klinički važni markeri periodontitisa koji bi imali ulogu u dijagnozi, terapiji i prognozi bolesti moraju imati karakteristike kao što su sposobnost klasifikacije periodontitisa te praćenje učinka liječenja (Brinkmann i sur., 2011.). Do danas nije provedeno istraživanje kojim bi se utvrdilo mogu li biomarkeri u slini pasa poslužiti kao dijagnostički medij kod periodontalnih

bolesti i na taj način preuzeti ulogu modela za periodontalne bolesti kod ljudi. Naime, patofiziologija nastanka bolesti u pasa odgovara onoj u ljudi. Također, histološka svojstva zdravog i bolesnog periodonta vrlo su slična kod pasa i ljudi, a uz sve to se veže i visoka prevalencija bolesti u obje vrste (Lindhe i sur., 1975.; Albuquerque i sur., 2012.).

## MATERIJALI I METODE

### Životinje

U istraživanje je uključeno 20 zdravih pasa u dobi od 10 mjeseci do 13 godina, različitih pasmina i oba spola, nasumičnim odabirom. Nakon općeg kliničkog pregleda utvrđeno je da u trenutku pregleda psi nisu pokazivali znakove bolesti, s izuzetkom periodontalnih bolesti. U trenutku uzimanja uzoraka psi nisu primali terapiju. Psima je potom učinjen pregled usne šupljine i procjena plaka, kamenca i gingive prema Loe-Silnessovoj ljestvici (LOE, 1967.) na temelju čega su podijeljeni u četiri skupine prema razini kamenca: kamenac nije prisutan (K0); supragingivalni kamenac prekriva manje od 1/3 krune (K1); supragingivalni kamenac prekriva više od 1/3 krune, ali manje od 2/3 krune, također prekriva cervikalni dio zuba (K2); kamenac prekriva više od 2/3 krune, cervikalni dio zuba i dio korijena (K3). S obzirom na pregled gingive psi su podijeljeni u dvije skupine: gingiva bez promjena (G0) i klinički promijenjena gingiva (Gprom), gdje su promjene varirale od blage upale s promjenom u boji, blagim edemom i bez krvarenja, do umjerene upale sa zacrvenjenom i edematoznom gingivom koja krvari na dodir i izrazito upaljenom gingivom s prisutnim edemom, ulceracijama, koja spontano krvari.

### Prikupljanje uzoraka sline i analiza

Spontano izlučena slina sakupljala se u sterilne zubarske tampone koji su stavljeni u usnu šuplinu u područje četvrtog maksilarnog premolara obostrano s bukalne strane. Prilikom uzorkovanja čeljusti su morale biti zatvorene da se onemoguću gutanje tampona. Tampon se stavlja u epruvete SALIVETTE® (Sarstedt, Njemačka) s citratom. Neposredno nakon uzorkovanja epruvete su centrifugirane u centrifugi Centric 400r u trajanju od 30 minuta na 5000

rpm (Tehtnica, Slovenija). Uzorci sline potom su razrijeđeni destiliranom vodom u omjeru 1 : 1 i analizirani metodom apsorpcijske spektrofotometrije na aparatu VetTest (Idexx, SAD) pri čemu su mjereni sljedeći parametri: ALT, AST, ALP i ureja.

### Statistička analiza

Rezultati su obrađeni statistički, primjenom računalnog programa Statistica 2010 (Statistica, Tulsa, OK, USA) i prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija (SV  $\pm$  SD) te grafičkim prikazom. Normalnost distribucije provjerena je Shapiro-Wilksovom testom. Značajnost razlika između skupina K0, K1, K2 i K3, čije vrijednosti nisu slijedile normalnu raspodjelu, utvrđena je Kruskal-Wallisovom analizom varijance i potom je Dunnovim testom utvrđena značajnost razlika između pojedinih skupina. Značajnost razlika između skupina G0 i Gprom utvrđena je Mann-Whitneyevim U-testom. Razlike su se smatrale statistički značajnima ako je  $p < 0,05$ .

## REZULTATI

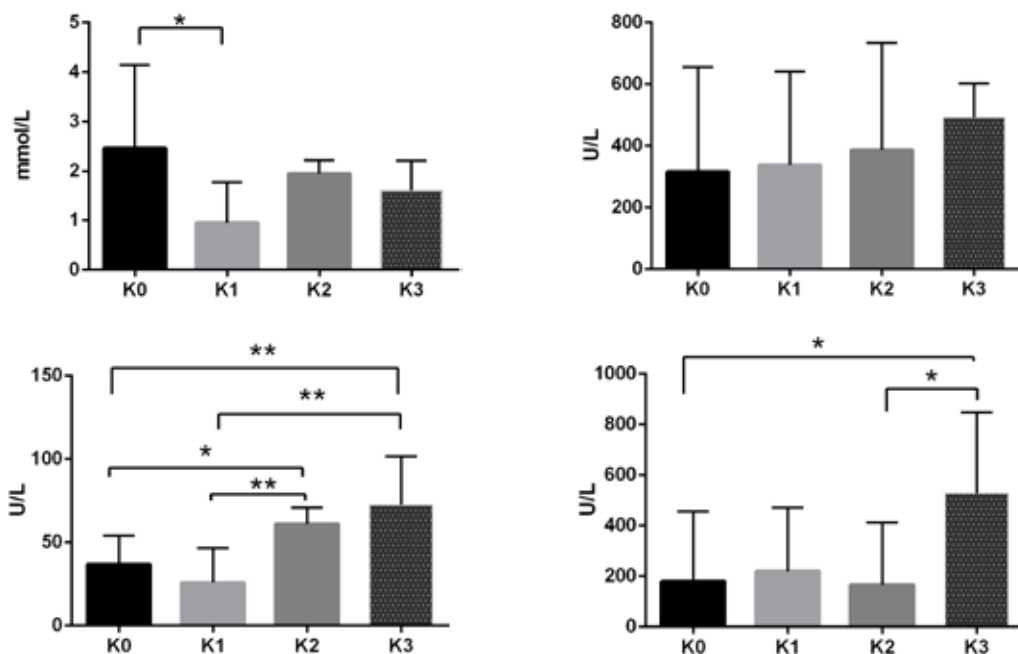
Vrijednosti enzima u slini: ALT, AST, ALP te ureje prikazane su u tablici 1 kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija. Na slici 1 grafički su prikazani rezultati usporedbe koncentracije biokemijskih parametara u slini pasa: ureja, ALT, AST, ALP, na temelju klasifikacije prema utvrđenom indeksu kamenca (K0 – indeks kamenca 0, K1 – indeks kamenca 1, K2 – indeks kamenca 2, K3 – indeks kamenca 3). Za koncentraciju ureje u slini utvrđena je statistički značajno viša vrijednost u skupini K0 u usporedbi s K1 ( $p < 0,05$ ), dok između preostalih skupina nije utvrđena statistički značajna razlika. Razina enzima ALT u slini nije se razlikovala među skupinama, dok je kod koncentracija enzima AST u slini utvrđena statistički značajna razlika između skupina K0 i K3 te K2 i K3, gdje je utvrđena značajno viša koncentracija enzima AST u skupini K3 ( $p < 0,05$ ). Koncentracija enzima ALP utvrđena je u znatno višoj koncentraciji u skupini K2 u usporedbi sa skupinama K0 i K1 te u skupini K3 ako ih usporedimo sa skupinama K0 i K1. Nadalje, utvrđene vrijednosti praćenih biokemijskih pokazatelje: ureje, ALT, AST i ALP prikazane su u dvije skupine prema kliničkom statusu gingive

**Tablica 1.** Biokemijski parametri u slini pasa: usporedba prema utvrđenom indeksu kamenca (K0 – indeks kamenca 0, K1 – indeks kamenca 1, K2 – indeks kamenca 2, K3 – indeks kamenca 3)

	K0	K1	K2	K3 <sup>1</sup>
Urea (mmol/L)	2,46 ± 1,68 <sup>a</sup>	0,85 ± 0,65 <sup>a</sup>	1,94 ± 0,27	1,6 ± 0,61
ALT (U/L)	315,8 ± 339,9	338 ± 302,8	386,9 ± 347,6	492,7 ± 109,3
AST (U/L)	179,2 ± 276,6 <sup>a</sup>	219,3 ± 252,3	165,3 ± 248 <sup>b</sup>	528 ± 319,1 <sup>ab</sup>
ALP (U/L)	36,8 ± 17,35 <sup>aA</sup>	25,75 ± 21 <sup>BC</sup>	61 ± 9,99 <sup>ab</sup>	72,5 ± 29,11 <sup>AC</sup>

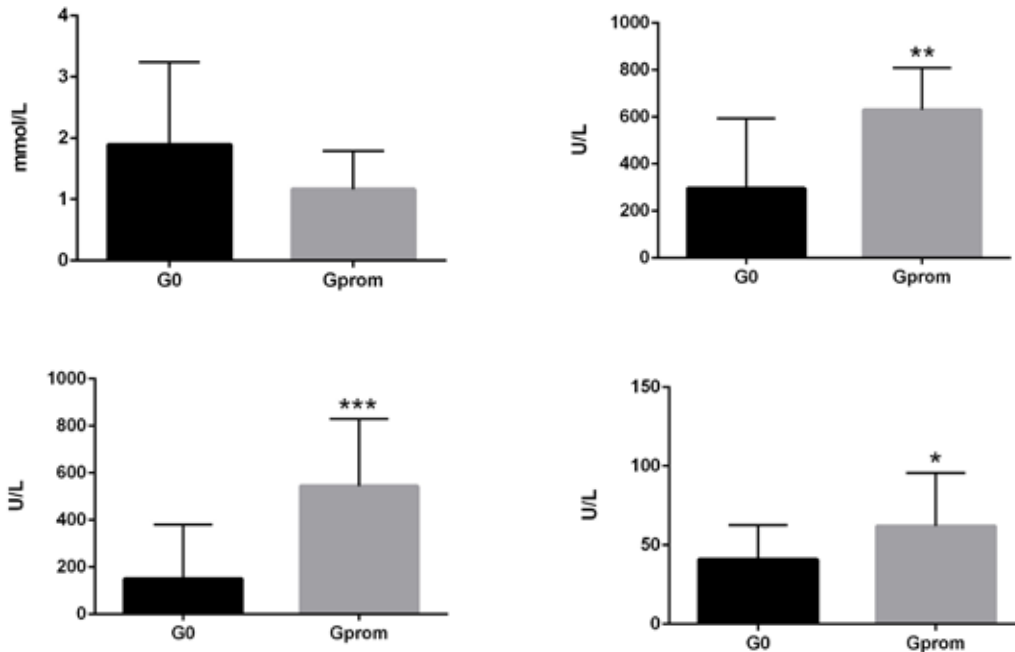
<sup>1</sup>SV, srednja vrijednost ± SD, standardna devijacija<sup>abc</sup>Jednako slovo označava značajne razlike (p < 0,05) između vrijednosti unutar istog retka.<sup>ABC</sup>Jednako slovo označava značajne razlike (p < 0,01) između vrijednosti unutar istog retka.

**Slika 1.** Grafički prikaz biokemijskih parametara u slini pasa na temelju usporedbe prema utvrđenom indeksu kamenca (K0 – indeks kamenca 0, K1 – indeks kamenca 1, K2 – indeks kamenca 2, K3 – indeks kamenca 3): a) koncentracija ureje; b) koncentracija ALT-a c) koncentracija AST-a d) koncentracija ALP-a. \* Statistička značajnost na razini p < 0,05; \*\* statistička značajnost na razini p < 0,01; \*\*\* statistička značajnost na razini p < 0,001.

**Tablica 2.** Biokemijski parametri u slini pasa: usporedba prema promjenama na gingivi (G0 –gingiva bez promjena; Gprom –gingivitis)

	G0	Gprom <sup>1</sup>
Urea (mmol/L)	1,89 ± 1,35	1,167 ± 0,63
ALT (U/L)	296,2 ± 297,3 <sup>A</sup>	630,3 ± 178,9 <sup>A</sup>
AST (U/L)	150,6 ± 230,2 <sup>a</sup>	544,8 ± 285 <sup>a</sup>
ALP (U/L)	40,91 ± 21,79 <sup>a</sup>	62 ± 33,74 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>SV, srednja vrijednost ± SD, standardna devijacija<sup>abc</sup>Jednako slovo označava značajne razlike (p < 0,05) između vrijednosti unutar istog retka.<sup>ABC</sup>Jednako slovo označava značajne razlike (p < 0,01) između vrijednosti unutar istog retka.



**Slika 2.** Grafčki prikaz biokemijskih parametara u slini pasa na temelju usporedbe prema promjenama na gingivi (G0 – gingiva bez promjena; Gprom – gingivitis): a) koncentracija uree; b) koncentracija ALT-a c) koncentracija AST-a d) koncentracija ALP-a. \* Statistička značajnost na razini  $p < 0,05$ ; \*\* statistička značajnost na razini  $p < 0,01$ ; \*\*\* statistička značajnost na razini  $p < 0,001$ .

(G0 i Gprom), kao srednja vrijednost  $\pm$  standardna devijacija u tablici 2 i grafičkim prikazom na slici 2 gdje su uspoređene skupine pasa kod kojih nije bilo promjene na gingivi (G0) i psi kod kojih je utvrđen gingivitis (Gprom) te su utvrđene statistički značajno više vrijednosti za enzime ALT ( $p < 0,01$ ), AST ( $p < 0,001$ ) i ALP ( $p < 0,05$ ) kod pasa s gingivitisom, dok za razinu ureje u slini nije utvrđena statistički značajna razlika među skupinama.

## RASPRAVA

Poput krvi, i slina je složena tekućina koja sadržava proteine, enzime, ione i druge molekule koje odražavaju fiziološki status organizma, stoga je u slini moguće odrediti i pratiti biomarkere poput enzima koji odražavaju upalni odgovor organizma (Aurer i sur., 2005.).

Enzim ALT ima vrlo važnu ulogu u metabolizmu aminokiselina, bjelančevina i ugljikohidrata. Lokaliziran je u citoplazmi stanica, a nalazi se u gotovo svim organima, osim u kostima i zubima. ALT je tipičan citoplazmatski enzim, a aktivnost mu se mijenja već pri promjeni propusnosti stanične membrane (Štraus, 2009.). Razina ALT-a nije odražavala opseg periodontitisa kod ljudi, no pri praćenju razine ALT-a u slini kod gingivitisa utvrđena je korela-

cija (Totani i sur., 2006.; Dabra i sur., 2012.). Prema tome, kod pasa u skupini kod koje je utvrđen gingivitis (Gprom) pronađena je viša razina ALT-a, no kada su psi uspoređeni s obzirom na razinu zubnog kamenca, nije utvrđena značajna razlika među skupinama. Razlog tomu je što indeks kamenca ne podrazumijeva visok stupanj oštećenja periodontalnih struktura i zbivanje upalnog procesa, no predisponirajući je faktor koji može dovesti do razvoja gingivitisa i periodontitisa. Razina ALT-a u slini može biti važan pokazatelj uspješnosti liječenja gingivitisa jer odražava stupanj staničnog oštećenja i upale tkiva (Nomura i sur., 2012.).

Enzim AST nalazi se u mnogim tkivima, uključujući srce, mozak, pluća, mišiće i bubrege. Što se tiče lokalizacije unutar same stanice, 40 % enzima nalazi se u citoplazmi, a 60 % u mitohondrijima, te su to ujedno i njegova dva izoenzima (Štraus, 2009.). Razina AST-a povezana je s aktivnom destrukcijom tkiva, pa tako i periodontalnog tkiva, jer se nalazi u citoplazmi te se oslobađa prilikom smrti stanica (Todorović i sur., 2006.). Varijacija koncentracije AST-a u slini, kada uspoređujemo različite stupnjeve razvoja periodontalnih bolesti kod ljudi, ne pokazuje značajnu povezanost s kliničkim parametrima kao što su stvaranje plaka i stupanj promjena na gingivi te krvarenja, no kod op-



sežnije kliničke slike gingivitisa i periodontitisa utvrđene su značajno više koncentracije AST-a u slini (Cesco Rde i sur., 2003.). Tijekom našeg istraživanja utvrđena je značajno viša razina AST-a kod pasa s gingivitisom u usporedbi sa psima čija gingiva nije bila klinički promijenjena, dok se razina AST-a u slini prilikom usporedbe pasa na temelju indeksa kamenca razlikovala između onih s najvišim indeksom (K3) i skupina K0 i K2. Taj podatak odgovara pretpostavci da je korelacija razine AST-a u slini između opsežnih periodontalnih promjena i zdravih jedinki veća od one zabilježene kod blažih promjena (Dewan i Bhatia, 2011.) Razina AST-a kod periodontitisa povezana je s promjenama tkiva zahvaćenih nekrozom. Naime, fibroblasti podrijetlom iz periodontalnog ligamenta stvaraju znatno manju količinu AST-a nego gingivalni epitel, rezultat čega je povećanje razine AST-a u slini kao posljedica citolize periodontalnih stanica i/ili krvarenja zubnog mesa (Totan i sur., 2006.). To je u skladu s istraživanjima koja dokazuju pozitivnu korelaciju inteziteta i opsega upale periodontalnih struktura i koncentracije AST-a u slini (Chambers i sur., 1991.; Totan i sur., 2006.; Podzimek i sur., 2016). Nakon provedbe terapije koja je rezultirala smanjenjem upale zahvaćenih struktura dolazi do pada razine AST-a u slini što ga čini pogodnim biomarkerom za praćenje uspješnosti terapije periodontalnih bolesti (Nomura i sur., 2012.).

Enzim ALP se u organizmu nalazi u multimolekularnim oblicima od kojih su neki izoenzimi, a drugi izoforme nastale nakon sinteze enzima, te se govori o jetrenom, koštanom, crijevnom, bubrežnom i placentarnom ALP-u (Štraus, 2009.). ALP je enzim membrana stanica koji hidrolizira veze monofosfatnih estera pri lužnatom pH, povećavajući koncentraciju fosfatnih iona lokalno, te ima bitnu ulogu u građi periodonta jer je fiziološki dio periodontalnog ligamenta, gradi korijen i održava čvrstoću zuba te sudjeluje u homeostazi kosti (Loos i Tjoa, 2005.). Povećanje koncentracije ALP-a u slini upućuje ne samo na prisutnost patološkog procesa nego i na destruktivne procese kojima je zahvaćena i alveolarna kost, upućujući na znatno uznapredovalu periodontalnu bolest s lošijom prognozom (Todorović i sur., 2006.; Yoshie i sur., 2007.). ALP u slini može biti podrijetlom i iz leukocitnih granula i iz mikroorganizama u usnoj šupljini,

uključujući gram-negativne uzročnike u subgingivalnom plaku. Zbog toga su kod gingivitisa i periodontitisa ljudi utvrđene značajno više razine ovog enzima u slini nego kod zdravih kontrola (Dabra i Singh, 2012.). Naime, ALP otpuštaju sekundarne granule neutrofila, a koncentracija mu značajno raste s taloženjem plaka i pojačanjem upale (Kumar i Sharma, 2011.). Važnost ALP-a kao upalnog biomarkera periodontalnih bolesti dokazali su Ishikawa i Cimasoni (1970.) utvrdivši značajnu korelaciju ( $r = 0,49$ ;  $p < 0,05$ ) razine ALP-a u tekućini iz gingivalnog sulkusa i dubinu gingivalnog sulkusa. U skladu s tim, nakon liječenja periodontitisa primijećeno je da se koncentracija ALP-a u slini kod ljudi smanjuje te su zabilježene vrijednosti na razini onih utvrđenih kod zdravih ljudi, što ga čini prikladnim biomarkerom za praćenje uspješnosti terapije periodontalnih bolesti (Zambon i sur., 1985.; Yan, 1995.; Numabe i sur., 2004.). Ti su rezultati u skladu s našim istraživanjem gdje su utvrđene značajno više koncentracije ALP-a u slini kod pasa s višim indeksom kamenca (K2 i K3) u usporedbi sa psima bez zubnog kamenca (K0) i kod pasa gdje je indeks kamenca bio 1 (K1). Također, razina ALP-a kod gingivitisa bila je značajno viša nego kod pasa čija gingiva nije pokazivala znakove upale.

Mjerenjem razine ureje u slini kod ljudi utvrđeno je da ima visoku osjetljivost i specifičnost u korelaciji s periodontalnim bolestima kod ljudi (0,62 i 0,63) te su utvrđene značajno više koncentracije u bolesnika s gingivitisom i periodontitisom (Nomura i sur., 2012.; Luke i sur., 2015.). No, u našem istraživanju ureja u slini nije pokazala karakteristike biomarkera periodontalnih bolesti kod pasa. Naime, u skupini pasa K0 utvrđena je značajno viša koncentracija ureje u slini u usporedbi sa skupinom K1, dok kod preostalih skupina nije zabilježena značajnost razlike u koncentracijama. Također, između skupina pasa s gingivom bez promjena (G0) i skupine kod koje je utvrđen gingivitis (Gprom) nisu zabilježene statistički značajne razlike. Razlike u rezultatu utvrđenom kod ljudi i onih kod pasa mogu se objasniti razlikom u sastavu i pH-vrijednosti sline čovjeka i psa, što upućuje na različit metabolizam žlijezda slinovnica između vrsta (Lavy i sur., 2012.). Također, na izlučivanje ureje putem slinskih žlijezda kod pasa utječe razina salivacije i mjesto prikupljanja sline jer je koncentracija

ureje različita u parotidnoj i mandibularno-sublingvalnoj slini, stoga sam postupak uzorkovanja kod subjekata uključenih u istraživanje može pridonijeti varijabilnosti rezultata (Zambon i sur., 1985.).

Enzimski biomarkeri iz sline određuju se u humanoj medicini kako bi se utvrdilo postoji li povezanost njihove razine i periodontalnih bolesti, no kod pasa slina se još uvijek premalo koristi kao dijagnostički medij. Također, do danas nije provedeno istraživanje koje bi dokazalo opravdanost korištenja upalnih biomarkera (ALT-a, AST-a, ALP-a i ureje) u slini. Rezultati provedenog istraživanja upućuju na značajne razlike u koncentraciji enzima među promatranim skupinama, dok kod ureje nisu zabilježeni rezultati na temelju kojih je moguće ustanoviti povezanost opsega periodontalne bolesti kod pasa i koncentracije ureje u slini.

## ZAKLJUČCI

1. Koncentracija enzimskih upalnih biomarkera, AST i ALP kod pasa odražava indeks zubnog kamenca i opravdava njihovo korištenje kao pouzdanih biomarkera u praćenju periodontalnih bolesti.
2. Razina ALT-a u slini kod pasa nije se razlikovala prema opsežnosti zubnog kamenca, stoga nije dovoljno osjetljiv biomarker u praćenju periodontalnih bolesti u početnom stadiju njihova nastajanja.
3. Razine enzimskih biomarkera (ALT, AST i ALP) u slini pasa pouzdan su biomarker kod upalnih promjena gingive stoga potvrđuju mogućnost korištenja psa kao modela gingivitisa kod ljudi.
4. Koncentracija ureje u slini pasa nije slijedila korelaciju dokazanu kod ljudi u svrhu praćenja periodontalnih bolesti, stoga se ne može smatrati prikladnim biomarkerom.
5. Jednostavni i robustni enzimski biomarkeri ALT, AST i ALP iz sline pasa pogodni su biomarkeri periodontalnih bolesti koji se mogu koristiti za praćenje uspjeha terapije te u istraživanju i razvoju novih pripravaka za lokalnu primjenu.

## LITERATURA

- ALBUQUERQUE, C., F. MORINHA, J. REQUICHA, T. MARTINS, I. DIAS, H. GUEDES-PINTO, E. BASTOS, C. VIEGAS (2012): Canine periodontitis: The dog as an important model for periodontal studies. *Vet. J.* 191, 299-305.
- AURER, A., K. JORGIC-SRDJAK, D. PLANCAK, A. STAVLJENIC-RUKAVINA, J. AURER-KOZELJ (2005): Proinflammatory factors in saliva as possible markers for periodontal disease. *Coll. Antropol.* 29, 435-439.
- BRINKMANN, O., L. ZHANG, W. V. GIANNOBILE, D. T. WONG (2011): Salivary biomarkers for periodontal disease diagnostics. *Exp. Opin. Med. Diagnost.* 5, 25-35.
- CESCO RDE, T., I. Y. ITO, R. F. DE ALBUQUERQUE (2003): Levels of aspartate aminotransferase (AST) in saliva of patients with different periodontal conditions. *J. Clin. Periodontol.* 30, 752-755.
- CHAMBERS, D. A., P. B. IMREY, R. L. COHEN, J. M. CRAWFORD, M. E. ALVES, T. A. MCSWIGGIN (1991): A longitudinal study of aspartate aminotransferase in human gingival crevicular fluid. *J. Periodontal. Res.* 26, 65-74.
- COLMERY, B., 3<sup>rd</sup>, P. FROST (1986): Periodontal disease. Etiology and pathogenesis. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.* 16, 817-833.
- DABRA, S., K. CHINA, A. KAUSHIK (2012): Salivary enzymes as diagnostic markers for detection of gingival/periodontal disease and their correlation with the severity of the disease. *J. Indian Soc. Periodontol.* 16, 358-364.
- DABRA, S., P. SINGH (2012): Evaluating the levels of salivary alkaline and acid phosphatase activities as biochemical markers for periodontal disease: A case series. *Dent. Res. J.* 9, 41-45.
- DEWAN, A., P. BHATIA (2011): Evaluation of aspartate aminotransferase enzyme levels in saliva and gingival crevicular fluid with periodontal disease progression - a pilot study. *J. Int. Oral. Health* 3, 19-24.
- FARNAUD, S. J., O. KOSTI, S. J. GETTING, D. RENSCHAW (2010): Saliva: physiology and diagnostic potential in health and disease. *Sci. World J.* 10, 434-456.
- HARVEY, C. E. (1998) : Periodontal disease in dogs. Etiopathogenesis, prevalence, and signif-

- icance. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 28, 1111-1128.
- HARVEY, C. E. (2005): Management of periodontal disease: understanding the options. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 35, 819-836.
  - HENNET, P. R., C. E. HARVEY (1992): Natural development of periodontal disease in the dog: a review of clinical, anatomical and histological features. *J. Vet. Dent.* 9, 13-19.
  - ISHIKAWA, I., G. CIMASONI (1970): Alkaline phosphatase in human gingival fluid and its relation to periodontitis. *Arch. Oral Biol.* 15, 1401-1404.
  - KUMAR, R., G. SHARMA (2011): Salivary Alkaline Phosphatase level as Diagnostic marker for periodontal disease. *J. Int. Oral. Health* 3, 81.
  - LAVY, E., D. GOLDBERGER, M. FRIEDMAN, D. STEINBERG (2012): pH values and mineral content of saliva in different breeds of dogs. *Isr. J. Vet. Med. Journal* 67, 244-248.
  - LEGEROS, R. Z., I. L. SHANNON (1979): The crystalline components of dental calculi: human vs. dog. *J. Dent. Res.* 58, 2371-2377.
  - LINDHE, J., S.-E. HAMP, H. LÖE (1975): Plaque induced periodontal disease in beagle dogs. *J. Periodontal Res.* 10, 243-255.
  - LOE, H. (1967): The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *J. Periodontol.* 38, 610-616.
  - LOOS, B. G., S. TJOA (2005): Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? *Periodontol.* 39, 53-72.
  - LUKE, R., S. N. KHAN, P. S. IQBAL, R. R. SOMAN, J. CHAKKARAYAN, V. KRISHNAN (2015): Estimation of Specific Salivary Enzymatic Biomarkers in Individuals with Gingivitis and Chronic Periodontitis: A Clinical and Biochemical Study. *J. Int. Oral. Health.* 7, 54-57.
  - MALAMUD, D., I. R. RODRIGUEZ-CHAVEZ (2011): Saliva as a Diagnostic Fluid. *Dent. Clin. North Am.* 55, 159-178.
  - MILLER, C. S., J. D. FOLEY, A. L. BAILEY, C. L. CAMPPELL, R. L. HUMPHRIES, N. CHRISTODOULIDES, P. N. FLORIANO, G. SIMMONS, B. BHAGWANDIN, J. W. JACOBSON, S. W. REDDING, J. L. EBERSOLE, J. T. MCDEVITT (2010): Current developments in salivary diagnostics. *Biomark. Med.* 4, 171-189.
  - MILLER, S. M. (1994): Saliva testing-a nontraditional diagnostic tool. *Clin. Lab. Sci.* 7, 39-44.
  - NOMURA, Y., Y. SHIMADA, N. HANADA, Y. NUMABE, K. KAMOI, T. SATO, K. GOMI, T. ARAI, K. INAGAKI, M. FUKUDA, T. NOGUCHI, H. YOSHIE (2012): Salivary biomarkers for predicting the progression of chronic periodontitis. *Arch. Oral Biol.* 57, 413-420.
  - NUMABE Y., A. HISANO, K. KAMOI, H. YOSHIE, K. ITO, H. KURIHARA (2004): Analysis of saliva for periodontal diagnosis and monitoring. *Periodontology.* 40, 115-119.
  - PAKNJAD M, A. REZAEI (2013): Salivary biochemical markers of periodontitis. *Rom. J. Biochem.* 50, 29-46.
  - PODZIMEK, S., L. VONDRACKOVA, J. DUSKOVA, T. JANATOVA, Z. BROUKAL (2016): Salivary Markers for Periodontal and General Diseases. *Dis. Markers* ID 9179632.
  - ŠTRAUS B. (2009): Enzimi. U: Štrausova Medicinska biokemija. (Čvorišćec D., I. Čepelak, Urednici), Medicinska naklada, Zagreb, str. 273-295.
  - TODOROVIĆ, T., I. DOZIĆ, M. VICENTE-BARRERO, B. LJUSKOVIĆ, J. PEJOVIĆ, M. MARJANOVIĆ, M. KNEŽEVIĆ (2006): Salivary enzymes and periodontal disease. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 11, 115-119.
  - TOTAN, A., M. GREABU, C. TOTAN, T. SPINU (2006): Salivary aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase: possible markers in periodontal diseases? *Clin. Chem. Lab. Med.* 44, 612-615.
  - YAN, F. (1995): Alkaline phosphatase level in gingival crevical fluid of peri-odontitis before and after periodontal treatment. *Chin. J. Stom.* 30, 255-266.
  - YOSHIE, H., H. TAI, T. KOBAYASHI, E. ODA-GOU, Y. NOMURA, Y. NUMABE, K. ITO, H. KURIHARA, K. KAMOI (2007): Salivary enzyme levels after scaling and interleukin-1 genotypes in Japanese patients with chronic periodontitis. *J. Periodontol.* 78, 498-503.
  - ZAMBON, J. J., M. NAKAMURA, J. SLOTS (1985): Effect of periodontal therapy on salivary enzymatic activity. *J. Periodontal Res.* 20, 652-659.

# Usporedba karakteristika LH valova u mliječnim krava podvrgnutih trima sinkronizacijskim protokolima

## Comparison of the LH wave characteristics in dairy cows subjected to three synchronization protocols

Bem, A.<sup>1\*</sup>, D. Jelenčić<sup>1\*</sup>, G. Štibrčić<sup>2</sup>, J. Kuleš<sup>3</sup>, R. Barić Rafaj<sup>4</sup>, J. Grizelj<sup>5</sup>, D. Špoljarić<sup>6</sup>, S. Vince<sup>5</sup>, B. Špoljarić<sup>5</sup>

### Sažetak

Primjenom metoda kontrolirane reprodukcije, početkom rasplodivanja, poboljšava se plodnost visokoproizvodnih mliječnih krava. Unatoč preciznoj tehnologiji i dugotrajnom iskustvu u primjeni indukcijsko-sinkronizacijskih protokola, malo se zna o osobinama LH pulsacijskih valova. Cilj istraživanja bio je ustanoviti svojstva predovulacijskih LH valova u krava podvrgnutih različitim protokolima s umjetnim osjemenjivanjem u točno određeno vrijeme (UO). Korišteni su arhivski podaci iz istraživanja provedenog na 60 krava holštajnsko-frizijske pasmine, u ranoj laktaciji, podijeljenih u tri skupine: skupina A podvrgnuta je modificiranom Double Ovsynchu (DO), skupina B modificiranom Presynchu (PS), dok je skupina C podvrgnuta Ovsynch (OV) protokolu. Životinjama su uzimani uzorci krvi za određivanje LH ( $n = 15$ ) i progesterona ( $n = 60$ ). Sve krave umjetno su osjemenjene 6 i 24 sata nakon druge injekcije GnRH. U krava skupine B postotak steonih krava 30 dana poslije umjetnog osjemenjivanja (UO) bio je viši ( $p < 0,10$ ) u odnosu na krave iz drugih dviju skupina (B : A : C = 47,37 % : 29,41 % : 21,05 %). Pad postotka steonih krava 60. dan poslije UO-a bio je izrazitiji u krava skupine B (47,36 % : 31,58 %), a blaži u skupine C (21,05 % : 15,79 %), što sugerira da je prevalencija kasnih embrionalnih i fetalnih uginuća možda viša u PS i OV protokolu u odnosu na DO. Samo su krave iz skupine A ( $p < 0,001$ ) imale dominantni folikul optimalne veličine, dok je u ostale dvije skupine promjer znatno premašio tu vrijednost. Kod primjene svih triju protokola snažno je izražena grupiranost koncentracije progesterona nakon aplikacije PGF<sub>2α</sub> (vrijednosti ispod 0,5 ng/mL u više od 50 % krava). Signifikantna ( $p < 0,01$ ) bila je razlika razine LH nulti sat između skupine C ( $6,12 \pm 1,16$  ng/mL) i B ( $1,84 \pm 1,16$  ng/mL). Četiri sata poslije, razina skupine A značajno odstupa u odnosu na skupine B i C ( $p < 0,01$ ), s tim da krave iz skupine C i dalje imaju najvišu koncentraciju LH. Ovulacija je ultrazvučno potvrđena kod svih krava, osim kod jedne iz skupine C, koja je kasnije i izlučena iz rasploda.

### Abstract

The fertility of high-yielding dairy cows may be improved by use of controlled reproduction methods at the beginning of breeding. Despite the precise technology and long-term experience in induction-synchronization protocols, little is known about the characteristics of LH pulse waves. The goal of this research was to determine the characteristics of LH waves in cows subjected to different synchronization protocols with timed artificial insemination (TAI). The archive data were used from research on 60 Holstein-Friesian breeds, in early lactation. The cows were divided into three groups:



<sup>1</sup> studentice, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu  
<sup>2</sup> dr. sc. Goran Štibrčić, farma mliječnih krava „Veliki Zdenci“, Veliki Zdenci, Hrvatska  
<sup>3</sup> dr. sc. Josipa Kuleš, FP7 ERA Chair projekt VetMedZg; Klinika za unutarnje bolesti, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu  
<sup>4</sup> prof. dr. sc. Renata Barić Rafaj, Zavod za kemiju i biokemiju, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu  
<sup>5</sup> prof. dr. sc. Juraj Grizelj; izv. prof. dr. sc. Silvijo Vince, doc. dr. sc. Branimira Špoljarić, Klinika za porodništvo i reprodukciju, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu  
<sup>6</sup> doc. dr. sc. Daniel Špoljarić, Zavod za veterinarsku biologiju, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu

\*e-mail:  
 antonia.bem@gmail.com,  
 dina.jelencic@gmail.com

**Ključne riječi:** mliječe krave, sinkronizacija, ovulacija, LH, progesteron

**Key words:** dairy cows, synchronization, ovulation, LH, progesterone



group A was subjected to a modified Double Ovsynch (DO) protocol, group B modified Presynch (PS), while group C was subjected to Ovsynch (OV). Blood samples were taken from the animals to determine LH (n=15) and progesterone (n=60). All cows were artificially inseminated at 6 and 24 hours after the second injection of GnRH. In group B, the percentage of pregnant cows 30 days after TAI was higher ( $P < 0.10$ ) than in cows from the other two groups (B: A: C = 47.37% : 29.41% : 21.05%). The decrease in the percentage of pregnant cows 60 days after TAI was more pronounced in group B (47.36% : 31.58%) and milder in group C (21.05% : 15.79%), suggesting that the prevalence of late embryonic and foetal mortality may be higher in the PS and OV protocols, compared to the DO protocol. Only cows from group A ( $P < 0.001$ ) had a dominant follicle of optimal size, while in the other two groups the diameter significantly exceeded that value. Progesterone concentration was strongly grouped after PGF $2\alpha$  application in all three protocols, with values below the 0.5 ng/mL in more than 50 % of animals. There was a significant ( $P < 0.01$ ) difference between LH at zero hour between groups C ( $6.12 \pm 1.16$  ng/mL) and B ( $1.84 \pm 1.16$  ng/mL). Four hours later, the level of LH in group A significantly deviated in relation to groups B and C ( $P < 0.01$ ), whereas cows from group C still had the highest concentration of LH. Ovulation was ultrasonically confirmed in all cows, except for one from group C, which was later culled.

## UVOD

Primjenom odgovarajućeg sinkronizacijskog programa stimulira se plodnost visokoproduktivnih mliječih krava u ranom i kasnijem puerperiju (Wiltbank i Pursley, 2014.). Sredinom 1990. godine, nakon primjene Ovsyncha u mliječnom, ali i u mesnom govedarstvu, uvedeni su brojni novi protokoli s umjetnim osjemenjivanjem (UO) u točno određeno vrijeme. Neznatne, ali i bitnije preinake originalnog Ovsynch protokola dovele su do konfuzije među farmerima i stručnjacima u vezi s izborom najboljeg postupka. U visokomliječnih krava reprodukcijski su rezultati vrlo loši u više aspekata: postotku plodnosti, detekciji estrusa, anestriji, produljenom međutelidbenom razdoblju. Mnoge su farme zbog loših rezultata detekcije estrusa uvele sustave s UO-om neposredno nakon perioda počeka (Washburn i sur., 2002.; Lopez i sur., 2005.; Meadows i sur., 2005.; Wiltbank i sur., 2006.; Pulley i sur., 2015; Gereš, 2016.). Jedan od zadataka je u fazi rasplodivanja optimizirati veličinu maturiranog folikula, što je u korelaciji s vremenom pojave i karakteristikama LH pulsacije neposredno prije UO-a, vezano uz indukciju luteolize, kao i vrijeme aplikacije druge injekcije GnRH neposredno prije UO-a (Lucy, 2007.). Neposredno pred ovulaciju raste LH koji uzrokuje ovulaciju (Rajamahendran i sur., 1989.).

Koncentracija progesterona snižava se prije UO-a, tj. u vrijeme selekcije folikula, zbog porasta koncentracije FSH (Wiltbank i sur., 2000.;

Lopez i sur., 2005). Premda porast koncentracije progesterona prije UO-a pozitivno utječe na koncepciju, u odnosu na krave s niskom razinom progesterona ( $p < 0,001$ ), utječe i na porast postotka blizanaštva, što nije poželjno, kao i na porast postotka embrionalno-fetalnih uginuća (Fonseca i sur., 1983.). Koncentracija progesterona nakon UO-a može biti viša u krava koje su prije UO-a imale nisku razinu (2,9 ng/mL : 2,5 ng/mL) i upravo je ta elevacija poželjna (Bisinotto i sur., 2010.) jer sugerira važnost porasta progesterona u vrijeme završnice folikularnog vala.

Cilj je ovog rada utvrditi svojstva predovulacijskih LH valova u krava uključenih u tri ispitivana sinkronizacijska protokola s UO-om u točno određeno vrijeme. U tu se svrhu pratila incidenca spontanah i GnRH-induciranih LH valova, koncentracija LH na vrhuncu vala te vrijeme do nastanka vrhunca vala. Uz to, analizirat će se i uspjeh koncepcije, koncentracija progesterona, te promjer dominantnog folikula kao dodatne metode usporedbe učinka ispitivanih protokola.

## MATERIJALI I METODE

U radu su korišteni arhivski pohranjeni podaci, dobiveni iz istraživanja provedenog tijekom 2013. godine na 60 krava holštajnsko-frizijske pasmine. Krave su bile podijeljene slučajnim izborom u tri skupine po 20 životinja u fazi rasplodivanja. Prva GnRH aplikacija u Ovsynch protokolu (u sva tri istraživana modela) u po-

četku rasplodivanja bila je  $66 \pm 5,7$  dana nakon porođaja, uz prosječan indeks tjelesne kondicije  $2,83 \pm 0,22$ , prema Ferguson i sur. (1994.). U skupini A i C većina krava bila je u prvoj laktaciji (80, odnosno 60 %), dok su u skupini B većinu činile multiparne krave (80 %, prosječan broj laktacije 2,5). Skupine A i B bile su podvrgnute presinkronizacijskim protokolima, dok je skupina C bila kontrolna, podvrgnuta standardnom sinkronizacijskom protokolu Ovsynch.

Standardni Ovsynch protokol počinjao je aplikacijom GnRH nulti dan, PGF $2\alpha$  7. dan, GnRH 9. dan (GnRH-2), te su krave dvokratno umjetno osjemenjivane 6 i 24 h nakon aplikacije GnRH-2. U skupini A primjenjivala se presinkronizacija modificiranim Double Ovsynch protokolom, koji se sastojao od aplikacije GnRH -9. dan (nultim danom smatrao se dan kada počinje Ovsynch protokol), potom PGF $2\alpha$  - 2. dan i 0. dan je počeo Ovsynch protokol. Krave iz skupine B presinkronizirane su modificiranim Presynch protokolom, jednokratnom aplikacijom PGF $2\alpha$  na -2. dan, a početak Ovsynch protokola bio je dva dana nakon toga. Sve su krave osjemenjene dvokratno, 6 i 24 h nakon GnRH-2 u Ovsynch protokolu, duboko zamrznutim sjemenom bika kojeg je odabrao upravitelj farme.

Svim su kravama uzimani uzorci krvi venske punkcijom repne ili jugularne vene prilikom svake aplikacije hormona, za analizu koncentracije progesterona, počevši s danom početka protokola u skupini A (-9. dan). Steonost se utvrđivala dvokratno, 30 dana nakon UO-a ultrazvučnim transrektalnim pregledom (PR $_{30}$ ) i 60 dana nakon UO-a (PR $_{60}$ ), gdje se potvrđuje steonosti radila ultrazvučno i rektalnim pregledom.

Iz svake je skupine slučajnim odabirom odabrano po 5 krava kojima je uzorkovana krv za određivanje razine LH, svaka 4 sata, počevši od termina aplikacije GnRH-2 sve do ultrazvučne potvrde ovulacije. Uzorci krvi centrifugirani su odmah na farmi, a serumu zamrznuti do analiza u laboratoriju. Istim je kravama ultrazvučnim pregledom jajnika praćena ovulacija te se mjerio promjer dominantnog folikula mjerenjem dvaju najširih polova folikularne šupljine. Kao rezultat uzet je promjer veće širine.

Analiza LH izrađena je metodom ELISA s dvostrukim protutijelima (*sandwich*-tehnika), a korišten je kit LH Detect Bovine (ReproPharm SAS, INRA centre de Tours – PRC, Nouzilly, Fran-

cuska). Analiza je izrađena na Zavodu za kemiju i biokemiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Referentna linija za vrhunac LH vala izračunata je tako da su bazalnoj vrijednosti LH pribrojene dvije standardne devijacije, a prva koncentracija LH koja je prešla tako dobivenu vrijednost smatra se početkom vrhunca lučenja LH (Roelofs i sur., 2004.).

Koncentracija progesterona u serumu određena je standardnim komercijalnim paketom reagensa (Access Progesterone, Beckman Coulter Inc., Ireland) na analizatoru UniCel DxI 600 (Beckman Coulter, Tokyo, Japan), u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku u Kliničkoj bolnici Dubrava u Zagrebu.

Arhivirani podaci obrađeni su statističkim programom SAS 9.4. (Statistical Analysis Software 2002-2012 by SAS Institute Inc., Cary, SAD), uz pomoć modula PROC MEANS, PROC UNIVARIATE i PROC FREQ za deskriptivnu statistiku te PROC GLIMMIX za analizu vjerojatnosti razlika koncentracije hormona progesterona i LH. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost najmanjih kvadrata (engl. *least square means*, LSM) i standardna pogreška aritmetičke sredine (engl. *standard error mean*, SEM). Razlika uspjeha koncepcije i nastanka inducirano u odnosu na spontani LH val obrađena je s PROC FREQ uz pomoć hi-kvadrat i Fisherova testa.

## REZULTATI

Tablica 1. prikazuje postotak steonih krava 30 dana (PR $_{30}$ ) i 60 dana (PR $_{60}$ ) nakon umjetnog osjemenjivanja. Pri prvoj dijagnostici 30. dana poslije UO, najviši pototak steonosti bio je u krava iz skupine B, te postoji tendencija k statistički značajnoj razlici u odnosu na krave iz skupine C. No, unutar skupine B bio je i najveći postotak embrionalnih uginuća, iako u krava iz svih triju skupina prilikom detekcije 60. dana nije bilo značajnih razlika u postotku steonosti.

U tablici 2. prikazana je koncentracija progesterona u krava odabranih za analizu LH na sve dane aplikacije hormona. Razina progesterona bitno se ne razlikuje među skupinama. Tablica 3. prikazuje koncentraciju progesterona kod svih krava u pokusu. Signifikantna razlika je uočljiva nulti (0.) dan između krava iz skupina A i B u odnosu na skupinu C ( $p < 0,01$ ), gdje je početna koncentracija progesterona u skupini A  $0,15 \pm$

**Tablica 1.** Postotak gravidnih krava 30 ( $PR_{30}$ ) i 60 ( $PR_{60}$ ) dana nakon umjetnog osjemenjivanja

Grupa/ % gravidnih krava	$PR_{30}$	$PR_{60}$
A	29,41 <sup>ab</sup>	29,41
B	47,37 <sup>a</sup>	31,58
C	21,05 <sup>b</sup>	15,79

<sup>a,b</sup> Vrijednosti obilježene različitim slovima pokazuju tendenciju k statistički značajnoj razlici ( $p < 0,10$ ).

**Tablica 2.** Koncentracija progesterona (ng/mL) kod krava odabranih za analizu LH (srednja vrijednost najmanjih kvadrata  $\pm$  standardna pogreška srednje vrijednosti)

Grupa/dan	-9	-2	0	7	9
A	1,28 $\pm$ 0,90	2,68 $\pm$ 0,90	0,07 $\pm$ 0,90	2,49 $\pm$ 0,90	0,50 $\pm$ 0,90
B	2,62 $\pm$ 0,90	4,57 $\pm$ 0,90	0,14 $\pm$ 0,90	2,56 $\pm$ 0,90	0,53 $\pm$ 0,90
C	2,56 $\pm$ 0,90	3,13 $\pm$ 0,90	1,99 $\pm$ 0,90	2,14 $\pm$ 0,90	1,05 $\pm$ 0,90

**Tablica 3.** Koncentracija progesterona (ng/mL) kod svih krava u pokusu (srednja vrijednost najmanjih kvadrata  $\pm$  standardna pogreška srednje vrijednosti)

Grupa/dan	-9	-2	0	7	9
A	2,76 $\pm$ 0,56	2,77 $\pm$ 0,56	0,15 $\pm$ 0,56 <sup>a</sup>	2,38 $\pm$ 0,57	0,69 $\pm$ 0,59
B	2,10 $\pm$ 0,54	3,01 $\pm$ 0,57	0,43 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	2,99 $\pm$ 0,54	0,35 $\pm$ 0,54
C	3,15 $\pm$ 0,54	2,52 $\pm$ 0,54	2,71 $\pm$ 0,54 <sup>b</sup>	3,27 $\pm$ 0,54	0,50 $\pm$ 0,54

<sup>a,b</sup> Vrijednosti obilježene različitim slovima međusobno se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,01$ ).

**Tablica 4.** Koncentracija LH (ng/mL) po satima vađenja krvi nakon druge aplikacije GnRH, prema ispitivanim protokolima (srednja vrijednost najmanjih kvadrata  $\pm$  standardna pogreška srednje vrijednosti)

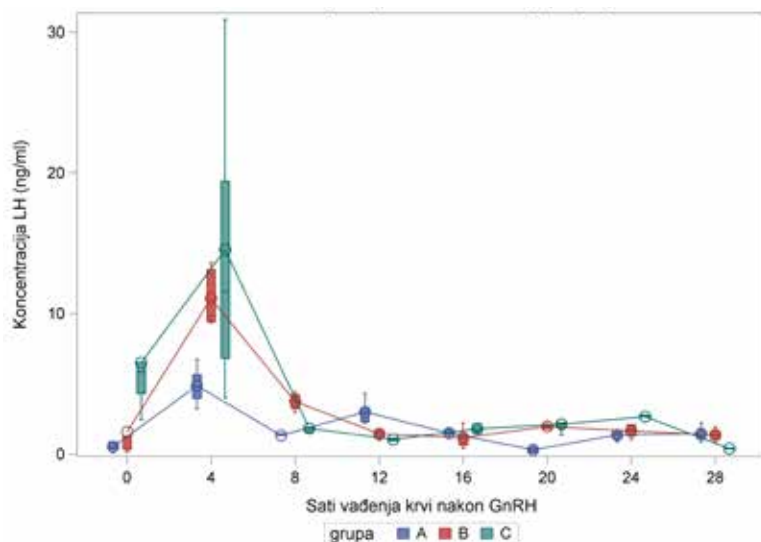
Grupa/sat vađenja	0	4	8	12	16	20	24	28
A	0,71 $\pm$ 1,20 <sup>a</sup>	5,05 $\pm$ 1,20 <sup>a</sup>	1,50 $\pm$ 1,20	3,17 $\pm$ 1,20	1,67 $\pm$ 1,20	0,48 $\pm$ 1,20	1,53 $\pm$ 1,20	1,63 $\pm$ 1,20
B	1,84 $\pm$ 1,16 <sup>a</sup>	11,32 $\pm$ 1,17 <sup>b</sup>	3,98 $\pm$ 1,17	1,69 $\pm$ 1,17	1,41 $\pm$ 1,16	2,23 $\pm$ 1,17	1,90 $\pm$ 1,17	1,48 $\pm$ 1,32
C	6,12 $\pm$ 1,16 <sup>b</sup>	14,14 $\pm$ 1,16 <sup>b</sup>	1,44 $\pm$ 1,16	0,66 $\pm$ 1,16	1,41 $\pm$ 1,16	1,75 $\pm$ 1,16	1,48 $\pm$ 1,32	0,01 $\pm$ 1,16

<sup>a,b</sup> Vrijednosti obilježene različitim slovima međusobno se statistički značajno razlikuju ( $p < 0,01$ ).

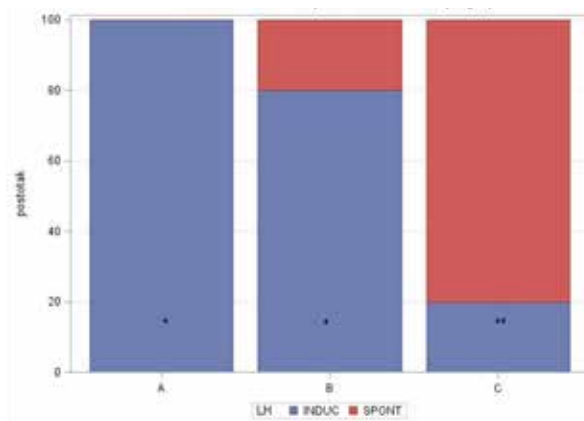
0,56 ng/mL i B 0,43  $\pm$  0,54 ng/mL niža nego u skupini C gdje je iznosila 2,71  $\pm$  0,54 ng/mL.

U tablici 4 prikazana je koncentracija LH (ng/mL) po satima venepunkcije poslije GnRH-2, po skupinama. Na koncentraciju LH po skupinama i

vremenu venepunkcije značajno utječe promjer dominantnog folikula ( $p < 0,001$ ) te termin venepunkcije nakon aplikacije GnRH-2 u Ovsynchu ( $p < 0,001$ ). Statistički je značajna razlika koncentracije LH nulti sat uzorkovanja krvi, između



**Slika 1.** Koncentracija LH (ng/mL) po satima vađenja po skupini.



**Slika 2.** Postotak krava sa spontanom i/ili induciranim LH valom.

\*,\*\* Vrijednosti obilježene različito se međusobno značajno razlikuju ( $p < 0,05$ )

skupina A i B u odnosu na skupinu C ( $p < 0,01$ ), gdje je u skupini C bila najviša i u prosjeku iznosila  $6,12 \pm 1,16$  ng/mL. Četiri sata poslije GnRH-2 koncentracija LH u skupini A značajno je niža u odnosu na krave iz skupina B i C ( $p < 0,01$ ), uz napomenu da je skupina C bila s najvišom razinom LH. Nakon toga, koncentracije se ujednačavaju i više nema statistički značajne razlike.

Slika 1. prikazuje kretanje koncentracije LH nakon aplikacije GnRH-2 za sve tri ispitivane skupine. U skupini C porast LH vala zabilježen je već u vrijeme aplikacije GnRH-2, dok je kod krava skupina A i B vrhunac zabilježen 4 h nakon aplikacije GnRH-2. U skupini A 12 h poslije opet se pojavljuje rast koji prelazi referentnu liniju za određivanje vrhunca lučenja.

Na slici 2 prikazan je postotak krava s induciranim, odnosno spontanom LH valom. Kod krava

skupine C ovulacija se pojavila prije aplikacije GnRH-2 u Ovsynchu ( $p < 0,05$ ), što je dokaz da je LH val u 80 % krava skupine C počeo spontano.

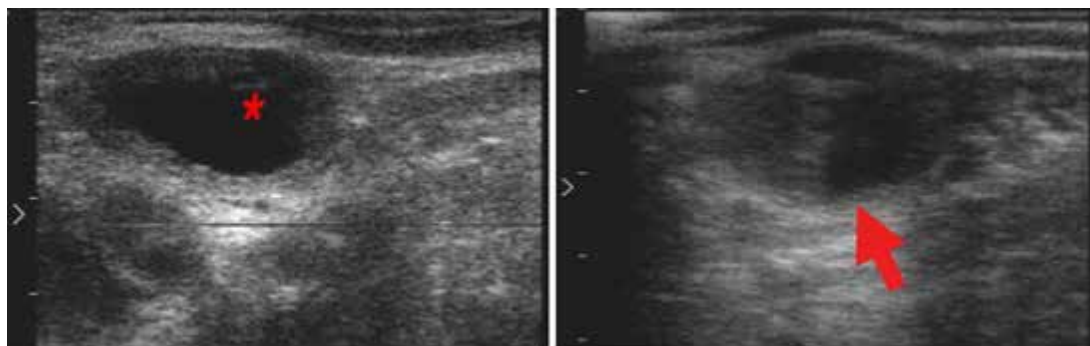
U tablici 5 prikazani su promatrani čimbenici za usporedbu primijenjenih presinkronizacijskih i kontrolnog protokola. Više od 50 % krava iz svake skupine imalo je nakon aplikacije PGF2 $\alpha$  koncentraciju progesterona nižu od 0,5 ng/mL. Samo su krave skupine A imale dominantni folikul optimalne veličine, dok je u ostale dvije skupine bio značajno većeg promjera ( $p < 0,001$ ). Najviše izmjerene koncentracije LH pulsacijskog vala statistički su se značajno razlikovale između skupine A u odnosu na krave iz skupina B i C ( $p < 0,01$ ). Ovulacija je ultrazvučno detektirana u svih (slika 3), osim jedne krave iz skupine C, koja je ionako kasnije izlučena.



**Tablica 5.** Promatrani čimbenici za usporedbu ispitivanih protokola

Čimbenici/skupina	A	B	C	P
Progesteron (ng/mL) (na D9)	0,07	0,14	1,99	
Progesteron < 0,5 ng/mL na D9 (% krava)	60	60	60	
Veličina folikula (mm)	17,6	27,4	28,2	<0,001
LH val (n krava)	5	5	5	
GnRH-inducirani LH (n krava)	5	4	1	<0,05
Najviša koncentracija LH (ng/mL)	5,05	11,32	14,14	<0,01
Vrijeme pojave (od GnRH-2)	4	4	0	
Ovulacija (n krava)	5	5	4	

**Slika 3.** Ultrazvučna potvrda ovulacije dominantnog folikula na jajniku 18 sati (lijevo) i 24 sata (desno) nakon GnRH-2 (\* označava dominantni folikul, a strelica CL u nastajanju)



## RASPRAVA

Cilj rada bio je ustanoviti osobine predovulacijskih LH valova kod krava tretiranih dvama presinkronizacijskim protokolima (skupina A: modifikacija Double Ovsyncha, skupina B: modifikacija Presyncha) u odnosu na kontrolnu skupinu C, u kojoj su krave tretirane standardnim Ovsynch protokolom, i to usporedbom incidencije induciranih u odnosu na spontane LH valove, praćenjem koncentracije LH vala i vremenom pojave vrhunca pulsacije. U postupku su registrirani postotak steonosti, promjer dominantnog folikula, razina i distribucija koncentracije progesterona tijekom faza sinkronizacijskih protokola (Špoljarić, 2015., Štibrić, 2017.).

Sukladno Pulley i suradnicima (2015.), GnRH inducirani LH val pojavljuje se u više od 90 % krava kojima je progesteron nakon aplikacije PGF2 $\alpha$  bio nizak (< 1 ng/mL), što je u skladu s našim rezultatima istraživanja, gdje je kod svih krava skupine A i većine krava skupine B došlo

do inducirane pojave LH vala, a koncentracija progesterona bila je ispod 0,5 ng/mL, uz visoku distribuciju, što je u skladu s istraživanjem Štibrića (2017.). Spontani LH val pojavio se u skupini C i samo kod jedne krave skupine B. Incidencija spontanog LH valova veća je u krava presinkroniziranih s dvije aplikacije PGF2 $\alpha$  u razmaku od 10 dana, nego kod krava koje su primile GnRH u presinkronizaciji. Te su krave pokazivale tendenciju ranijoj pojavi LH vala ( $p = 0,114$ ) (Stevenson i sur., 1987.; Stevenson i sur., 2006.). Naši su podaci u skladu s navedenima jer je u skupini B, koja je presinkronizirana modificiranim Presynch protokolom (jedna aplikacija PGF2 $\alpha$ ), došlo do pojave spontanog LH vala u jedne krave. No, krave koje su u presinkronizaciji primile dodatni GnRH imale su više koncentracije LH nego krave bez GnRH (Pulley i sur., 2015.). U našem istraživanju krave skupine C, koje su imale spontanu pojavu LH vala, imale su i najviše koncentracije LH, za razliku od Pulley i suradnika (2015.) gdje su krave presinkronizirane s PGF2 $\alpha$  i sa spon-

tanom pojavom LH imale niže koncentracije LH vrhunca u usporedbi s induciranim LH. S obzirom na to da se u skupini C nalazi jedina krava koja u pokusu nije ovulirala, a koja ima najviše koncentracije LH, vjerojatno je riječ o folikularnoj cisti, jer krave s folikularnim cistama imaju više koncentracije pri vrhuncu LH vala (Kittok i sur., 1973.). Lucy i Stevenson (1986.) opisuju pojavu LH vala u svih tretiranih junica i krava nakon pre-sinkronizacije s PGF2 $\alpha$  u razmaku od 11 dana te aplikacijom GnRH 72 h nakon drugog PGF2 $\alpha$ , ali sa 61 % spontanih LH valova.

U literaturi su opisani rasponi razina LH, od 2,19 do 5,24 ng/mL (Pulley i sur., 2015.); 0,6 – 6,7 ng/mL (Lucy i Stevenson, 1986.); 9,6 ng/mL nakon 50 $\mu$ g GnRH odnosno 21,6 ng/mL nakon 100  $\mu$ g GnRH (Souza i sur., 2009.), a razlike su vjerojatno posljedica različitih LH standarda, korištenih GnRH analoga i učestalosti uzorkovanja krvi. Frekvencija LH pulseva povećana je u krava s rastućim folikulom u odnosu na krave s perzistentnim folikulom (Ahmad i sur., 1996.). Nadalje, učinak u stimuliranju ovulacije i otpuštanju LH vala slabiji je u tovnih u odnosu na mliječna goveda (Martinez i sur., 2003.).

Do ovulacije dolazi u kratkom periodu između 24 i 32 sata nakon aplikacije GnRH, što je ustanovljeno ultrazvučnim pregledom jajnika svaka dva sata (Wiltbank i Pursley, 2014.). U kontrolnih skupina LH val se pojavljivao 52 do 104 h poslije aplikacije PGF2 $\alpha$  (Pulley i sur., 2015.), dok se najraniji LH val poslije PGF2 $\alpha$  opaža 36 do 48 h (Twagiramungu i sur., 1992.; Walkeri sur., 1996., Špoljarić, 2015.). Navedeno je u skladu i s našim rezultatima, gdje je do spontane pojave LH vala došlo unutar 48 h od aplikacije PGF2 $\alpha$ . Kod krava kojima je LH val bio induciran aplikacijom GnRH-2, vrhunac se pojavio 4 sata nakon spomenute aplikacije.

Postotak steonih krava bio je najveći u skupini B, dok u skupini A odgovara klasičnom postotku poslije Ovsyncha. Što se tiče skupine B, inicijalni se uspjeh može usporediti s uspjehom koncepcije poslije UO-a na detektirani estrus (Rabiee i sur., 2005.). U skupini C je postotak gravidnih životinja uvjerljivo najniži, zbog preuranjenih ovulacija i početka sinkronizacije u neodgovarajućoj fazi ciklusa. Naime, u svrhu kontrole pojave LH vala i ovulacije, posljednja doza GnRH trebala bi biti aplicirana kravama

prije spontane pojave LH vala, kako bi UO rezultirao sličnim postotkom steonih krava kao kod osjemenjivanja pri opaženom estrusu (Peters i Pursley, 2002.). Snižena je plodnost opažena i u krava s malim porastom koncentracije progesterona prije UO-a, vjerojatno zbog nekompletne razgradnje CL-a, koja je opažena u 10 do 25 % krava tretiranih Ovsynchom (Martins i sur., 2011.; Giordano i sur., 2012a). U našem istraživanju krave skupine C imaju višu koncentraciju progesterona prije UO-a u odnosu na krave skupina A i B, iako ne statistički značajno. Cirkulirajuće razine progesterona mogu tijekom Ovsynch protokola biti preniske za optimalnu plodnost, pogotovo u anovulacijskih mliječih krava, u krava blizu estrusa, u ranoj lutealnoj fazi, ali čak i u kasnoj lutelanoj fazi ako dođe do regresije CL-a prije aplikacije PGF2 $\alpha$  (Štibrić, 2017.). Kod anovulacijskih krava ili krava kojima je Ovsynch započinjan u vrijeme niske koncentracije progesterona opažena je slabija plodnost (Bisinotto i sur., 2010.). Nadalje, vrhunac LH vala uvelike je smanjen ako se GnRH daje u prisutnosti povišenog progesterona (Giordano i sur., 2012b.).

Souza i suradnici (2007.) dokazali su da krave kod kojih dolazi do ovulacije dominantnog folikula najvećeg promjera 15 – 19 mm imaju veći postotak steonosti (47,4 %) u odnosu na krave kod kojih dolazi do ovulacije dominantnog folikula promjera manjeg od 14 mm (36,2 %) ili većeg od 20 mm (38,2 %), ali da ukupno manje od 50 % krava ovulira iz dominantnih folikula optimalne veličine. Naši podaci nisu u skladu s navedenim jer su krave skupine A, s dominantnim folikulom optimalne veličine, imale manji postotak steonosti od krava čiji su folikuli premašivali promjer od 20 mm (skupina B). Produljen rast i životni vijek dominantnog folikula za trajanja nižih koncentracija progesterona posljedica je povećane stimulacije od strane LH (Ahmad i sur., 1996.). S obzirom na koncentracije LH vala u skupini A, koje su preko referentne vrijednosti prelazile dva puta, vjerojatno je riječ o produljenoj pulsaciji LH vala (Špoljarić, 2015.), a postoji rastući broj dokaza o kompromitiranoj sposobnosti oocite unutar perzistentnog folikula, najvjerojatnije zbog njezine izloženosti produljenom periodu LH pulseva od 1 pulsa svaka 1 – 2 sata, i zbog abnormalno visoke intrafolikularne koncentracije estradiola (Austin i sur., 1999.).

## ZAKLJUČCI

Modificirani Presynch protokol rezultirao je najvišim postotkom steonih krava, međutim pad postotka steonosti 60. dana sugerira da je prevalencija kasnih embrionalnih i fetalnih uginuća viša u modificiranom Presynch i Ovsynch protokolu u odnosu na modificirani Double Ovsynch. Sva su tri ispitivana protokola bila učinkovita u indukciji ovulacije u mliječih krava. Rezultati skupine C dokazuju da je preduvjet dobre učinkovitosti Ovsynch protokola početak postupka u srednjoj fazi ciklusa i da se time najbolje prevenira spontana LH pulsacija, čime je povišen rizik ovulacije bez koncepcije. Presinkronizirajući, složeni protokoli učinkovitije sinkroniziraju ovulaciju prevenirajući pogrešku. Razlike u veličini dominantnog folikula dokazuju da DO najbolje sinkronizira vrijeme ovulacije i UO. Koncentracija LH u negativnoj je korelaciji s veličinom folikula, a varijabilna u odnosu na vrijeme venepunkcije. Mali broj uzoraka i rezultati sugeriraju potrebu sveobuhvatnijeg istraživanja.

## LITERATURA

- AHMAD, N., S. W. BEAM, W. R. BUTLER, D. R. DEEVER, R. T. DUBY, D. R. ELDER, J. E. FORTUNE, L. C. GRIEL Jr., L. S. JONES, R. A. MILVAE, J. L. PATE, I. REVAH, D. T. SCHREIBER Jr., D. H. TOWNSON, P. C. W. TSANG, E. K. INSKEEP (1996): Relationship of fertility to patterns of ovarian follicular development and associated hormonal profile in dairy cows and heifers. *J. Anim. Sci.* 74, 1943-1952.
- AUSTIN, E. J., M. MIHM, M. P. RYAN, D. H. WILLIAMS, J. F. ROCHE (1999): Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *J. Anim. Sci.* 77, 2219-2226.
- BISINOTTO, R. S., R. C. CHEBEL, J. E. P. SANTOS (2010): Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93, 3578-3587.
- FERGUSON, J. D., D. T. GALLIGAN, N. THOMSEN (1994): Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77, 2695-2703.
- FONSECA, F. A., J. H. BRITT, B. T. McDANIEL, J. C. WILK, A. H. RAKES (1983): Reproductive traits of holsteins and jersey effects of age, milk-yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *J. Dairy Sci.* 66, 1128-1147.
- GEREŠ, D. (2016): Snižena plodnost mliječih krava. Savjetovanje o govedarstvu. Ivaničgrad. HPA, 28.-29. siječnja 2016.
- GIORDANO, J. O., M. C. WILTBANK, J. N. GUENTHER, R. PAWLISCH, S. BAS, A. P. CUNHA (2012a): Increased fertility in lactating dairy cows resynchronized with Double-Ovsynch compared with Ovsynch initiated 32 d after timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 95, 639-653.
- GIORDANO, J. O., P. M. FRICKE, J. N. GUENTHER, G. LOPES JR, M. M. HERLIHY, A. B. NASCIMENTO, M. C. WILTBANK (2012b): Effect of progesterone on magnitude of the luteinizing hormone surge induced by two different doses of gonadotropin-releasing hormone in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95, 3781-3793.
- KITTOCK R. J., J. H. BRITT, E. M. CONVEY (1973): Endocrine response after GnRH in luteal phase cows and cows with ovarian follicular cysts. *J. Anim. Sci.* 37, 985-989.
- LOPEZ, H., D. Z. CARAVIELLO, L. D. SATTER, P. M. FRICKE, M. C. WILTBANK (2005): Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88, 2783-2793.
- LUCY, M. C., J. S. STEVENSON (1986): Gonadotropin-releasing hormone at estrus: Luteinizing hormone, estradiol, and progesterone during the periestrus and postinsemination periods in dairy cattle. *Biol. Reprod.* 35, 300-311.
- LUCY, M. L. (2007): The bovine dominant ovarian follicle. *J. Anim. Sci.* 85, 89-99.
- MARTINEZ, M. F., R. J. MAPLETOFT, J. P. KASTELIC, T. CARRUTHERS (2003): The effects of 3 gonadorelin products on luteinizing hormone release, ovulation, and follicular wave emergence in cattle. *Can. Vet. J.* 44, 125-131.
- MARTINS, J. P., R. K. POLICELLI, L. M. NEUDER, W. RAPHAEL, J. R. PURSLEY (2011): Effects of cloprostenol sodium at final prostaglandin F<sub>2</sub>α of Ovsynch on complete luteolysis and pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94, 2815-2824.
- MEADOWS, C., P. J. RAJALA-SCHULTZ, G. S. FRAZ-

- ER (2005): A spreadsheet-based model demonstrating the non-uniform economic effects of varying reproductive performance in Ohio dairy herds. *J. Dairy Sci.* 88, 1244-1254.
- PETERS, M. W., J. R. PURSLEY (2002): Fertility of lactating dairy cows treated with Ovsynch after presynchronization injections of PGF $_{2\alpha}$  and GnRH. *J. Dairy Sci.* 85, 2403-2406.
  - PULLEY, S. L., D. H. KEISLER, J. S. STEVENSON (2015): Concentrations of luteinizing hormone and ovulatory responses in dairy cows before timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 98, 1-14.
  - RABIEE, A. R., I. J. LEAN, M. A. STEVENSON (2005): Efficacy of Ovsynch program on reproductive performance in dairy cattle: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 88, 2754-2770.
  - RAJAMAHENDRAN, R., J. ROBINSON, S. DESBOTTES, J. S. WALTON (1989): Temporal relationships among estrus, body temperature, milk yield, progesterone and luteinizing hormone levels, and ovulation in lactating dairy cows. *Theriogenology* 31, 1173-1182.
  - ROELOFS, J. B., E. G. BOUWMAN, S. J. DIELEMAN, F. J. C. M. VAN EERDENBURG, L. M. T. E. KAALLANSBERGEN, N. M. SOEDE, B. KEMP (2004): Influence of repeated rectal ultrasound examinations on hormone profiles and behaviour around oestrus and ovulation in dairy cattle. *Theriogenology* 62, 1337-1352.
  - SOUZA A. H., A. GUMEN, E. P. SILVA, A. P. CUNHA, J. N. GUENTHER, C. M. PETO, D. Z. CARAVIELLO, M. C. WILTBANK (2007): Supplementation with estradiol-17 beta before the last gonadotropin-releasing hormone injection of the Ovsynch protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90, 4623-4634.
  - SOUZA, A. H., A. P. CUNHA, E. P. B. SILVA, A. GUMEN, H. AYRES, J. N. GUENTHER, M. C. WILTBANK (2009): Comparison of gonadorelin products in lactating dairy cows: Efficacy based on induced ovulation of an accessory follicle and circulating luteinizing hormone profiles. *Theriogenology* 72, 271-279.
  - STEVENSON, J. R., J. R. PURSLEY, H. A. GARVERICK, P. M. FRICKE, D. J. KESLER, J. S. OTTOBRE, M. C. WILTBANK (2006): Treatment of cycling and noncycling lactating dairy cows with progesterone during ovsynch. *J. Dairy Sci.* 89, 2567-2578.
  - STEVENSON, J. S., M. C. LUCY, E. P. CALL (1987): Failure of timed inseminations and associated luteal function in dairy cattle after two injections of prostaglandin F $_{2\alpha}$ . *Theriogenology* 28, 937-946.
  - ŠPOLJARIĆ B. (2015): Usporedba učinka različitih indukcijskih postupaka na rasplodivanje mliječnih krava. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.
  - ŠPOLJARIĆ, B., G. ŠTIBRIĆ, D. GERESŠ (2013): Comparison of two protocols for synchronisation of ovulation on dairy farm in Croatia. Proceedings of the XIII Middle European Buiatric's Congress, Beograd, Srbija, pp. 136-146.
  - ŠTIBRIĆ G. (2017): Učinkovitost različitih sinkronizacijskih protokola sukladno fazi spolnog ciklusa u mliječih krava. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.
  - TWAGIRAMUNGU, H., L. A. GUILBAULT, J. PROULX, P. VILLENEUVE, J. J. DUFOUR (1992): Influence of an agonist of gonadotropin-releasing hormone (buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows. *J. Anim. Sci.* 70, 1904-1910.
  - WALKER, W. L., R. L. NEBEL, M. L. MCGILLIARD (1996): Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 79, 1555-1561.
  - WASHBURN S. P., W. J. SILVIA, C. H. BROWN, B. T. MCDANIEL, A. J. MCALLISTER (2002): Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *J. Dairy Sci.* 85, 244-251.
  - WILTBANK, M. C., J. R. PURSLEY (2014): The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology* 81, 170-185.
  - WILTBANK, M. C., P. M. FRICKE, S. SANGSRITAVONG, R. SARTORI, O. J. GINTHER (2000): Mechanisms that prevent and produce double ovulations in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 83, 2998-3007.
  - WILTBANK, M., H. LOPEZ, R. SARTORI, S. SANGSRITAVONG, A. GUMEN (2006): Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology* 65, 17-29.





# Uzroci upale ahilove tetive u životinja

## Causes of Achilles tendon inflammation in animals

Pećin, M.<sup>1\*</sup>, T. Kostanjšak<sup>2</sup>, N. Ivkić<sup>2</sup>

### Sažetak

Uzroci upala Ahilove tetive u životinja mogu biti traumatske i atraumatske prirode. Patološke promjene u smislu upale mogu se dogoditi na čitavoj tetivi, bilo na prijelazu prema mišiću, na samoj ovojnici bilo na hvatištu Ahilove tetive za petnu kost. Etiologija upalnog procesa u samoj tetivi raznovrsna je, najčešće je traumatske, odnosno mikrotraumatske, metaboličke i, rjeđe, infektivne prirode. Djelovanjem različitih čimbenika, poput citokina interleukina-1, prostaglandina, dušikova oksida i metaloproteinaza, nastaje degradacija stanične i vlaknaste strukture tetiva. Degradacija je okarakterizirana kao slabljenje biomehaničkih svojstava tetive te smanjenje elastičnosti uz povećanu plastičnost i krutost te promjene u gustoći i debljini kolagenih vlakana koja postaju tanja. Nastaju promjene u sastavu i omjeru kolagena te izgledu vlakana karakteristične za tendinopatije. Poznavanje etiologije i čimbenika nastanka upale Ahilove tetive u životinja važno je za pravodobno prepoznavanje znakova upale, sprečavanje nastanka kroničnog oblika upala i njihovo liječenje. Za uspješno i brzo liječenje upale tetive liječenje treba započeti u što ranijoj fazi. Ako upalno stanje traje, nastaju oštećenja, a upala prelazi u subakutni ili kronični oblik. U slučaju da upala prelazi na hvatište tetive, nastaje upalno stanje - entezitis. Tkivo takve tetive je degenerativno promijenjeno i slabije opskrbljeno krvlju. Uz nakupljanje stranih tvari, poput kalcijevih soli, stvaraju se kalcifikati. Tetiva gubi svoju karakterističnu histološku građu i biomehanička svojstva, a svaki pokret postaje izvor bola. U ovom je radu sažeto prikazana problematika tendinopatija Ahilove tetive u životinja.

### Abstract

Causes of Achilles tendon injury in animals may be traumatic or atraumatic. Pathological changes in relation to the inflammation may occur throughout the entire tendon, either at the transition towards the muscle, on the tendon sheath itself, or on the site of the *Achilles tendon insertion* into the back of the heel bone. The etiology of the inflammatory process in the tendon itself is diverse, most commonly it is traumatic, or microtraumatic, metabolic or, less commonly, infective. By the action of numerous factors such as cytokine interleukin-1, prostaglandin, nitric oxide and metalloproteinase, the cellular and fibrous structure of the tendon is degraded. Degradation is characterized as the weakening of the biomechanical properties of the tendon and reduced elasticity, while plasticity and stiffness increase. Changes in the thickness and density of the collagen fibres occurs and the fibres become thinner. Changes in composition, collagen ratio and the appearance of the fibres are characteristic of tendinopathies. Knowing the etiology and the cause of the Achilles tendon inflammation in animals is important for timely recognition of signs of inflammation, prevention of chronic inflammation and successful treatment. For successful and quick treatment of tendon inflammation it is crucial to start treatment in the early stages. If the inflammatory condition continues it causes damage, and the inflammation passes into a subacute or chronic form. In cases when the inflammation transits to the Achilles tendon insertion it forms an inflammatory state, called enthesitis. The tissue of this tendon is degenerately changed, less well-supplied with blood, with the accumulation of foreign substances, such as calcium salts and calcifications. The tendon loses its characteristic histological structure and biomechanical properties, and each movement becomes a source of pain. This paper summarizes the problems of Achilles tendon tendinopathy in animals.

<sup>1</sup>dr. sc. Marko Pećin, Klinika za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu  
<sup>2</sup>Tara Kostanjšak, Niko Ivkić, studenti, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

\*e-mail:  
mpecin@vef.hr

**Ključne riječi:** Ahilova tetiva, upala, uzročni čimbenici

**Key words:** coronary arteries, sheep, polyurethane mixture

## UVOD

Uzroci ozljede Ahilove tetive u životinja mogu biti traumatske i atraumatske prirode. Od traumatskih su ozljeda najčešće laceracije, traume tupim i oštrim predmetima, naglo istezanje i povlačenje, pad s visine te ugrizi. Ozljede atraumatske prirode, odnosno kronične i degenerativne upalne promjene, nastaju zbog uzastopnog stresa i prekomjernog rastezanja, osobito u sportskih pasa i konja, ili kao posljedica nepravilna ili nedovoljna liječenja akutnih upalnih stanja.

Patološke promjene u smislu upale mogu se dogoditi na čitavoj tetivi, bilo na prijelazu prema mišiću, na samoj ovojnici bilo na hvatištu Ahilove tetive za petnu kost. Česta je lokalizacija burza u području hvatišta Ahilove tetive na petnoj kosti. Upalu tetiva, s obzirom na tijek, možemo podijeliti na akutnu, subakutnu i kroničnu upalu. Pri akutnoj upali bol je izražen, tetive su na palpaciju temperirane, okolno je tkivo otečeno, a pri jačim se pokretima bol povećava. Odmorom i mirovanjem bolnost se povlači. Takvo stanje može nastati naglo te trajati i do nekoliko dana. Liječenje akutnih upala sastoji se od mirovanja, hladnih obloga i kriomasaže radi smanjenja otoka i bola, primjene nesteroidnih protuupalnih lijekova, analgetika te steroida. Pravilno bandažiranje može osigurati dodatnu stabilnost. Za uspješno i brzo liječenje upale tetive liječenje treba započeti u što ranijoj fazi. Ako upalno stanje traje dulje vremena, nastaju oštećenja i upala prelazi u subakutni ili kronični oblik. Subakutni oblik upale dolazi nakon akutne upale, pri čemu organizam pokušava samostalno završiti popravak oštećenog dijela sintezom novih kolagenih vlakana te njihovim ulaganjem na mjesta oštećenja tetiva. To može potrajati tjednima ili čak mjesecima i većinom završi potpunim cijeljenjem. Ako je taj složeni proces prekinut ili usporen, nastaje kronični oblik upale. Kronično upalno stanje teško je okarakterizirati kao kroničnu upalu, već je to rezultat neuspješnog pokušaja organizma da zacijeli akutne ozljede tetive. Kronične upale Ahilove tetive obično se šire s tetive i peritenonija na burzu. Na hvatištu tetive vidljivo je vretenasto zadebljanje koje je bolno na pritisak. Ako upala prelazi na hvatište tetive, nastaje upalno stanje entezitis. Tkivo takve tetive je degenerativno

promijenjeno i slabije opskrbljeno krvlju uz nakupljanje stranih tvari poput kalcijevih soli te se stvaraju kalcifikati. Tada se mogu palpirati čvorčići i zadebljanja u predjelu tetive neposredno iznad petne kosti. Ultrazvučnim su pregledom kalcifikati jasno vidljivi. Tetiva gubi svoju karakterističnu histološku građu i biomehanička svojstva, a svaki pokret postaje izvor bola. Bol se pojavljuje na početku aktivnosti i prisutan je ili se pojačava tijekom aktivnosti. Kronična upala Ahilove tetive kliničarima je velik izazov u liječenju i često zahtijeva operacijsko liječenje uz reseciranje promijenjenog tkiva tetive, uključujući i burzu. Posljedica takvog stanja je dug i neizvjestan oporavak.

## TENDINITIS

Tendinitis je upala u mišićnim tetivama, najčešće na mjestima njihovih hvatišta na kostima. Ako se upalni proces prenese na sinovijalne ovojnice tetiva, dolazi do tenosinovitisa ili tenovaginitisa. Lokalizacija upalnog procesa na mjestu spoja tetiva za kost s istodobnom upalnom reakcijom periosta jest stanje koje nazivamo tenoperiostitis. Nastanku tendinitisa pogoduje anatomska građa tetiva. Naime, histološko-anatomski gledano tetive su građene od mnoštva debelih kolagenih fibrila i vrlo malog broja vezivnotkivnih stanica upletenih u snopove spomenutih fibrila. Vrlo je važno spomenuti oskudnu vaskularizaciju tetiva koja ovisi o pokretima tetive. Sama je tetiva smještena u vezivnotkivnoj ovojnici, tzv. peritenoniju, koja podupire tetivu pri kontrakciji i omogućuje lakše kretanje. Tetivna ovojnica ili peritenonij sastavljena je od dvaju sinovijalnih listova – unutarnjeg uz tetivu, visceralnog endotenonija i spojnog lista epitenonija. Tetiva se s jedne strane pripaja za koštane grebene, spajajući se s periostom, a s druge, mišićne strane prelazi u perimizij, iz kojega se produljuje u mišićne fascije. Oskudne krvne žile prodiru s obaju krajeva u tetive. Prehrani tetiva pomažu mehanički pokreti, što njihovoj aktivnosti, odnosno inaktivnosti daje na važnosti. Postoji mogućnost brze atrofije tetiva uz gubitak biomehaničkih svojstava kao posljedice dulje neaktivnosti. U pokusima na životinjama vježbanje je pojačalo vučnu čvrstoću i elastičnost tetiva, a povećalo težinu i promjer tetive (Kannus i sur., 1997.).

### **Etiologija upale**

Etiologija upalnog procesa u samoj je tetivi raznovrsna; najčešće je traumatske odnosno mikrotraumatske, metaboličke i, rjeđe, infektivne prirode. Uloga unutarnjih (intrizičnih) čimbenika upale i degeneracije tetiva još uvijek nije razjašnjena. Smatra se da je prekomjerna upotreba tetive okidač, odnosno mikrorupture vlakana koje pritom nastaju aktiviraju razne molekule od kojih neke potiču cijeljenje, dok druge, poput proupalnih citokina, djeluju kao čimbenici upalnog stanja i bolesti (Abate i sur., 2009.). Upalni se proces razvija u tetivnoj ovojnici, u njezinu omotaču peritenoniju, i to na njegovoj unutarnjoj strani, u endotenoniju. Upala dovodi do stvaranja fibroznog tkiva i zadebljanja tetivnih ovojnica. Tako se formira fibrozni prsten oko tetiva koji se steže i, ovisno o veličini stvorenoga vezivnog tkiva, umanjuje ili sprečava njezino kretanje i time narušava funkciju tetive.

Mišićne su tetive pri pokretima izložene rastezanju, osobito pri velikom fizičkom naporu ili pri nezgodnim pokretima, što može dovesti do sitnih erozija ili mjestimičnih mikroskopski vidljivih pukotina u njima. Zbog njihove slabe vaskularizacije na erodiranim ili napuknutim mjestima lako se stvaraju mala nekrotična žarišta u kojima se vrlo brzo i lako talože kalcijeve soli. Taj, u početku običan tendinitis, praćen lakšim i podnošljivim bolom te djelomično ograničenim pokretima, može poslije, zbog neposredne blizine sinovijalne burze, dovesti do akutnog burzitisa. Upala lako prelazi s tetive na burzu, što se očituje ograničenjem aktivnih i pasivnih pokreta uz izraženu bolnost pri njihovu izvodeњу. Što je tetiva starija, njezina je degradacija brža, kao posljedica promjena u svojstvima kolagena, primarno nastalih zbog umanjene regeneracije, količine vode i opskrbe krvlju (Ippolito i sur., 1980.). Degradacija je okarakterizirana kao slabljenje biomehaničkih svojstava tetive te smanjenje elastičnosti uz povećanu plastičnost i krutost. Starenjem organizma u udovima je smanjena opskrba krvlju, što uzrokuje umanjenu regeneraciju i slabljenje tetive. Tetive postaju sklonije upalama ili puknućima.

Tetive su visokoelastična tkiva koja pod djelovanjem stresa pri opterećenju pokazuju sposobnost blagog opuštanja i postupne deformacije (Viidik, 1996.). One odgovaraju na

ponavljajuće preopterećenje preko praga svojih fizioloških mogućnosti upalom tetivne ovojnice ili degeneracijom tijela tetive, ili čak oboje (Benazzo i Maffulli, 2000.). Različiti stres izaziva različite ozljede i odgovore tkiva. Ozljede mogu nastati i pri ponavljanju fizioloških pokreta na granici mogućnosti tetiva pri čemu dolazi do kumulacije mikrotrauma. Takva tetiva ne može odgovarajuće cijeliti (Selvanetti i sur., 1997.). Normalno opterećene tetive tijekom duljeg vremena mogu se oduprijeti upalama jer reparacija tkiva prati zahtjeve mikroskopski malih ozljeda koje pritom nastaju (Archambault i sur., 2001.). Studije na tetivama kunića pokazuju da ako nema drugih pogodovnih čimbenika, poput bolesnih stanja, starosti ili stresa, tetive normalno cijele unatoč dugotrajnoj izloženosti opterećenju unutar fizioloških granica. Mikrotrauma može uzrokovati neprirodno opterećivanje tetive na određenim mjestima, stvarajući jače trenje između fibrila i posljedično ozljedu vlakana.. Proces regeneracije počinje od otpornih tenocita koji održavaju finu ravnotežu između proizvodnje novog i degradacije ozlijeđenoga izvanstaničnog matriksa. Ako ta ozljeda nije pravilno i pravodobno sanirana, nastaje kronična upala tetive ili njezino puknuće (Ker, 2002.). Sličnu teoriju nastanka upale tetiva dali su Fu i suradnici (2010.) koji ističu važnost neuspjelog cijeljenja ozljeda kao okidač u nastanku tendinopatija. Pritom ističu da nedostatan ili neuspjelo cijeljenje s posljedičnim promjenama u matriksu, pojačana fokalna vaskularizacija i abnormalna izraženost pojedinih citokina pridonose kliničkoj slici kroničnog bola ili rupturi tetive (slika 2). Iako nije u potpunosti razjašnjena etiologija upala tetiva, čini se da ishemija igra važnu ulogu. U umjetno stvorenoj ishemiji u Ahilovoj tetivi kunića nastala je upala tetive (Kuo i sur., 1999.). Ishemija nastaje pri rastezanju tetiva kod maksimalne opterećenosti. Pri prekidu opterećenja krv se vraća u tetivu te se oslobađaju slobodni radikali kisika (Goodship i sur., 1994.), što može uzrokovati ozljedu tetive (Bestwick i Maffulli, 2000.). Upala i degeneracija djeluju zajedno u patogenezi tendinopatija (Abate i sur., 2009.).

### **Fizikalni, stanični i kemijski čimbenici upale**

Peroksiredoksin 5 važan je enzim antioksidans koji štiti stanice od reaktivnih radikala



**Slika 1.** Shematski prikaz prilagodbe Leadbetterova „začaranog kruga“ nastanka tendinopatija. Preuzeto od KHAN i sur. (1999.).

kisika. Pronađen je u stanicama svih sisavaca. Prisutan je i u tenocitima u velikoj količini pri ozljedi tkiva tetive. Iz toga se može zaključiti da je uloga slobodnih radikala kisika važna u ozljedi tetive. Hipoksija sama može uzrokovati degeneraciju jer se tetive koriste energijom iz oksidacijskih procesa održavajući razinu ATP-a u stanicama (Birch i sur., 1997.).

Kretanjem tetive pohranjuju energiju pri čemu se 5 – 10 % energije pretvara u toplinu (Ker, 1981.). Kod galopirajućeg konja u tetivi površinskog sagibača prstiju (*m. flexor digitorum superficialis*) temperatura može porasti do 45 °C (Wilson i Goodship, 1994.). Pri toj temperaturi, ako je prisutna tijekom duljeg razdoblja, dolazi do ozljede i smrti tenocita s posljedičnom degeneracijom (Birch i sur., 1997.). U studijama na životinjskom modelu lokalna primjena citokina i upalnih prostaglandina uzrokovala je histološki vidljivu upalu tetive. Upalni učinak prostaglandina (PGE1) na tkivo tetive proučavali su Sullo i suradnici (2001.). Primijetili su da su Ahilove tetive štakora nakon izlaganja prostaglandinu pokazivale histološki vidljive znakove upale. Upala je trajala 35 dana istraživanja uz povećano stvaranje fibroza unutar paratenonija te izražene priraslice i degeneraciju unutar tetiva. Shematski prikaz teoretskog modela „začaranog kruga“ u tendinozama prikazan je na slici 1.

Čimbenik nekroze tumora (TNF) i interleukin-1 (IL-1) sinergistički stimuliraju proizvodnju prostaglandina E2 (PGE2) iz amni-

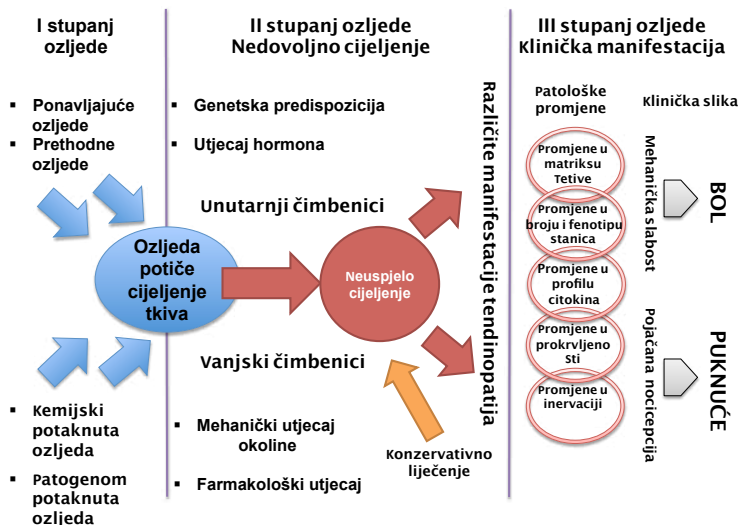
onskih stanica *in vitro* (Bry i sur., 1993.). Koncentracija PGE2 povećava se u fibroblastima Ahilovih tetiva kunića nakon ozljede i ponavljanja mehaničkog opterećenja. Povećana količina PGE2 u Ahilovoj tetivi kunića može dovesti do smanjenja količine kolagena tipa I i povećavanja kolagena tipa III (Li i sur., 2012.) uz promjene u gustoći i debljini kolagenih vlakana koja postaju tanja. Promjene u sastavu i omjeru kolagena te izgledu vlakana karakteristične su u tendinopatijama.

Česta nefiziološka rastezanja tetiva uzrokuju rast PGE2 u tenocitima u patelarnom ligamentu u ljudi (Wang i sur., 2013.) i pojačavaju lučenje IL-1 i IL-6 uz povećanu izraženost mRNA za ciklogenoksigenu 2 (COX-2), matriks metaloproteinaze 1 (MMP-1) i matriks-metaloproteinaze 3 (MMP-3) (Tsuzaki i sur., 2003.). IL-1 pri rastezanju Ahilove tetive u kunića uzrokuje pojačanu razinu MMP-3 (Archambault i sur., 2002.). Stoga, može se zaključiti da učestala mehanička stimulacija tetiva uzrokuje pojačanu proizvodnju citokina i upalnih prostaglandina koji mogu biti medijatori tendinopatija. Djelovanjem antagonista IL-1 lokalno može se poništiti djelovanje tog citokina te time smanjiti upalu Ahilovih tetiva i ubrzati njihovo cijeljenje (Pećin i sur., 2017.).

Upotreba nekih antibiotika iz skupine flourokinolona može uzrokovati lučenje MMP-3 preko IL-1 i povezuje se s nastankom tendinopatija (Corps i sur., 2002.). Flourokinoloni inhibiraju



**Slika 2.** Teorija neuspjelog cijeljenja kao uzrok tendinopatija. Preuzeto od FU i sur. (2010.).



metabolizam tenocita, smanjuju proliferaciju kolagena i sintezu izvanstaničnog matriksa te mogu pridonijeti stvaranju upalnih promjena u tetivi. Ciprofloksacin može selektivno pojačati izraženost MMP-a u tenocitima te time ugroziti mikrostrukturu i cjelovitost tetive (Corps i sur., 2002.). Metaloproteinaze su proteolitički enzimi. Klasificirani su s obzirom na supstrat koji razgrađuju, specifičnost i primarnu strukturu. Imaju sposobnost degradiranja strukture izvanstaničnog matriksa i remodeliranje tkiva (Birkedahl-Hansen, 1995.). U kunića koji su služili kao model ozljede *musculus supraspinatus* izmjereno je povećanje MMP-2 uz izraženu aktivnost TIMP-1 (*tissue inhibitor of MMP-1*, tkivni inhibitor MMP-1) (Choi i sur., 2002.). U ljudi je pak pri ozljedi rotatorne manžete primijećeno povećanje aktivnosti MMP-1 i MMP-3 i smanjenje aktivnosti TIMP-2, 3 i 4 (Lo i sur., 2004.). Istraživanja mehaničkog opterećenja tetiva pokazala su da različita naprezanja uzrokuju otpuštanje različitih citokina. Primjerice, pri puknuću tetive i pri upali moguća je aktivnost različitih metaloproteinaza (Nagase i sur., 2006.).

Soslowsky i suradnici (2000.) istraživali su učinak prekomjerne aktivnosti na biomehaničke i histološke promjene u tetiva *musculus supraspinatus* u štakora. Štakori su bili izloženi prekomjernoj aktivnosti u obliku trčanja tijekom 16 tjedana. Nakon tog razdoblja primijećene su promjene u povećanoj staničnosti i smanjenoj uzdužnoj orijentaciji kolagenih vlakana. Vlakna

su bila zadebljana na presjeku (gotovo 1,5 puta nakon 16 tjedana), smanjene elastičnosti i smanjene otpornosti na vlačne sile za 50 %. Slične su promjene vidljive u tendinopatijama ljudi. Wang i suradnici (2013.) također su prikazali učinke prekomjernog korištenja i uzastopnog fiziološkog rastezanja te utjecaj uzastopnih kružnih pokreta bez opterećenja Ahilovih tetiva na modelu kunića. Primijećena je histološka promjena strukture tetiva već nakon šest dana. Položaj kolagenih vlakana više nije bio paralelan, već blago valovit, uz promjenu oblika tenocita. Promjene su bile izraženije nakon 14 dana istraživanja, gdje su primijećene razlike u organizaciji kolagenih vlakana i njihovu položaju, uz promjene oblika tenocita koji su izgubili vretenasti i dobili više obli oblik. Razmak među stanicama izraženiji je uz povećanu količinu izvanstaničnog matriksa. Promjene su karakteristične za početak tendinopatija. Stone i suradnici (1999.) primijetili su da aplikacija citokina i kolagenaza u patelarni ligament u kunića uzrokuje histološke vidljive promjene. Promjene poput povećane staničnosti, bez vidljivih promjena matriksa, uz povećano stvaranje krvnih žila te izraženu fibrozu oko tetive, bile su vidljive nakon četiri tjedna. Nakon 16 tjedana primijećena je lokalna fibroza, promjene u položaju kolagenih vlakana uz povećanu staničnost i smanjena otpornost na vlačne sile.

Dušikov monoksid (NO) slobodni je radikal kratkog poluživota, koji sudjeluje u raznim bi-

ološkim procesima te cijeljenju tetiva. Nastaje iz aminokiseline L-arginina djelovanjem enzima oksid-sintaze i sudjeluje u stvaranju novih krvnih žila i vazodilataciji. Primijećeno je da se razina dušikova monoksida povećava u drugom tjednu nakon ozljede tetiva u štakora i vraća se u normalne vrijednosti nakon dva tjedna (Murrell i sur., 1997.). Iako se inhibicijom IL-1 smanjuje stres tkiva izazvan dušikovim monoksidom (Ikonomidis i sur., 2008.), potpunim blokiranjem enzima odgovornog za sintezu dušikova monoksida usporava se cijeljenje tetive.

Prekomjerno mehaničko opterećenje i upalni citokini zajedničkim djelovanjem potiču jače uništavanje izvanstaničnog matriksa u tetivama kunića otpuštanjem metaloproteinaza, više nego mehaničko opterećenje i upala (Archambault i sur., 2002.). Nemogućnost prilagodbe prekomjernom opterećenju može dovesti do otpuštanja citokina u tenocitima i do promjena u aktivnosti stanica (Leadbetter, 1992.).

## ZAKLJUČAK

Temeljem navedenog jasno je da su upale Ahilove tetive ozbiljan problem ako se pravodobno ne dijagnosticiraju. Tendinopatije nisu nužno uzrokovane prekomjernim naprezanjima tetive ili mehaničkim ozljedama nego i upotrebom određenih lijekova i preparata. Prelaskom u kronični oblik, upale tetive gube svoja biološka i fizikalna svojstva, što rezultira privremenim gubitkom funkcije ili puknućem tetiva. Proučavanjem različitih složenih procesa upale tetiva možemo zaključiti da je u upalama tetiva prisutno sinergističko djelovanje više čimbenika koji međusobno mogu pojačavati upalna stanja. Otkrivanjem kemijskih i staničnih uzroka nastanka upala možemo spriječiti ili smanjiti upalu blokirajući djelovanje upravo tih čimbenika.

## LITERATURA

- ARCHAMBAULT, J., M. TSUZAKI, W. HERZOG, A. J. BANES (2002): Stretch and interleukin-1beta induce matrix metalloproteinases in rabbit tenon cells in vitro. *J. Orthop. Res.* 20, 36-39.
- BENAZZO, F., N. MAFFULLI (2000): An operative approach to Achilles tendinopathy. *Sports Med. Arthroscopy Rev.* 8, 96-101.
- BESTWICK, C. S., N. MAFFULLI (2000): Reactive oxygen species and tenon problems: review and hypothesis. *Sports Med. Arthroscopy Rev.* 8, 6-16.
- BIRKEDAHN-HANSEN, H (1995): Proteolytic remodelling of extracellular matrix. *Curr. Opin. Cell Biology* 2, 728-735.
- BIRCH, H. L., G. A. RUTTER, A. E. GOODSHIP (1997): Oxidative energy metabolism in equine tenon cells. *Res. Vet. Sci.* 62, 93-97.
- BRY, K., U. LAPPALAINEN, M. HALLMAN (1993): Interleukin-1 binding and prostaglandin E2 synthesis by amnion cells in culture: regulation by tumor necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, and interleukin-1 receptor antagonist. *Biochim. Biophys. Acta.* 1181, 31-36.
- CHOI, H. R., S. KONDO, K. HIROSE, N. ISHIGURO, Y. HASEGAWA, H. IWATA (2002): Expression and enzymatic activity of MMP-2 during healing process of the acute supraspinatus tenon tear in rabbits. *J. Orthop. Res.* 20, 927-933.
- CORPUS, A. N., R. L. HARRALL, V. A. CURRY, S. A. FENWICK, B. L. HAZLEMAN, G. P. RILEY (2002): Ciprofloxacin enhances the stimulation of matrix metalloproteinase 3 expression by interleukin-1beta in human tenon-derived cells. A potential mechanism of fluoroquinolone-induced tendinopathy. *Arthritis Rheum.* 46, 3034-3040.
- FU, S. C., R. CHRISTER, Y. C. CHEUK, P. P. LUI, K. M. CHAN (2010): Deciphering the pathogenesis of tendinopathy: a three-stages process. *Sports Med. Arthrosc. Rehabil. Ther. Technol.* 2, 1-12.
- GOODSHIP, A. E., H. L. BIRCH, A. M. WILSON (1994): The pathobiology and repair of tenon and ligament injury. *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.* 10, 323-349.
- IKONOMIDIS, I., J. P. LEKAKIS, M. NIKOLAOU i sur. (2008): Inhibition of interleukin-1 by anakinra improves vascular and left ventric-
- ABATE, M., K. G. SILBERNAGEL, C. SILJEHOLM, A. DI IORIO, D. DE AMICIS, V. SALINI, S. WERNER, R. PAGANELLI (2009): Pathogenesis of tendinopathies: inflammation or degeneration? *Arthritis Res. Ther.* 11, 235
- ARCHAMBAULT, J. M., D. A. HART, W. HERZOG (2001): Response of rabbit Achilles tenon to chronic repetitive loading. *Connect Tissue Res.* 42, 13-23.

- ular function in patients with rheumatoid arthritis. *Circulation*. 117, 2662-2669.
- IPPOLITO, E., P. G. NATALI, F. POSTACCHINI, L. ACCINNI, C. DE MARTINO (1980): Morphological, Immunochemical, and Biochemical Study of Rabbit Achilles Tenon at Various Ages. *J. of Bone and Joint Surg.* 62-A, 583-598.
  - KANNUS, P., L. JOSZA, A. NATRI i sur. (1997): Effects of training, immobilization and remobilization on tendons. *Scand. J. Med. Sci. Sports*. 7, 67-71.
  - KER, R. F. (2002): The implications of the adaptable fatigue quality of tendons for their construction, repair and function. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 133, 987-1000.
  - KER, R. F. (1981): Dynamic tensile properties of plantaris tendon of sheep (*Ovis aries*). *J. Exp. Biol.* 93, 283-302.
  - KHAN, K. M., J. L. COOK, F. BONAR, P. HARCOURT, M. ASTROM (1999): Histopathology of common tendinopathies. Update and implications for clinical management. *Sports Med.* 27, 393-408.
  - KUO, P.L., P. C. LI, C. T. SHUN, J. S. LAI (1999): Strain measurements of rabbit Achilles tendons by ultrasound. *Ultrasound Med. Biol.* 25, 1241-1250.
  - LEADBETTER, W. B. (1992): Cell-matrix response in tendon injury. *Clin. Sports Med.* 11, 533-578.
  - LI, H., K. TANG, Y. DENG, M. XIE, D. CHANG, X. TAO, J., XU J (2012): Effects of exogenous prostaglandin E2 on collagen content of Achilles tendon of rabbits in vivo. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 26, 352-358.
  - LO, I. K., L. L. MARCHUK, R. HOLLINSHEAD i sur. (2004): Matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase mRNA levels are specifically altered in torn rotator cuff tendons. *Am. J. Sports Med.* 32, 1223-1229.
  - MURRELL, G. A., C. SZABO, J. A. HANNAFIN, D. JANG, M. M. DOLAN, X. H. DENG, D. F. MURRELL, R. F. WARREN (1997): Modulation of tendon healing by nitric oxide. *Inflamm. Res.* 46, 19-27.
  - NAGASE, H., R. VISSE, G. MURPHY (2006): Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res.* 69, 562-573.
  - PEĆIN, M., M. KRESZINGER, S. VUKOVIĆ, M. LIPAR, O. SMOLEC, B. RADIŠIĆ, J. KOS (2017): Accelerated Achilles tendon healing with interleukin-1 receptor antagonist protein in rabbits. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 41, 118-126.
  - SELVANETTI, A., M. CIPOLLA, G. PUDDU (1997): Overuse tendon injuries: basic science and classification. *Oper. Tech. Sports Med.* 5, 110-117.
  - SOSLOWSKY, L. J., S. THOMOPOULOS, S. TUN, C. L. FLANAGAN, C. C. KEEFER, J. MASTAW i sur. (2000): Overuse activity injures the supraspinatus tendon in an animal model: A histologic and biomechanical study. *J. Shoulder Elbow Surg.* 9, 79-84.
  - STONE, D., C. GREEN, U. RAO, H. AIZAWA, T. YAMAJI, C. NIY-IBIZI, G. CARLIN, S. L. WOO (1999): Cytokine-induced tendinitis: a preliminary study in rabbits. *J. Orthop. Res.* 17, 168-177.
  - SULLO, A., N. MAFFULLI, G. CAPASSO, V. TESTA (2001): The effects of prolonged peritendinous administration of PGE1 to the rat Achilles tendon: a possible animal model of chronic Achilles tendinopathy. *J. Orthop. Sci.* 6, 349-357.
  - TSUZAKI, M., G. GUYTON, W. GARRETT i sur. (2003): IL-1 $\beta$  induces COX2, MMP-1, -3 and -13, ADAMTS-4, IL-1  $\beta$  and IL-6 in human tendon cells. *J. Orthop. Res.* 21, 256-264.
  - VIIDIK, A. (1996): Tendons and ligaments. In: COMPER, W. (ed) *Extracellular Matrix*. Harwood Academic Publishers, Amsterdam, Netherlands. 1, 303-327.
  - WANG, T., L. ZHEN, E. D. ROBERT, G. BRUCE, L. EUPHEMIE i sur. (2013): Programmable Mechanical Stimulation Influences Tendon Homeostasis in a Bioreactor System. *Biotechnol Bioeng.* 110, 1495-1507.
  - WILSON, A. M., A. E. GOODSHIP (1994): Exercise-induced hyperthermia as a possible mechanism for tendon degeneration. *J. Biomech.* 27, 899-905.

# Urinarna inkontinencija kao posljedica kastracije kuja

## Urinary incontinence as a consequence of castration in bitches

Lessel, A.<sup>1\*</sup>, G. Bačić<sup>2</sup>, N. Maćešić<sup>2</sup>



### Sažetak

**N**ajčešći uzrok urinarne inkontinencije kod kuja je kastracija. Uzroci urinarne inkontinencije dijele se na neurološke i ne-neurološke, među koje pripada i kastracija. Brojne studije navode vezu između urinarne inkontinencije i dobi životinje u trenutku kastracije. Rezultati tih istraživanja su različiti, no postoji općenito mišljenje da se rizik od nastanka urinarne inkontinencije kuja povećava ako su kastrirane prije trećeg mjeseca starosti. Starost životinje kod ovarijektomije nema utjecaja na razvoj urinarne inkontinencije ako životinja u odrasloj dobi neće težiti više od 15 kg. Manje pasmine pasa, dakle, imaju manju predispoziciju za nastanak urinarne inkontinencije, pri čemu rizik od razvoja inkontinencije, izgleda, nije povezan s dobi životinje za vrijeme kastracije. U većih pasmina (tjelesne mase odrasle jedinke veće od 15 kg) povećava se rizik od razvoja urinarne inkontinencije. Urinarnu je inkontinenciju lako dijagnosticirati, ali za otkrivanje njezina uzroka potrebna je opsežna dijagnostika. Primarna metoda liječenja je medikamentna terapija u kojoj važnu ulogu imaju  $\alpha$ -agonisti. U slučajevima kada medikamentna terapija ne daje željene rezultate, moguće je liječenje intervencijskim i kirurškim metodama.

### Abstract

**T**he most common cause of urinary incontinence in bitches is castration. The causes of urinary incontinence can be classified as neurological and non-neurological, with castration being one of these. Numerous studies indicate the interrelation of urinary incontinence and the age of the animal at the moment of castration. The results of these studies differ, but there is a general consideration that the risk of urinary incontinence in bitches is higher if the animals are castrated before three months of age. Regarding ovariectomy, the age of the animal will not affect the development of urinary incontinence if the weight of the adult does not exceed 15 kg. In smaller dog breeds the risk of developing urinary incontinence is lower and the risk does not seem to correlate with age when castration is performed. In larger dog breeds, where the expected adult body weight exceeds 15 kilograms, the risk of urinary incontinence is higher. Urinary incontinence is easy to diagnose, but determining its exact cause requires extensive diagnostics. The primary method of treatment is through medication in which  $\alpha$ -agonists play a major role. In cases where medication therapy fails, interventional and surgical methods are used.

<sup>1</sup>Ana Lessel, dr. med. vet.,  
Doktor Vau, specijalistička  
veterinarska praksa  
<sup>2</sup>prof. dr. sc. Goran Bačić, izv.  
prof. dr. sc. Nino Maćešić,  
Klinika za porodništvo i  
reprodukciju, Veterinarski  
fakultet Sveučilišta u Zagrebu

\*e-mail:  
ana.lessel@hotmail.com

---

**Ključne riječi:** urinarna  
inkontinencija, kuja,  
kastracija

**Key words:** urinary  
incontinence, bitch,  
castration

---



## UVOD

Urinarna inkontinencija je nekontrolirano istjecanje urina iz mokraćnog mjehura. Može se očitovati povremenim ili trajnim nevoljnim istjecanjem urina, pri čemu može iscuriti nekoliko kapi ili veća količina urina (Kučer, 2012.).

Većina oblika urinarne inkontinencije pojavljuje se kad tlak mokraćnog mjehura premašuje otpor uretre. Inkontinencija također može nastati ako je tlak mokraćnog mjehura iznimno visok (privremeno ili trajno), ako je uretralni tlak jako nizak ili kombinacijom tih dvaju čimbenika. Izuzetak je inkontinencija uzrokovana anatomskom anomalijom, poput ektopične uretre, bolesti pri kojoj ureter ne završava u trokutastom području mokraćnog mjehura (*trigonum vesicae*), nego najčešće u vagini, na vratu mjehura ili čak u maternici (Chew, 2011.).

Kod nekastriranih kuja urinarna se inkontinencija pojavljuje izrazito rijetko (0 – 1 %), dok je incidencija u kastriranih kuja oko 20 %. Vodeći patofiziološki mehanizam nastanka inkontinencije je neadekvatno zatvaranje sfinktera uretre nakon kastracije. Iz tog se razloga urinarna inkontinencija nakon kastracije naziva inkompetencija uretralnog sfinktera (*urethral sphincter mechanism incompetence*). Godinu dana nakon kastracije uretralni je tlak jako smanjen, no kod mnogih se kuja inkontinencija pojavljuje tek godinama nakon zahvata. Mehanizam nastanka još nije u potpunosti razjašnjen. Neurološko

oštećenje vjerojatno nije uzrok inkontinencije jer je rizik nastanka inkontinencije isti u kuja koje su podvrgnute ovarijektomiji ili ovariohisterektomiji, a u većini se slučajeva pojavljuje tek nekoliko godina nakon zahvata (Arnold i sur., 2008).

Inkompetencija uretralnog sfinktera najčešći je uzrok urinarne inkontinencije u kastriranih kuja. Pojavljuje se u svih pasmina pasa, ali su neke više zastupljene (Chew, 2011.).

Zbog prijašnjih spoznaja nazvana je urinarna inkontinencija ovisna o hormonu, no danas je potvrđeno da su patofiziologija i uzroci ovog poremećaja mnogo kompleksniji od samoga gubitka estrogena. Uzroci također uključuju strukturnu promjenu tkiva, sadržaj kolagena, prokrvljenost i receptore za estrogen, kao i promjene koncentracije FSH i LH (Byron i sur., 2017.).

Byron i suradnici (2017.) u svom su istraživanju upozorili na povećan rizik od nastanka inkompetentnog uretralnog sfinktera kod kuja tjelesne mase iznad 20 kg kao i veću zastupljenost određenih pasmina (njemački ovčar, rotvajler, staroengleski ovčar, doberman, bokser, irski seter te engleski špringer španijel) (Byron i sur., 2017.).

## UZROCI

Uzroci urinarne inkontinencije podijeljeni su na neurološke i ne-neurološke. Iz skupine

**Tablica 1.** Uzroci urinarne inkontinencije u kuja

Neurološki	Ne-neurološki
Trauma	Kastracija kuja
Protruzije intervertebralnog diska	Anatomske anomalije (ektopični ureter)
Kongenitalne anomalije	Infekcije mokraćnog sustava
Lezije na mozgu	Uretrorektalne i uretrovaginane fistule
Lezije na leđnoj moždini	Uretralni divertikul
	Uretrokela
	Polidipsija
	Ženski pseudohermafrodit
	Idiopatska hiperaktivnost m. detrusora

neuroloških uzroka najčešći su kongenitalne anomalije, protruzija intervertebalnog diska i trauma. Najčešći ne-neurološki uzrok inkontinencije kod kuja jest kastracija. Osim kastracije, ne-neurološki uzroci uključuju anatomske anomalije, infekcije mokraćnog mjehura, urovaginu, uretorektalne i uretrovaginane fistule, uretralni divertikul, uretrokelu, polidipsiju, idiopatsku hiperaktivnost detruzorskog mišića te pseudohermafroditizam (Chew, 2011.).

Rezultati najnovijih istraživanja dokazali su da starost životinje kod kastracije ne utječe na razvoj urinarnu inkontinenciju ako životinja u odrasloj dobi neće težiti više od 15 kg (Byron i sur., 2017.).

## KLINIČKI ZNAKOVI

Klinički znakovi koje vlasnik primjećuje jesu nekontrolirano istjecanje urina dok kuja leži ili spava, tragovi urina na podu ili vlažni ležaj. U ležećem položaju intraabdominalni tlak se povećava, a zbog nemogućnosti izjednačavanja tlaka u mokraćnom mjehuru dolazi do nevoljnog mokrenja. Nadalje, povećan tonus parasimpatikusa tijekom spavanja pridonosi pojavi bolesti. Zbog agresivnog djelovanja mokraćne na kožu nerijetko se pojavljuju i upalni procesi, praćeni neugodnim mirisom. Dizurija je prisutna isključivo kad se razvije urinarna infekcija. Uzročnici infekcije ascendentno naseljavaju urinarni trakt (Chew, 2011.).

## DIJAGNOSTIKA

Iako je uzrok urinarnu inkontinenciju najčešće inkompetencija uretralnog sfinktera, kod svake je životinje potrebno napraviti detaljan klinički pregled (Reichler i Hubler, 2006.).

Ako je urinarna inkontinencija bila prisutna prije kastracije, diferencijalnodijagnostički u obzir dolaze kongenitalne malformacije urogenitalnog trakta poput ektopičnog uretera, pseudohermafroditizma te perzistentnog urahusa (Reichler i Hubler, 2006.).

Mogući uzrok urinarnu inkontinenciju, koja se pojavila neposredno nakon kastracije, jest uretrovaginana fistula ili urovagina, u slučajevima kada se simptomi pojavljuju nakon šetnje. Kuje s urovaginom redovito uriniraju tijekom sjedenja. Katkad urovagine uzrokuju neoplazije,

koje sprečavaju da urin prolazi kroz vestibul (Reichler i Hubler, 2006.).

Kod kuja u kojih se urinarna inkontinencija pojavljuje nakon duljih šetnji glavni uzrok je slabost detruzorskog mišića. To može biti posljedica perzistentnog urahusa, koji sprečava potpuno povlačenje praznog mokraćnog mjehura (Reichler i Hubler, 2006.).

Ako se urinarna inkontinencija pojavljuje isključivo tijekom spavanja, uglavnom je uzrokovana inkompetentnim uretralnim sfinkterom (Reichler i Hubler, 2006.).

U mnogim slučajevima bakterijski cistitis uzrokuje kontrakcije detruzora tijekom faze punjenja mokraćnog mjehura što dovodi do nevoljnog istjecanja urina. Ustanovljeno je da su kuje koje pate od inkompetentnog uretralnog sfinktera sklonije bakterijskom cistitisu u odnosu na zdrave kuje (Reichler i Hubler, 2006.).

Kako bi se kod mladih kuja isključile kongenitalne malformacije, potrebno je napraviti kontrastnu pretragu. Uretrocistogram zajedno s pijelogramom odgovarajuća je dijagnostička metoda za isključivanje ijetrogenih uretrovaginanih fistula kod inkontinentnih kuja neposredno nakon kastracije (Reichler i Hubler, 2006.).

Kuje sa simptomima poliurije i polidipsije sklonije su urinirati noću, što se može pogrešno protumačiti inkontinencijom (Reichler i Hubler, 2006.).

Kod starijih se kuja moguće neoplazije dijagnosticiraju endoskopski ili radiografski. Ako anamneza i klinički pregled upućuju na neurološki pregled, nužno je učiniti detaljan klinički pregled. Ovisno o lokaciji lezije, indicirani su radiološki pregledi ili analiza cerebrospinalne tekućine (Reichler i Hubler, 2006.).

Zaključno, pretrage koje je potrebno učiniti kod inkontinentnih kuja su:

- klinički pregled
- neurološki pregled
- vaginoskopija
- biokemijske i hematološke pretrage krvi
- analiza urina i urinokultura
- rendgen abdomena

## LIJEČENJE

Urinarna inkontinencija primarno se liječi medikamentno. Liječenje se često temelji samo na osnovnim kliničkim pretragama, što je prihvatljivo kod kastriranih kuja, dok je kod nekastriranih kuja potrebna opsežnija dijagnostika (Byron, 2017.).

Empirijsko liječenje indicirano je u klinički zdravih kastriranih kuja, koje prije kastracije nisu bile inkontinentne zbog temeljite sumnje na inkompetenciju uretralnog sfinktera, no u svim ostalim slučajevima potrebna je opsežnija dijagnostika, koja uključuje kontrastnu radiografiju, ultrazvuk abdomena, kontrastnu kompjutoriziranu tomografiju, cistoskopiju.

Medikamentno liječenje najčešće je usmjereno na povećanje uretralnog tonusa, stimulacijom  $\alpha$ -receptora u glatkom mišićju uretre pomoću  $\alpha$ -agonista i/ili povećanjem broja i osjetljivosti tih receptora sa spojevima estrogena (Byron, 2017.).

### Alfa-agonisti

Stimulacija  $\alpha$ 1A-receptora u glatkoj mišićnici uretre i vrata mokraćnog mjehura dovodi do povećanja uretralnog tlaka zatvaranja. Kod urinarne inkontinencije u veterinarskoj su medicini najčešće korišteni  $\alpha$ 1-agonisti. Mogu se koristiti kod mačaka i kod pasa obaju spolova. Najopasnija nuspojava je hipertenzija, kao posljedica nedostatka specifičnih agonista u donjem urinarnom traktu te stimulacije glatkog mišićja krvožilnog sustava (Byron, 2017.).

### Fenilpropanolamin (Phenylpropanolamine, PPA)

Najčešće korišten  $\alpha$ -agonist za liječenje urinarne inkontinencije jest fenilpropanolamin. Uspješnost liječenja je visoka, 75 – 90 % (Byron, 2017.).

Kontraindicirano je korištenje fenilpropanolamina kod kuja s hipertenzijom ili kuja oboljelih od bolesti koje predisponiraju hipertenziju. Kod kuja oboljelih od kroničnih bolesti bubrega, hiperadrenokortizma ili nefropatije, PPA treba koristiti s visokim oprezom i redovitom kontrolom krvnoga tlaka. Općenito se preporučuje svakom pacijentu izmjeriti krvni tlak prije terapije s PPA te nakon tjedan-dva ponoviti kontrolu.

### Estrogen

Estrogen koji utječe na čvrstoću i robusnost zdjelice i periuretralnog tkiva koristi se u liječenju urinarne inkontinencije dugi niz godina. Njegovo se djelovanje očituje i u pojačavanju funkcije žlijezda, utjecaju na čvrstoću kolagena, povećavanju broja i osjetljivosti  $\alpha$ -receptora u glatkoj muskulaturi uretre te pojačavanju uretralnog tlaka kod inkontinentnih kuja. Stoga je dobar lijek izbora kod kuja s hipertenzijom ili kod onih koje su intolerantne na terapiju s  $\alpha$ -agonistima (Byron, 2017.).

Pažljivo doziranje estrogena smanjuje mogućnost nuspojava poput mijelosupresije, koja se pojavljuje pri primjeni deset puta većih doza od preporučenih. Iz tog razloga važno je pažljivo odrediti njegovu dozu (Byron, 2017.).

**Tablica 2.** Lijekovi preporučeni za liječenje uretralne inkompetencije (Byron, 2017.)

Klasifikacija lijekova	Lijekovi	Doze
<b><math>\alpha</math>-agonisti</b>	Fenilpropanolamin	0,5 - 1,5 mg/kg po. svakih 8 - 12 sati
<b>Estrogenski spojevi</b>	Estriol	2 mg/psu po. svaka 24 sata tijekom 14 dana, potom 1 mg/psu po. svaka 24 sata tijekom 14 dana, potom 0,5 mg/psu po. svaka 24 sata te održavanje na najnižoj djelotvornoj dozi
	Dietilstilbestrol	1 mg/psu po. svaka 24 sata tijekom 7 dana, potom svakih 5 - 7 dana te prilagoditi do djelovanja
	Konjugirani estrogene	0,02 mg/kg po. svaka 24 sata tijekom 5 - 7 dana, potom svaka 2 - 4 dana te prilagoditi prema potrebi
<b>GnRH analozi</b>	Depo deslorelin acetat	5-10 mg/psu sc. svakih 6 mjeseci

### **Estriol**

Potencijalne nuspojave su oticanje mliječnih žlijezda i vulve, no mogu se ublažiti ili u potpunosti riješiti smanjivanjem doze (Byron, 2017.).

### **Dietilstilbestrol (Diethylstilbestrol, DES)**

Dietilstilbestrol je sintetski nesteroidni estrogen. Jedna od prednosti upotrebe DES-a jest što se terapija daje na tjednoj, a ne na dnevnoj bazi. Sličan je učinak kod estriola i DES-a (Byron, 2017.).

### **Konjugirani estrogene**

Prirodno su dobiveni iz urina gravidnih kobila. No, i dalje nisu objavljene studije koje bi dokazale njihovu uspješnost u liječenju urinarne inkontinencije kod kastriranih kuja (Byron, 2017.).

### **Analozi gonadotropnog oslobađajućeg hormona (GnRH)**

U kastriranih kuja uklanjanje negativne povratne sprege estrogena dovodi do povećanja koncentracije folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH). Pretpostavlja se da porast koncentracije ovih gonadotropnih hormona ima negativan utjecaj na uretralni tlak zatvaranja ili da rezultira smanjivanjem funkcije mokraćnog mjehura. Upotreba analoga depoa GnRH, poput deslorelin-acetata, u konačnici smanjuje koncentraciju LH i FSH. Zabilježena je učinkovitost monoterapije od 54 %, kao i učinkovitost od 92 % u kombinaciji s fenilpropanoalminom (Byron, 2017.).

Ako pacijent ne odgovori na medikamentno liječenje, alternativa su interventne i kirurške metode.

### **Postavljanje umjetnoga uretralnog sfinktera**

Kirurško postavljanje umjetnog podesivog hidrauličkog uretralnog sfinktera oko uretre detaljno je istraženo kod pasa (slika 1). Uređaj omogućuje kuji da urinira normalno, održavajući kontinenciju. Mali otvor supkutano je povezan s balončićem za sfinkter i može se podesiti ubrizgavanjem fiziološke otopine u svrhu stezanja sfinktera (Byron, 2017.) (slika 2).

### **Kolposuspenzija**

Kod životinja s normalno smještenim mokraćnim mjehurom, povećanje intraabdominalnog tlaka prenosi se na proksimalni dio uretre i mokraćni mjehur te se na taj način sprečava istjecanje mokraće. Proksimalni dio uretre nije smješten unutar trbušne šupljine kod životinja s kaudalno smještenim „zdjeličnim“ mokraćnim mjehurom te se pritisak ne prenosi na uretru. Od mokraćnog mjehura do uretre stvara se gradijent tlaka koji dovodi do istjecanja mokraće. Kolposuspenzija je postupak u kojemu se lateralne vaginalne stijenke pričvrste za prepubičnu tetivu, čime se vrat mokraćnog mjehura i



**Slika 1.** Umjetni uretralni sfinkter. Balončić, cijev, pričvršćeni priključak s Huberovom iglom za ubrizgavanje. Preuzeto od: BYRON (2017.)



**Slika 2.** Radiološki prikaz nakon postavljanja umjetnog uretralnog sfinktera. Preuzeto od: BYRON (2017.)



proksimalni dio uretre privlače bliže abdomenu (Byron, 2017.).

### **Uretropeksija**

Mokraćni se mjehur uretropeksijom kranijalno repositionira spajanjem proksimalnog dijela uretre za prepubičnu tetivu. Slično kao i kod kolposuspenzije, povećava se prijenos intraabdominalnog tlaka na uretru, mokraćni mjehur i vrat mokraćnog mjehura sprečavajući negativni gradijent tlaka (Byron, 2017.).

Martinoli i suradnici (2014.) ustanovili su da primjena uretropeksije i kolposuspenzije povećava uspješnost (70 %) i smanjuje stopu komplikacija (10 %) (Byron, 2017.).

### **LITERATURA**

- ARNOLD, S., M. HUBLER, I. REICHLER (2008): Urinary Incontinence in Spayed Bitches: New Insights into the Pathophysiology and Options for Medical Treatment. Book Abstracts, 6th International Symposium on Canine and Feline Reproduction & 6th Biennial EVSSAR Congress, 9-11 July, Vienna, Austria, str. 1.
- BYRON, J. K. (2017): Urethral Incompetence in Dogs: Updates in Management, TVP, 7, 21-27.
- BYRON, J. K., K.H. TAYLOR, G. S. PHILIPS, M. S. STAHL (2017): Urethral Spincter Mechanism Incompetence in 163 Neutered Female Dogs: Diganosis, Treatment, and Relationship of Weight and Age at Neuter to Development of Disease. J Vet Intern Med. 31, 1-7.
- CHEW, D. J. (2011): Diagnosing and Managing Urinary Incontinence in Dogs, College of Veterinary Medicine, The Ohio State University, Columbus, Ohio, USA, str. 1-6.
- KUČER, N. (2012): Poremaćaji mokrenja. U: Veterinarski priručnik, šesto izdanje. (Herak-Perković, V., Ž. Grabarević, ur.). Medicinska naklada, Zagreb, Hrvatska, str. 2218.
- REICHLER, I., M. HUBLER (2006): Urinary incontinence in the dog: clinical workup and differential diagnosis. International Congress of the Italian Association of Companion Animal Veterinarians, 19-21 May, Rimini, Italy, str. 1-2.



# PASOS

## POMAGALA ZA STARE, BOLESNE I TEŠKO POKRETNE PSE

Imate li psa koji pati od starosti, boluje od artritisa, displazije kukova te ne može ustati, hodati po stepenicama, samostalno stajati, uspeti se ili sići iz auta, slab je na stražnje noge, nestabilan kada stoji ili se oporavlja od ozljede ili operacije?

Ako je odgovor pozitivan, **PASOS** ima rješenje za vaš **problem** - specijalno dizajnirane nosiljke za bolesnog, starog ili ozlijeđenog psa! Zaštitite sebe i svoja leđa prilikom dizanja psa koji ima problema s kretanjem i pomozite svom psu da postane ponovo mobilan.



[www.facebook.com/pasos](https://www.facebook.com/pasos)  
 mail: [pasos.pomagala@gmail.com](mailto:pasos.pomagala@gmail.com)  
[www.pasos.com.hr](http://www.pasos.com.hr)  
 mob: 00385 95 1999 853

# IVSA Hrvatska

## 2017./2018.

IVSA (*International Veterinary Students' Association*) postoji za dobrobit životinja i ljudi svijeta, uzdižući potencijal i posvećenost studenata veterinarske medicine promicanju međunarodne upotrebe veterinarskog umijeća i obrazovanja.

Svrha IVSA-e jest promicanje suradnje studenata veterinarske medicine u Hrvatskoj i u svijetu na području stručnog obrazovanja, veterinarske prakse, stručnog usavršavanja i znanstvenog rada. IVSA pridonosi ujednačavanju stavova o veterinarskom obrazovanju i struci te boljem osposobljavanju budućih veterinara za život i rad u međunarodnom okruženju.

Financiramo se organizirajući razna događanja kao što su Slatki dani na VEF-u, Kviz na Veterini, tombolama i dr.

Druga strana IVSA-e, malo zabavnija, jest upoznavanje novih kultura, običaja, ljudi i prijatelja. Prošli semestar napokon je došao naš red da ugostimo kolege iz Ljubljane, Brna i Beča u tradicionalnom Cro-Slo-Austro-Czech vikendu. Iako smo zapravo imali samo tri dana, uspjeli smo pokazati ono najbolje od Fakulteta i Zagreba – muzeje, parkove, Zoološki vrt itd.

Naša prva velika ovogodišnja razmjena dogovorena je s kolegama, sad već prijateljima, iz Rumunjske, točnije iz glavnog grada Transilvanije – Cluj Napoca. Nakon početnog šoka dolaska u nepoznati grad rano ujutro, naspavali smo se, ručali i bili spremni za program koji su nam pripre-



**Slika 1.** Cluj Napoca, Rumunjska



**Slika 2.** Etno sela Rumunjske



**Slika 3.** Na putu za Rumunjsku



**Slika 4.** Posjet rudniku soli u Turdi



**Slika 5.** Radionica za CSAC studente



**Slika 6.** Simpozij u Južnoj Africi



mili. Pokazali su nam sve što se može vidjeti u tjeđan dana, proveli nas kroz prelijepi Cluj i vodili nas u ukletu šumu. Posjetili smo etno-selo, zabavljali se na laser-tagu i penjanju po stijenama, a posljednji smo se dan družili uz kuglanje. Osim toga, potrudili su se organizirati i zanimljive radionice o egzotama, ultrazvuku i konceptu „One health“. Svakako jedna velika hvala našim domaćinima i nadam se da ćemo ih jednako tako dobro ugostiti.

To nije sve, ove godine imat ćemo i razmjenu s Beogradom te još jedan Cro-Slo-Austro-Czech vikend, ovoga puta u Ljubljani.

Sad kad si čuo tko smo, što radimo i kamo idemo, moraš se učlaniti. Čekamo te 😊

**Predsjednik udruge IVSA Hrvatska**

**Robert Dumančić**

# Advent u Africi

## Južnoafrička Republika

„Ček, šta ti ideš u Afriku? A kako to da ideš? A di točno, u Cape Town? Šta te nije malo strah, ipak je to Afrika? Moraš li se cijepiti protiv malarije?“ I cijeli niz drugih pitanja pratio nas je i dva mjeseca prije početka putovanja. Da nam je netko rekao da ćemo jednom posjetiti Afriku, promatrati lavove i plesati s domorocima, ne bismo vjerovali, ali...

Sve je započelo sredinom prosinca na zagrebačkom aerodromu u zimskim jaknama, a nakon presjedanja u Dubaiju (što je bilo avantura samo po sebi), u Johannesburg smo, u svoju prvu afričku noć, izašli u kratkim rukavima. Sljedeća smo tri dana proveli kampirajući, u Sondela Nature Reserveu, te doživjeli svoje prvo safari iskustvo. Ako zamišljate safari onako kako ste ga vidjeli na dokumentarnom filmu, u pravu ste. Upravo je tako. Imali smo tu (ne)sreću da nas je tijekom tog safarija okupala kiša, uz gromove koji su udarali svega nekoliko metara od nas. Unatoč brznoj vožnji i ispadanju stvari (a umalo i nas) iz džipa, osmijeh nam nije silazio s lica. Upravo zbog toga naš prvi safari ostat će nam zauvijek u prelijepom sjećanju.

Nakon tri dana života u divljini, vratili smo se u civilizaciju. Sljedećih smo sedam dana proveli na veterinarskom kampusu u Pretoriji koja je jedan od tri glavna grada u Južnoafričkoj Republici. Iako je, kada čuju riječ Afrika, svima prva asocijacija siromaštvo, mi smo imali prilike uvjeriti se i u suprotno. Već smo u Sondeli ostali iznenađeni uređenošću JAR-a, no nismo ni slutili kakav nas visok standard očekuje dok nismo posjetili kampus. *Skills lab* za studente s mnoštvom simulatora za praktičnu vježbu, sunčane sobe za odmor i relaksaciju od napornog dana, zidovi za rekreativno penjanje, uz ba-



**Slika 1.** Mala pauza od napornih turista



**Slika 2.** Daj mi još malo hrane!



**Slika 3.** Zalazak sunca u Africi



**Slika 4.** Volonterski rad na terenu



zen i roštilj, samo su dio *wellness* strategije po kojoj su afrički veterinari poznati i cijerenjeni u svijetu. Uz to, i sama tema IVSA simpozija bila je dobrobit studenata i očuvanje fizičkog i mentalnog zdravlja kroz karijeru.

Zaboravili smo vam objasniti što je zapravo IVSA simpozij. To nije samo turističko razgledavanje gradova koji nam se čine zanimljivim. Uz upoznavanje ljudi, s istim zajedničkim interesima iz cijeloga svijeta i povezivanja i na profesionalnoj i na osobnoj razini, IVSA simpozij osvježuje nas o problemima unutar veterinarske struke, potiče na diskusiju o njima te promiče dobrobit studenata.

Uz brojne radionice na fakultetu, vrlo vrijedno iskustvo bio je i volonterski rad na terenu u divljim naseljima gdje žive najsiromašniji ljudi iz raznih dijelova Afrike. S ciljem iskorjenjivanja bjesnoće u takvim područjima, studenti veterine udruženi su s brojnim organizacijama koje cijepe životinje. Rad u lošim higijenskim uvjetima s ograničenim materijalom i otežanom komunikacijom s vlasnicima naučio nas je kako se adaptirati u raznim situacijama i djelovati što brže i efektivnije.

Na početku smo bili samo četiri studenata veterine koji su se možda jednom vidjeli u prolazu, ali Afrika nas je toliko zbližila da smo nakon dva tjedna postali prava mala obitelj, zajedno s Lukom Špelićem i Tanjom Strišković. Sve ovo svakako ne bi bilo moguće bez financijske podrške našega fakulteta

i ovim bismo putem još jednom željeli zahvaliti dekanu što nam je to omogućio. Budete li ikad u prilici posjetiti Afriku, od srca preporučujemo da to i učinite, bez obzira na sve. Članak bismo voljeli završiti citatom najvećeg putnika islamskog svijeta, Ibna Batute: „Putovanja vas prvo ostave bez riječi, a onda vas pretvore u pripovjedača.“

Dunja Fuštin  
Vanda Dučić

**Slika 5.** Najveća pusa na svijetu



**Slika 6.** Culture evening i predstavljanje Hrvatske



# ERASMUS+ stručna praksa

## Neu Ulm, Njemačka

U ovom ću kratkom tekstu odgovoriti na sljedeće pitanje: „Bih li ponovila praksu u Neu Ulmu?“ Pa, krenimo ispočetka...

Svoju četveromjesečnu praksu započela sam 8. svibnja 2017. godine u Neu Ulmu, njemačkom gradiću na obali Dunava sa svega pedesetak tisuća stanovnika. Zanimljivo je napomenuti da je taj isti Dunav, osim što razdvaja Ulm od Neu Ulma, također i granica između dviju pokrajina, Baden-Württemberg (Ulm) i Bavar-ske (Neu Ulm).

Pretpostavljam da vas povijest samoga grada pretjerano ne zanima, pa ću krenuti na ono bitno. Anicura Tierklinik Neu Ulm jest klinika za male životinje, pod vodstvom švedskog udruženja veterinarskih klinika „Anicura“. Ono što ovu kliniku razlikuje od ostalih u užem, ali i širem području, jest to što ima tim mladih, ali izrazito stručnih veterinara i određene dijagnostičke uređaje koji inače nisu dio osnovne opreme. Tu se radi o kompjutoriziranoj tomografiji (CT) i uređaju za ultrazvuk srca s kolor-doplerom. Osim toga, tu se obavljaju složeniji operacijski zahvati poput *tie-back* zahvata kod paralize grkljana, TPLO-a kod rupture križnih ligamenata koljena, uklanjanja penisa i bubrega i sl.

Prije negoli vam opišem jedan radni dan, voljela bih vas upoznati s timom.

Markus Geier najstariji je (ako pod starim podrazumijevate dob od 39 godina) veterinar na klinici i sadašnji šef. Specijalizirao je bolesti ptica, ali je poznat i kao veliki ljubitelj mačaka. Osim toga, dr. Geier je i izvrstan kirurg. Vjerujte mi, kada kažem izvrstan, to zbilja i mislim. Što drugo reći za osobu kojoj je 30 minuta dovoljno da ukloni bubreg?! Zatim slijedi Kai Gerstenberger. Mali čovjek golega srca, mirnih i vještih kirurških ruku, uma punog znanja, ali i ljubavi prema pacijentima i razumijevanja prema vla-



**Slika 1.** Dunav kao granica



**Slika 2.** Kompjutorizirana tomografija



**Slika 3.** Jedan od težih pacijenata



**Slika 4.** Hitni slučaj**Slika 5.** Egzotični pacijent**Slika 6.** Prva samostalna operacija

snicima. Dr. Kerstin Sauerbrey simpatična je mlada veterinarica koja, zapravo, može sve. Odličan je dijagnostičar, unutarnje bolesti ima u malom prstu, a u isto je vrijeme i vješta kirurginja. Katharina Pahl jest osoba uz koju se nitko ne može osjećati loše i ima sve kvalitete koje biste tražili u osobi kojoj povjeravate život svoga ljubimca. Stručna, profesionalna, izrazito emocionalno vezana uz pacijente i, ono najvažnije, nikada ne odustaje. Za kraj, ali ne i nevažno, jeste li ikada gledali seriju „Dr. House“ i pitali se postoji li igdje takav doktor? Ja vam mogu reći da postoji, i zove se Jennifer Grün. Primite li ikad pacijenta kompliciranog slučaja i nikako ne možete doći do dijagnoze, slobodno ga pošaljite dr. Grün. Ne samo da će do ispravne dijagnoze doći u kratkom roku nego će i pacijent u to vrijeme dobiti i svu potrebnu ljubav i njegu. Naravno, ne smijem zaboraviti važan dio svakoga veterinarskog tima – tehničare. Ova klinika ima desetak vedrih, nasmijanih i mladih djevojaka od kojih neke uz svoj naporan rad uspijevaju i završiti školovanje s odličnim ocjenama. Moram priznati da neke stresne dane ne bih izdržala bez tih divnih djevojaka.

Nakon što ste sve upoznali, krenimo na opis radnoga dana. Svako jutro u 8 sati počinje vizita, odnosno sastanak veterinarica koji raspravljaju o pacijentima od prethodnog dana, s naglaskom na one koji su došli u noćnom dežurstvu. Nakon toga slijedi obilazak stacioniranih pacijenata. U 9 sati počinje rad ambulante. Svaki su dan jedan veterinar i jedan tehničar zaduženi za pacijente u stacionaru, što obuhvaća dnevne kliničke preglede, dodatne dijagnostičke pretrage ako su potrebne, davanje propisane terapije i obavještanje vlasnika o stanju njihovih ljubimaca. Ostali kreću na rad s pacijentima u ambulanti ili se sele u operacijske sale na unaprijed isplanirane kirurške zahvate. Sve to traje do 14 sati kada bi trebala biti pauza za ručak. Namjerno sam napisala „trebala bi biti“ jer je vrlo često nije bilo. Hitni slučajevi, zakašnjeli pacijenti ili komplikacije u kirurškoj sali dio su svakidašnjice na klinici koja ima vrata otvorena od 0 do 24. U 16 sati nastavlja se rad u ambulantama, sve do 18 sati nakon čega ostaje samo dežurni. Nadam se da vam je jasno da su rijetki bili dani kada je to zbilja završilo točno u 18 sati. Vrlo je često bilo previše posla te smo svi ostajali dulje kako bismo pomogli koliko možemo.

Sigurno se pitate što sam ja tamo sve radila. Vjerojatno bi popis bio kraći kada bih nabrajala ono što nisam radila. Prvi dan su me pitali što me zanima, odnosno čime bih se htjela jednoga dana baviti. Nakon što sam izrazila svoju ljubav prema kirurgiji mekih tkiva i kardiologiji, najviše su mi pažnje posvetili u tim smjerovima. Ne samo da sam asistirala na skoro svakoj operaciji nego su me i naučili da neke odradim i samostalno. Isto je bilo i s kardiologijom. Drugi mjesec prakse već sam odradila svoj prvi samostalan ultrazvuk srca. Također, sjećate li se da sam vam rekla kako je svaki dan jedan veterinar zadužen za stacionar? Da, katkad sam to bila i ja. Pokažete li želju za radom i učenjem, malo požrtvovnosti i ne bojite se priznati da nešto ne znate, na ovoj vam se klinici sva vrata otvaraju.



**Slika 7.** Najmlađi pacijent

No, kako ne biste mislili da sam po cijele dane samo radila, ispričat ću vam i kako sam se zabavljala. Dan koji će mi zauvijek ostati u sjećanju jest 24. srpnja, tzv. *Schwörmontag*. Radni je dan završio u 14 sati, nakon čega smo se svi presvukli u kupaće kostime, uzeli svoje čamce i „luftiće“, hranu i piće i uputili se prema Dunavu. Povezali smo sve čamce i krenuli u laganu plovidbu do centra Ulma. Lijepo vrijeme i dobro društvo recept je za dobru zabavu.



**Slika 8.** Antistresna terapija

Za kraj vam mogu reći da je bilo jako teških dana, ali i onih lakših. Katkad sam na kraju dana bila iscrpljena, katkad tužna, ali i katkad sretna i ponosna na samu sebe. Kada to sve zbrojimo, mislim da vam je jasan odgovor na pitanje s početka. Bih li ponovila praksu u Neu Ulmu? Bez razmišljanja, DA! I hoću. Neu Ulm, vidimo se uskoro!



**Slika 9.** Schwörmontag

**Ana Maria Bašić**



# REPTILOMANIJA+

EDUKATIVNA IZLOŽBA



**ULAZ SLOBODAN**

**23. - 27. SVIBNJA 2018.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**

**VETERINARSKI FAKULTET**



# ERASMUS+ ljetna praksa

## Gowran, Irska

Za sve vas koje zanimaju egzotične životinje, ponajprije gmazovi. Razmišljate da i sami odete na praksu u inozemstvo, ili jednostavno volite putovati. Napisat ću ukratko što biste mogli očekivati te ću podijeliti svoje iskustvo.

Moja praksa u trajanju od dva mjeseca započela je 1. srpnja 2017. godine. Praksu sam odradio u „The National Reptile Zoo“ koji se nalazi u malenom gradiću Gowranu, Blizu Kilkennyja. O samom putovanju neću vam puno pisati jer vjerojatno i sami znate nekoga tko je bio ili ste bili u Irskoj te vam je poznato. Dovoljno je reći samo da je putovanje jednostavno, letovi iz zagrebačke zračne luke su česti te za svega nekoliko sati stižete, ovisno o tome hoćete li presjedati ili ne.

„The National Reptile Zoo“ je zoološki vrt posvećen gmazovima, jedini takav u Irskoj. Posjeduje više od 150 različitih vrsta zmija, guštera i krokodila. Osim funkcije zoološkog vrta, također se aktivno bave očuvanjem ugroženih vrsta, istraživanjima te edukacijom.

Praksa se odrađivala 40 sati tjedno, tj. pet dana po osam sati. Raspored smo slagali sami, kako nam je odgovaralo, te su nam izlazili ususret ako nam je trebalo više slobodnog vremena. Praksa se sastojala od osnovnog pregleda svih životinja svaki dan, kako bi se na vrijeme uočile nepravilnosti zdravstvenog stanja. Katkad smo pomagali u hranidbi životinja te promatrali uzimaju li životinje hranu pravilno i u dovoljnim količinama.

Životinje koje bi se ozlijedile, bilo da je riječ o ogrebotinama bilo ranama od ugriza, trebalo je zbrinuti. Očistili bismo im rane te u nekim slučajevima stavljali i zavoje da se ne bi inficirale. Pokazano nam je kojim se sredstvima



**Slika 1.** Prijateljski nastrojen *Varanus salvator*



**Slika 2.** Carski škorpion pod UV svjetiljkom



**Slika 3.** Kornjača *Chelonoidis denticulata* stara svega nekoliko minuta

**Slika 4.** *Iguana iguana* i *Chelonoidis carbonaria*



koristiti, koja bi trebalo izbjegavati kod hladnokrvnih životinja. Također, bili smo suočeni s mnogim problemima praktične naravi u smislu da životinjama nije uvijek bilo moguće pristupiti jer su neke bile preopasne poput američkih aligatora ili zmija otrovnica.

Za vrijeme prakse mogli smo izabrati i vlastiti projekt, koji smo bili u mogućnosti raditi kad god bi za to našli vremena. Moj je projekt bio dijagnostika unutarnjih parazita u gmazova te sam uz mikroskop, koristeći se metodom flotacije ili nativnim preparatima, pretraživao uzorke.

Što se tiče života u Irskoj, ljudi su ugodni, pristupačni i pristojni. Irska je lijepa i svakako se isplati istraživati i proputovati je koliko god možete.

**Fran Barac**

# SUMMER SCHOOL FOR STUDENTS ZOOZOSES



**29<sup>th</sup> April – 4<sup>th</sup> May 2018**  
**Dubrovnik - Croatia**



**Faculty of Veterinary Medicine – University of Zagreb**

**VetNEST - Veterinary Network Of European Student & Staff Transfer**





# Kratka CEEPUS ekskurzija

## Beč, Austrija

Prošle akademske godine održana je još jedna u nizu kratkih CEEPUS-ovih ekskurzija. Naš je fakultet predstavljalo desetero studenata koji su zajedno s još toliko kolega iz Ljubljane od 14. do 16. rujna 2017. boravili u glavnom gradu Austrije, Beču.

Za one koje ne znaju, namjena CEEPUS-ove ekskurzije u Beču jest da se na zabavan način studenti upoznaju s pasminom konja lipicanac, doznaju sve o njezinu podrijetlu te vide kako se ta pasmina može trenirati i za što je sve sposobna u rukama vrhunskih trenera.

Na put prema Beču smo krenuli rano ujutro, pod vodstvom doc. dr. sc. Zorana Vrbanca i doc. dr. sc. Ane Shek Vugrovečki, kako bismo na vrijeme stigli u organiziran posjet zoološkom vrtu, koji je ujedno i jedan od najljepših u Europi. Tamo nas je dočekaao veterinar dr. Folko Balfanz koji je zadužen za sve životinje u zoološkom vrtu. Nažalost, nismo uspjeli vidjeti cijeli zoološki vrt, ali smo s dr. Balfanzom obišli najvažnije dijelove. Najprije nam je općenito pričao koja je njihova zadaća veterinara u takvoj ustanovi te na koji su način zaduženi za pronađene i ozlijeđene divlje životinje na cesti i slično.

Obišli smo i dvije pande stare godinu dana, koje su na svijet došle upravo u bečkom zoološkom vrtu, a roditelji su im ubrzo nakon njihova rođenja vraćeni u Kinu gdje i pripadaju. Na taj se način potiče razmnožavanje i očuvanje ove vrste. Uz pande, vidjeli smo i ostale zanimljive životinjske vrste koje nemamo prilike vidjeti u Zoološkom vrtu grada Zagreba.

Na kraju nam je ostalo nešto vremena da i sami pogledamo što nas zanima. Doznali smo da se kod njih može doći i volontirati, ali je lista čekanja poduža, i nekoliko godina. Budući da se blizu zoološkog vrta nalazi i čuveni dvorac Schönbrunn, iskoristili smo priliku razgledati ga, baš kao i ostale znamenitosti Beča.



**Slika 1.** Jedna od pandi iz ZOO-a



**Slika 2.** Baby-žirafa

**Slika 3.** Dvorana Španjolske škole jahanja



**Slika 4.** U razgledavanju Španjolske škole jahanja



**Slika 5.** U Piberu na paradi



Sutradan smo obišli španjolsku školu jahanja gdje su jahači i njihovi pomagači odrađivali svoj svakodnevni trening s posebno odabranim lipicancima. Dvorana u kojoj vježbaju impresivna je i izvana i iznutra.

Nakon toga smo imali dogovoren obilazak po štalama u kojima se drže konji te smo vidjeli i prostorije u kojima se nalazi sva potrebna oprema za njih. Svaki konj ima svoj poseban tretman, od prehrane do treninga i njege, te ima sedlo koje je rađeno po mjeri, baš za njega. Koliko je jahač dobar, vidi se po ukrasima na sedlu. Ukratko, španjolska škola jahanja nas je uistinu oduševila.

Kasnije tog dana imali smo priliku posjetiti Veterinarski fakultet u Beču gdje su nas gostoljubivo dočekali. Kako nam je tema posjeta vezana za konje, tako smo i tamo razgledali kliniku specijaliziranu za konje. Njihov je fakultet znatno veći od našega i impresivniji. U trenutku posjeta mogli smo vidjeti kako studenti s profesoricom prate dvije kobile da bi u pravom trenutku mogli obaviti embriotransfer. Također su nam pokazali kako sami prikupljaju sjeme pastuha uz pomoć fantoma. Pokazali su nam i studentsku vježbaonicu gdje mogu doći učiti se na lutkama vaditi krv, gledati ultrazvukom itd.

Posljednji, treći dan, krenuli smo u Piber koji se nalazi pored Graza. To je malo mjesto u kojemu se nalazi posjed gdje uzgajaju lipicance koji kasnije odlaze u španjolsku školu jahanja. Tamo se uglavnom nalaze kobile i njihova ždrebada dok se ne razviju u dovoljno snažne konje koji se mogu jahati i trenirati. Mogu se naći i konji koji su prestari za jahanje



i nastupanje, pa tamo sretno provode ostatak svoga života. U tom se mjestu tradicionalno svake godine održava parada lipicanaca gdje oni svojim nastupom pokažu kako napreduju te je općenito to slavlje lipicanske pasmine. Očekivano, na taj dan došao je velik broj turista te ljudi koji dolaze svake godine. Prije parade imali smo priliku s njihovim vodičem obići štale i mjesta gdje se drže kobile, konji i ždrebad te nam je objašnjeno kako dobiju uzgoj kakav žele.

Nakon toga slijedila je parada koja je trajala otprilike tri sata. To je svakako doživljaj i prizor koji vrijedi doći vidjeti. Sve je bilo lijepo organizirano i konji su ulazili u posebno ograđen prostor te nam pokazivali svoj talent, naravno kao i njihovi ponosni jahači. Prvo su ulazile kočije i zaprege, zatim je puštena ždrebad sa svojim majkama.

Sve u svemu, veoma zanimljivo iskustvo. Nažalost, približio se i trenutak kad smo morali krenuti natrag za Hrvatsku te je i naša mala lijepa ekskurzija privedena kraju.

Za kraj svakako preporučujem, tko ima priliku i želju ići, da ode vidjeti jer vjerujem da će uživati, a i doznati nešto novo. Dobro provedena tri dana!

**Mateja Buriša,  
Ana Kajmić**



**Slika 6.** Na klinici za konje



**Slika 7.** Parada



**Slika 8.** Skupno slikanje s kolegama iz Slovenije



Faculty of Veterinary Medicine,  
University of Zagreb

14. - 17. June 2018

# 2018

## 2nd European Veterinary Students Seminar

15th Wildlife Day - 16th One Health Day - 17th Clinical Day



**FOLLOW US ON FACEBOOK**

<https://www.facebook.com/European-Veterinary-Students-Seminar/>



2nd EVSS  
Croatia 2018



IVSA

# CEEPUS život u Üllőu!

## Üllő, Mađarska

Moje iskustvo studentskih razmjena počelo je preko CEEPUS organizacije za razmjenu studenata. Destinacija mi je bio Veterinarsko sveučilište u Budimpešti, gdje sam odradila stručnu praksu. Kako su konji područje mog interesa, mjesec dana provela sam na njihovoj klinici za konje, u malom gradiću Üllő, 30 km udaljenom od Budimpešte, gdje se studentima održava nastava vezana za farmske životinje i konje. Što se tiče smještaja, nažalost nisam uspjela dobiti smještaj na klinici gdje ima kapaciteta za spavanje, već sam bila u studentskom domu u Budimpešti, koji je osnovao veterinar i u kojemu su većinom smješteni studenti veterine. Naravno, kako se glavna zgrada sveučilišta nalazi u Budimpešti, postoji organiziran prijevoz od fakulteta do klinike u Üllőu ili se do nje može doći javnim prijevozom, što je i brže 😊.

Na praksi mi je dodijeljen mentor koji me upoznao s mojim zadacima i radnim okruženjem. Klinika je jako velika i ima tri štale za konje te jednu za krave i svinje. Moj je dan na klinici započinjao vizitom, a nastavljao se dijeljenjem terapija, šetanjem i odrađivanjem dodatnih pretraga koje su bile potrebne za stacionirane konje. U prosjeku je dnevno bilo oko 10 – 15 stacioniranih konja. Oko 12 sati započinjale su operacije, a najčešće su to bile kastracije,



**Slika 1.** Veterinarsko sveučilište u Budimpešti



**Slika 2.** Klinika za konje, Üllő



**Slika 3.** Parlament u Budimpešti



**Slika 4.** Artroskopija

artroskopije, osteosinteze i operacijsko liječenje kolika. Također, postoje i noćne smjene. Jednom tjedno održavao se *journal club* na kojemu su se obrađivale razne teme vezane za liječenje konja. Profesori na klinici jako vole da se studenti dokažu te, iako su na početku malo suzdržaniji, nakon dokazivanja svojim radom jako su pristupačni i sve više vam dopuštaju da radite sami. Na klinici ima mnogo mladih doktora koji se veoma posvete studentima te žele da što više naučite boraveći tamo. Nije određeno točno koliko vremena treba provesti na klinici, pogotovo ne studentima na razmjeni, ali kako sam ja jako zainteresirana za ovo polje veterine, praktički sam ondje bila stalno 😊.

**Slika 5.** Veeliki prijatelj Dollar

Uz boravak na klinici imala sam i dosta vremena za upoznavanje Budimpešte, druženje s novostečenim prijateljima koje sam tamo upoznala, pa čak i za izlaske. Sve u svemu, jako sam zadovoljna razmjenom te ju preporučujem svakome. Stekla sam novo iskustvo, upoznala studente veterine iz svih dijelova Europe (studij upisuje mnogo stranih studenata), napredovala sam u engleskom jeziku i ipak malo naučila taj jako težak i kompliciran mađarski jezik!

**Ana Manojlović**34<sup>th</sup>

# WORLD VETERINARY ASSOCIATION CONGRESS



Barcelona, Spain | May 5 - 8, 2018

# Ljetna škola planinskog stočarstva

## Stara Planina, Srbija

**M**oja priča počinje u menzi našega faksa, kad mi je kolegica s godine predložila CEEPUS natječaj za Ljetnu školu planinskog stočarstva. Nakon kratkog razmatranja odlučila sam da zaista želim ići živjeti dva tjedna na planini, što je bila dosta impulzivna odluka, koju na kraju nisam požalila.

Kolegica Valentina i ja upustile smo se avanturu tako što smo se zaputile vlakom prema Beogradu gdje nas je dočekala koordinatorica koja nas je odvela u studentski dom "Rifat Burdžević". Sljedeća smo dva dana proveli u Beogradu, gdje smo se upoznale s dva studenta iz Austrije koji su također išli na ovu ljetnu školu. Zatim smo otišli u obilazak Veterinarskoga fakulteta i upoznali još neke domaće studente s kojima ćemo provoditi vrijeme na ljetnoj školi. Naravno, ni izlazak nije izostao, obišli smo Kalemegdan, večerali u otmjenim restoranima i uživali.

Nakon nekoliko dana sjeli smo u službeni kombi fakulteta i zaputili se 362 kilometra južno, u srce Stare planine, u mjesto koje smo zvali domom sljedeća dva tjedna: Gornji Krivodol, 300-tinjak metara od granice s Bugarskom. U tom malom selu na 900 metara nadmorske visine, u staroj preuređenoj školi, smještena je "Baza za planinsko stočarstvo". Tamo smo s još 11 studenata i dva profesora provodili dane, imali smo raspored za kuhanje i čišćenje i jeli smo raznoliku hranu. Odlična stvar kod boravka u planini jest da je sva voda oko tebe pitka, tako da smo izvorsku vodu svakodnevno pili. Dani su bili raznoliki. Prijepodne bismo imali predavanje o raznolikosti života u nacionalnom parku "Stara planina", o ugroženim vrstama koje tu borave, poput buše, balkanskog magaraca ili karakačanske ovce, brojnih endemskih vrsta leptira. Mnogo smo čuli i o siru, kojim su ljudi u pirotskom kraju Srbije opsjednuti! Imaju čak i prvu mljekarsku školu koja proizvodi najbolji kačkavalj. Poslije



**Slika 1.** Prva večera u Beogradu sa kolegama iz Austrije



**Slika 2.** Valentina, Patrik i magarac



**Slika 3.** Balkanski magarci kod Sergeja



**Slika 4.** Istraživanje planine oko nas



**Slika 5.** Duga hodnja kroz planinu



**Slika 6.** Slapovi na Dojkinačkoj rijeci



**Slika 7.** Nezboravan pogled koji ostavlja dah, Stara planina



ručka sjedali bismo u kombi i odlazili na okolne farme pregledavati životinje. Velike su razlike u radu na klinikama i radu na terenu, traži se snalažljivost, veliko znanje i dobar odnos sa stočarima. S jako malo opreme uspjeli smo napraviti sve što smo zamislili. Radili smo na dijagnostici gravidnosti krava, dehelmintizaciji jarića i janjića, obrezivanju papaka ovcama i kozama. Svaki put kad bismo išli kod Sergeja na farmu balkanskih magaraca, razvukao mi se osmijeh na licu. Magarci su divne životinje; degustirali smo njihovo mlijeko i korigirali im kopita. Profesori koji su se izmjenjivali bili su jako susretljivi i odgovarali su na sva naša pitanja, pokazivali nam sve tehnike i metode koje smo i sami radili na kraju. Najviše me obradovalo kad smo pred kraj radili hitni carski rez krave.

Nije, naravno, bio sve samo rad. Išli smo na razne izlete, često u najbliži Dimitrovgrad, udaljen 54 km, gdje smo kupovali namirnice, a mlijeko smo dobivali svježije od susjeda svaku večer. Penjali smo se po brdima, skupljali razne trave za prirodne čajeve i vječno hvatali signal za mobitel. Uputili smo se i na podužu hodnju uz Dojkinačku rijeku kroz samu planinu, ali isplatilo se jer smo se na kraju kupali na slapu, u prilično hladnoj, ali čistoj vodi. Posljednju smo večer imali veliku zabavu uz vatru koju smo ložili ispred baze, kao i svaki dan. Nije nedostajalo ni janjetine ni zeca i pite ispod peke. Sljedeće smo jutro krenuli natrag put Beograda gdje smo posljednju večer proveli u izlasku s prijateljima koje smo upoznali na planini.

Ovo je bilo jedno divno iskustvo, naučila sam mnogo o terenskom radu i životu na planini. Preporučila bih svima ovu ljetnu školu jer se čovjek napokon makne od grada i tehnologije i uživa u prirodi i darovima koje nam ona pruža.

**Roberta Čordaš**



# IX. međunarodni kongres veterinarara za ovce

## Harrogate, UK

Engleski gradić Harrogate bio je mjesto susreta brojnih veterinarara, agronoma i studenata zainteresiranih za rad s malim preživačima. Tu je, od 22. do 26. svibnja 2017. godine, održan IX. međunarodni kongres veterinarara za ovce.

Harrogate se nalazi u slikovitoj pokrajini Sjeverni Yorkshire, nedaleko grada Leedsa. U pauzama između predavanja ukrala sam nešto vremena da se i sama uvjerim u sve što na internetu piše o povijesti i znamenitosti grada. Zbog izvora ljekovite vode u povijesti je bio poznat kao *The English Spa*, a lječilišni turizam i danas je, uz sve naglašeniji kongresni, važan dio života ovoga viktorijanskog grada.

Naš su kongres organizirali Međunarodna udruga veterinarara za ovce (*International Sheep Veterinary Association*) i Udruženje veterinarara za ovce (*Sheep Veterinary Society*) koje djeluje kao dio Udruge veterinarara Velike Britanije (*British Veterinary Association*). Tijekom pet dana održano je 360 predavanja i radionica, a na Kongresu je sudjelovalo 700 veterinarara iz 50 država svijeta. Svaki je dan započinjao plenarnim predavanjem nakon čega su slijedila izlaganja po tematskim cjelinama, istodobno u pet različitih dvorana.

Najviše je pažnje bilo posvećeno parazitskim bolestima, i to u kontekstu sve prisutnije rezistencije na antihelmintike, te metodama suzbijanja zarazne šepavosti. Posebno bih izdvojila predavanje profesorice Julie Fitzpatrick, ravnateljice Moredun Research Instituta u Edinburgu, koja nas je upoznala s novostima u veterini



**Slika 1.** Svečano otvaranje kongresa



**Slika 2.** Zgrada opere u Harrogateu



**Slika 3.** Izlaganje izv. prof. dr. sc. Antuna Kostelića

**Slika 4.** Zemljopisna karta s označenim zemljama sudionika kongresa



malih preživača, kao što su cjepivo protiv parazita *Haemonchus contortus*, serološki test za otkrivanje supkliničkih slučajeva šuge ili upotreba biomarkera i ultrazvuka u dijagnostici ovčjega plućnog adenokarcinoma.

Na ovogodišnjem je kongresu i Hrvatska imala svojega predstavnika. Profesor Antun Kostelić s Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu predstavio je rad pod naslovom *Sheep flock health on Croatian Islands*. Rad je prikaz desetogodišnjeg praćenja i istraživanja bolesti ovaca na našim otocima, a izlaganje je uvelike zainteresiralo sudionike sekcije *Engagement and health planning* upravo zbog specifičnosti ekstenzivnog načina držanja u otočkim uvjetima.

**Slika 5.** Obilazak Londona u povratku



Meni, kao studentici pete godine veterine, ovaj je kongres bio iznimna prilika za učenje i otkrivanje novih izvora informacija u području koje me zanima, ali i prilika da proširim vidike, počnem razmišljati izvan okvira svojih dosadašnjih spoznaja, i o ovcama o kozama, ali i o veterini općenito. Sljedeći se održava u Sevilli 2021., što mi se čini izvrsnom prilikom za nastavak širenja vidika!

**Sofija Džakula**

Your Singapore, the Tropical Garden City

43<sup>RD</sup> WORLD SMALL ANIMAL  
VETERINARY ASSOCIATION CONGRESS  
AND 9<sup>TH</sup> FASAVA CONGRESS  
25-28 September, 2018 | Singapore

See you there!



# TDK konferencija

## Budimpešta, Mađarska

**T**DK konferencija održana je 22. studenoga 2017. u Budimpešti. Na konferenciji su sudjelovale Marina Prišlin, Antonia Bem, Dina Jelenčić, Sara Strelec i Anamaria Sluganović, studentice Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Konferencija je održana pretežno na mađarskom jeziku, uz nekoliko govornika na engleskom jeziku, a trajanje svake prezentacije znanstvenog istraživanja bilo je vremenski ograničeno na osam minuta i dodatne dvije minute za postavljanje pitanja iz žirija i publike. Zanimljiva istraživanja studenata veterinarske medicine na konferenciji pokrivala su sva područja veterinarske znanosti i struke.

Studentice našega fakulteta svoje su prezentacije održale na engleskom jeziku i od žirija osvojile posebnu nagradu za odličnu prezentaciju. Također, nagrađene su certifikatima za sebe i svoje mentore te Veterinarskim priručnikom za uspješan nastavak obrazovanja.

Antonia i Dina, studentice šeste godine VEF-a publici i žiriju predstavile su istraživanje na temu „*Comparison of the LH wave characteristics in dairy cows subjected to three synchronization protocols*“. Ovo zanimljivo kliničko istraživanje odrađeno je na Klinici za porodništvo i reprodukciju u suradnji s mentoricom, višom asistenticom Branimirom Špoljarić. Studentice su bile izrazito zadovoljne trodnevnim iskustvom, a posebno im se svidio starinski izgled i arhitektura sveučilišta u Budimpešti. Kao odgovor na pitanje što im se na konferenciji najviše svidjelo, Dina je rekla: „Konferencija je bila vrlo dobro organizirana i svidjelo mi se to što su teme bile stvarno raznovrsne i bilo je puno tema koje su meni osobno bile izrazito zanimljive.“ Antonia se složila s Dinom i nadopunila ju: „Sviđa mi se to što su studenti bili sa svih godina sveučilišta, od prve do šeste, što govori da se na sveučilištu studente potiče da rade istraživanja od prvoga dana. Mislim da je to vrlo dobro i za studiranje i za lakše opredjeljivanje studenata na različita područja veterinarske djelatnosti u budućnosti.“



**Slika 1.** Studentice nakon svečane dodjele nagrada TDK konferencije u Budimpešti



**Slika 2.** Druženje na Božićnom sajmu u Budimpešti

Marina, studentica 5. godine Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, izložila je svoj znanstveni rad na temu „*Effect of organic selenium supplementation on level of alkaline phosphatase and zinc in chicken tissues at the end of the fattening period and after fasting*“ koji je radila s mentoricom izv. prof. dr. sc. Jasnom Aladrović. Na pitanje o tome zašto se prijavila na konferenciju, Marina je izjavila: „Prijavila sam se primarno jer sam htjela posjetiti Budimpeštu i uz to steći iskustva u predstavljanju rada na en-

**Slika 3.** Studentski dom Jozsef Marek u kojem su bile smještene studentice



**Slika 4.** Zgrade Veterinarskog fakulteta u Budimpešti



**Slika 5.** Zgrade Veterinarskog fakulteta u Budimpešti



gleskom jeziku. Znala sam da će ići još studenata s našega fakulteta i da ću upoznati i studente veterine u Budimpešti, što me izrazito radovalo. Sve što sam očekivala, i dogodilo se, i izrazito mi je drago što sam se prijavila!“

Posljednje u izlaganju studenata s Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu bile su Sara i Anamaria, studentice 6. godine koje su odlučile predstaviti istraživanje koje su, u suradnji

s mentoricama prof. dr. sc. Suzanom Mi-linković-Tur i asistenticom Ivonom Žura-Žaja sa Zavoda za fiziologiju i radiobiologiju, izradile na drugoj godini fakulteta na temu „*Gender-related differences in lipid metabolism indicators and oxidative stress in swine blood serum and myocardium*“. Samo izlaganje na engleskom jeziku izrazito im se sviđjelo i ono je bilo velika motivacija pri prijavi, a na pitanje što su najvrednije dobile od cijelog iskustva, djevojke su rekle: “Najviše nam se sviđjelo to što smo imale priliku komunicirati i družiti se s kolegama veterinarima iz Mađarske i vidjeti na koji način njihovo sveučilište funkcionira. Uočile smo mnogo pozitivnih stvari u njihovu sustavu, ali i mnogo onih u kojima je naš fakultet jači te sada još više cijenimo sve što nam naš fakultet pruža. Nadamo se i u budućnosti nastaviti ovaj lijep odnos i rado bismo opet posjetili Budimpeštu i njihovo veterinarsko sveučilište.“

Konferencija već godinama okuplja mlade znanstvenike te ih potiče da se iz godine u godinu trude, dokazuju i treniraju svoje vještine u postavljanju istraživanja te njihovu provođenju i predstavljanju. Većina je kvalitetnijih istraživanja i izlaganja nagrađena nekom od mnogih nagrada sveučilišta ili sponzora konferencije. Veterinarsko sveučilište u Budimpešti i njegov prorektor prof. dr. sc. Tibor Bartha srdačno su ugostili studentice i omogućili im ugodan smještaj u studentskom domu Marek Jozsef te ručak u kantini njihova sveučilišta.

Veterinarsko se sveučilište nalazi u neposrednoj blizini jednoga od najvećih željezničkih kolodvora u Budimpešti, Keleti pályaudvar, i vrlo je dostupno za sva prijevozna sredstva. Arhitektura sveučilišta izrazito je lijepa i ugodna.

Odlazak na konferenciju studenticama je bilo izvrsno iskustvo i vrlo rado bismo opet posjetile prekrasan grad Budimpeštu i vrlo srdačne studente i profesore Veterinarskoga sveučilišta u Budimpešti.

**Anamaria Sluganović**



# Erasmus Experience in Zagreb

## Hey everyone!

I'm Eloïse, I'm 20 years old, and I'm from France. I went to Zagreb for 3 months, from the 21<sup>st</sup> September to 24<sup>th</sup> December 2017, during my Erasmus mobility course.

In France, I'm not studying Veterinary medicine, but I would like to become a vet. So, when my school asked me where I wanted to go for my Erasmus I chose Zagreb, because it's a veterinary school and the course is in English, and I'd never been there. I needed to improve my English, so I just seized the opportunity.

During these three months, I discovered so many things, such as the veterinary courses, and even if I didn't understand all the courses at the beginning (because French people are very bad in English), I really enjoyed them, especially the Anatomy course.

I also discovered Croatia, and its National Parks, such as Plitvice with Erasmus, Risnjak National Park with the university, Zadar by myself. Zadar was my first backpack trip, organized by myself. I went to the Island of Ugljan and heard the Sea Organ, it was magic. Go to this place, sit on the stairs and just listen. It was, probably, one of my best moments in Croatia. I also discovered Zagreb, where I lived for three months.

I rented a flat near Kvaternikov Trg. This was very useful, because I needed to walk only 20 minutes to the university, and the city centre (or 10 minutes by Tram). I had 2 flatmates, guys from France and Italy, also on Erasmus. However,



**Fig. 1.** Zadar, Sea Organ



**Fig. 2.** Plitvice Lake



**Fig. 3.** VetMed Friend, Risnjak National Park

**Fig. 4.** Main Zagreb square**Fig. 5.** Mark's church, Christmas time**Fig. 6.** VetMed Friends

we did not have the same schedule (I had so much more work than them, what a surprise!), so we didn't talk a lot.

I really appreciated Zagreb, it is a very beautiful city, and very safe. But the moment I most enjoyed was December, Christmas time. Usually, I love Christmas time, but in Zagreb, it was the best moment ever! The whole city was full of lights, and festive.

Also, during this time, I met a lot of people, Erasmus and Vet Med students, from everywhere in the world: Israel, Hong Kong, England, Germany, America, Greece, Slovenia, Korea, Lebanon and Croatia (And France). But I stayed with my class, we went to restaurants (many times... Lebanese, Chinese, Italian, fastfood...) and had parties. They made me happy, and helped me when I needed. I hope we'll always stay in contact. Maybe, thanks to this experi-

ence, I'm more open to other people now.

This Erasmus was a very beautiful experience, and made me want to go travelling, in the future. I really loved Croatia; it is a very beautiful, safe and cheap country. This experience opened my mind, and gave me self-confidence to become a VetMed student in France. And, if one day you have the opportunity to go abroad for few weeks, or a few months, just do it! It's difficult, at the beginning, but it will be, probably, the best experience of your life.

**Eloïse Jouve-Leroy**



# REPORT

## Experiences with the Large Carnivore Research Team in Croatia

### Introduction

I'm Jacopo, a student at the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Pisa (Università di Pisa), Italy. I spent almost 3 months, from early April 2016 to late June 2016, in Croatia, thanks to the Erasmus+ learning agreement that I arranged with the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Zagreb.

I had the privilege to work along side the veterinarians of the Large Carnivore Research Team of the Biology Department at the Faculty, and my dear friends as well, prof. Đuro Huber, dr. Slaven Reljić and prof. Josip Kusak, all of whom deserve my greatest thanks, because of the support and help they gave me to develop my master's thesis about anesthesia in brown bears.

Specifically, the aim of the thesis was to assess the variations of blood pressure in anesthetized brown bears and to identify the causes, and potential risks for the animal's health, and possible treatments and procedures that can be carried out in order to prevent those risks. Hence, I took advantage of the Erasmus+ fund to work along side the Large Carnivore Research Team and to collect data for my master's thesis, spending most of my stay either in the woods or at the faculty. I was enrolled in any ongoing fieldwork or lab activity (bear radiotracking, field research of dropped-off radio-collars, bear and lynx chemical immobilization, trap setting, bear necropsy, sample collection and database updating) during my stay.

### National and international projects

The bear radio-tracking and captures were carried out within two different projects: the international EU LIFE DinAlp Bear Project and the project of Plitvice Lakes National Park (*Istraživanje brojnosti, korištenja prostora i ponaša-*



**Fig. 1.** Čorkova Uvala, Plitvice Lakes NP.



**Fig. 2.** Đuro and Ivica the park ranger while radio-tracking a bear.



**Fig. 3.** A green bridge for wildlife crossing.

**Fig. 4.** A bear-proof garbage bin.



**Fig. 5.** Radio-collar dropped by a bear.



**Fig. 6.** A trap site. Notice the central bait (corn), surrounding fences made of fallen branches, and the foot snare in the foreground.



nja medvjeda na području NP Plitvička jezera, "Study of numbers, space use and behaviour of bears in the area of Plitvice Lakes National Park."). The former aims to improve the population level management and conservation of brown bears in the northern Dinaric Mountains and the Alps by improving coexistence with these large carnivores, as well. There are several threats to the bear population in the project area, such as a lack of understanding of bears' socio-economic and environmental value, inflated estimations of the risk of bear attacks, leading to a lower tolerance of bears; and high traffic-related mortality, associated with the increasing fragmentation of its habitat as a result of growing traffic infrastructure and urbanisation. The LIFE DinAlp Bear Project aims to reduce these threats by adopting different techniques, and to confirm the efficacy of the actions, a certain number of bears must be captured, anesthetized, and equipped with a radio-collar.

In order to monitor the bears and thus see their use of the area, documentation of their dispersal, in relation of human activities and infrastructures (e.g. green bridges, sub-way passages, doors and ramps built on the sides of the highways in order to let wildlife escape if they do get through) park rangers and researchers may use several devices, such as camera-traps, both VHF (Very High Frequency) and GPS (Global Positioning System) transmitters on collars (Vectronic Aerospace®, Berlin D-12489, Germany) and receivers. Hence, it is possible to manually localize (radio-track) bears carrying radio transmitters by using VHF receivers, and estimating the position of the animal within a few hundred meters of accuracy by triangulating the directions of the signal from different locations. Radio-tracking from cars is tricky since, in order to receive the transmitter signal from the ground, the operator must be within a few kilometres, or sometimes a few hundred meters, of the bear, depending on terrain (hilly and heterogeneous in most of the current study area). Otherwise it can be done from an airplane or a helicopter as well. Anyway, as bears move over extensive areas, it requires a high investment of time and fuel to radio-track them manually. The GPS receiver calculates its position in longitude, latitude and elevation by receiving signals from satellites and mark take positions



very accurately and frequently, without restriction to specific periods. These collars also have a GSM-module and an activity sensor. All position and activity data are saved in the GPS, and the GSM module sends the latest positions as an SMS to a receiving station. The researchers can access all the data by linking to a database that is connected to the receiving station and the radio transmitter is only turned on when they need to track the bear manually. The activity sensor measures the bear's movements on X and Y axes and can give a rough estimation of the bear's level of activity.

Most of our fieldwork was spent on radio-tracking previously collared bears either to assess their territory use or to check, in the case of a female bear, whether she gave birth to cubs in winter or not. We were housed at Čorkova Uvala field station in Plitvice Lakes NP and we radio-tracked the bears from a car throughout the park. Additionally, various radio-collars had to be collected, since one automatically dropped off the bear after the scheduled time (usually 3-4 years) and another was removed by the bear itself. This is not rare in adult males, which often have a large, muscular neck. One collar was even found as far as in Bosnia-Herzegovina, several km from the Croatian border.

### **Brown bear (*Ursus arctos*) and Lynx (*Lynx lynx*) chemical immobilizations**

The bears were trapped in April and May 2016, during the night and early morning (between 7 p.m. and 6 a.m.) with ambient temperatures ( $T_a$ ) ranging from 5 °C to 16 °C. The five bears were two male adults (approximately more than 4 years old), with one that was captured twice, one male yearling (1-year-old) and one female adult. Age was estimated during the capture depending on body mass, dentition, length measurements and other significant signs obtained either on-field or from the camera-traps placed at the trap site, then it was calculated by counting the cementum annuli when analysing the bear's first premolar cross-section on the microscope in a specialist laboratory.

Four trap sites were set up in Plitvice Lakes National Park's woods, close to forest tracks, and each of them consisted of four to five diffe-



**Fig. 7.** The loop of a foot snare (Aldrich's snare).



**Fig. 8.** Drugs, dart-syringes and dart-gun.

rent steel foot snares which were anchored to different trees and displaced in a circle around the bait (usually corn, fruit, vegetables, carrions).

Foot snares are currently the most used bear capture method in Croatia, thanks to the feasibility of setting them up by experienced veterinarians and researchers primarily because of the dense vegetation of the local forests, and they are currently used within both national and international projects.

These snares have been used to capture bears for decades, for both management and research purposes. The design involves a loop formed by a braided steel cable, which tightens over the carpal or tarsal joint of the bear. The mechanism is activated by the bear which is supposed to step on a trigger sustained by a

**Fig. 9.** Slaven and me weighing a bear with a scale.



**Fig. 10.** Slaven, Ivica, and me while monitoring physiological parameters.



**Fig. 11.** Monitoring and sampling during the anesthesia of a large male bear.



sponge and covered by moss and sticks, placed in middle of the loop, and so it activates a spring steel throwing arm. These loops are usually anchored to large trees which must be distant from each other to avoid intraspecific aggression in case more than one bear is caught. The most common capture injuries are due to the bear's great effort to escape the trap, along with chewing the loop or the digits, and they may be fractured limbs, laceration of the oral cavity, muscle damage, capture myopathy, distal limb oedema due to impaired circulation and abrasions on the site of the cable.

The advantage of using Aldrich foot snares is that they are portable, highly efficient, easy to set in remote locations and in some cases the only effective method, especially when the capture area is based in a dense forest. Trapping bears, however, can lead to unpredictable results, as it requires being ready to intervene at anytime in the field as long as the traps are active, mostly without any guarantee of success in trapping. It also requires accurate monitoring of the trap sites, replacing bait and fences almost daily, which results in spending a lot of time in the field.

Branches were assembled in order to create natural fences to make preferential passages for the bears to go in and out the trap site, which increased the probability of making the bear step on the snares. Each foot snare was connected to a SIM-card-equipped transmitter, one for each trap site, so that when the trap had been triggered, the transmitter sent an alarm of trap activation to the researchers and to the park rangers. Camera-traps were also placed at the trap sites and checked daily, in order to monitor the behaviour of the bears around the bait. Trap sites were also checked daily to replace both bait, fences and traps, if damaged.

Once the occurrence of a trapped bear was confirmed, both the park ranger and the Large Carnivore Research team set off from their position (either Čorkova Uvala field station in Plitvice NP or Zagreb city) and reached the trap site to initiate chemical immobilization. All bears were naïve to capture and only single captures occurred at a time. To induce anesthesia, the bears were darted with xylazine (Rompun®, 500 mg dry substance) and ketamine (Ketaminol® 10, 100 mg/ml) mixed together, adding



5 ml of ketamine to xylazine dry substance, so that 1 ml of the solution contained 100 mg xylazine and 100 mg of ketamine. Variable drug doses were adopted according to the estimated body mass, and delivered via dart syringes with barbed needles, depending on the size of the bear, fired from a carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) powered rifle (Dan-Inject<sup>®</sup>, Børkop DK-7080, Denmark).

Once the induction of anesthesia was confirmed, my primary role was to monitor the physiological parameters (body temperature, heart rate, blood pressure, respiratory rate, saturation of peripheral oxygen) of the immobilized bears throughout the entire duration of the procedures. Every bear was lifted in a net attached to a scale to weigh it, then it was placed on the ground to perform all the procedures. Several body parts were measured in length, the teeth were evaluated, and the first superior premolar was extracted to confirm the estimated age of the bear. Hair and blood samples were taken (from the femoral vein) and an identity microchip was implanted in the subcutaneous tissue behind the left ear. All bears were also equipped with a global positioning system (GPS) radio-collars (Vectronic Aerospace<sup>®</sup>, Berlin D-12489, Germany) of adequate size (the sum of all transmitters and bio-loggers must be less than 2% of the body mass) provided by the project. The yearling was equipped with a radio-collar with a break-away latch (double webbing) which rots over time, within months, to prevent damage to the neck of the growing bear. The space between the neck and the collar was measured by passing a flat hand beneath the collar prior to closing the latch.

Xylazine was never antagonized at the end of the procedure, in order not to unmask the adverse effects of ketamine, and the bears were left undisturbed close to the deactivated trap site. Recovery time was recorded by direct sight in only one case and all recoveries were successful, as confirmed by the camera-traps and by the radio-collar's new fixes.

One young female Eurasian lynx was also captured in June. She was trapped by means of a box-trap, a cage-trap with a door which automatically closes when an animal triggers the trap from inside, pulling a wire placed between the door and the bait. A box-trap's advantage is the protection of the trapped animal from



**Fig. 12.** A box-trap.



**Fig. 13.** Josip and Ivica handling the lynx.



**Fig. 14.** The radio-collared lynx just before administration of atipamezole.



**Fig. 15.** Me with the lynx.



**Fig. 16.** Slaven about to perform necropsy of a bear.



**Fig. 17.** Tapeworm infestation in one bear corpse.



**Fig. 18.** The laboratory of the Biology Department of the Veterinary Faculty, Zagreb.



the elements and predators, unlike foot snares which could lead to intraspecific predation or kill, but they have the disadvantage of being unwieldy and are generally used only close to roads, otherwise they must be delivered by helicopter. The trap fits on a standard sized trailer that can be pulled by a truck. Injuries are common, especially in the oral cavity (broken teeth and lacerations) due to chewing the mesh or the door in the trap. Mortalities can occur when multiple animals are trapped or because of traumas due to the falling guillotine doors.

While in the box-trap, the lynx was darted with a combination of medetomidine and ketamine in one single dart, delivered by a blowpipe.

After the recumbency induced by the anesthetic drugs, the procedures performed during the capture were similar to the ones described for the bear captures, and a GPS-collar was also placed. The  $\alpha$ 2-agonist was antagonized in this case with atipamezole, and the lynx was left undisturbed in the woods.

### Bear necropsies and laboratory exams

Another activity I was enrolled to carry out during my stay was the necropsy of bear corpses found on Croatian territory, that had either died due to road-kill, train-kill, poaching or natural causes, or because they were legally hunted. This task was primarily carried out at the Pathology Department of the Faculty, although in some cases it had to be performed in the field. Sometimes hunters were asked to keep specific tissue samples (myocardium, lung, fat tissue, blood clot, intestine, faeces, kidney, brain, testicles, adrenal glands, diaphragm, somatic muscles, skull) or to send them to the faculty laboratory in refrigerated boxes, to be analysed later. The purposes of the necropsies and sample analysis were as follows:

To exclude the presence of parasites in the muscles of the bears (e.g. *Trichinella* spp.), since bear meat is frequently consumed by hunters and local people, although marketing it has been banned since Croatia joined the EU.

To develop studies of the prevalence of infectious and parasitic diseases, such as leptospirosis and infestation of intestinal nematodes and *Dicrocoelium dendriticum*.

To carry out several research studies dealing with bear ecophysiology and genetics.

I helped one of my supervisors, dr. Slaven Reljić, with this task in more than 30 different bear necropsies. In the end, all samples were either refrigerated or frozen, or sent to the lab for the analysis.

### Zagreb city life as an Erasmus student

Although my Erasmus stay was quite short and definitely unusual in terms of my activities, location and timetable, I had the possibility to enjoy student life in Zagreb city. All the people I met were extremely helpful and friendly from the beginning of my adventure, first of all the Erasmus coordinator, prof. Juraj Grizelj, to whom go my most sincere thanks, who welcomed me to Zagreb and showed me the Veterinary Faculty. After the first day of visiting the city center, I soon met other Erasmus students like me, from different countries, religions and cultures, who showed me the secrets of the beautiful Zagreb city, from the historical churches to the many museums, from Zagreb zoo to the simmering night pubs. It was the first Erasmus experience in my life and definitely the one where I met most people, although I spent most of my days and nights doing fieldwork in Plitvice Lakes NP or Risnjak NP. Only in a context such as Erasmus does one have the ability to gather people from all over Europe around a coffee or a burek with yoghurt, discussing disparate topics, widening our mental borders, sharing cultures and ideas, improving communication and breaking down intolerance and prejudice. These are the highest values and purpose of Erasmus, no doubt that is why it is widely considered a life-changing experience for many young people who will become the adults of tomorrow.

*Hvala lijepa!*

**Jacopo Morelli**



**Fig. 19.** Altug, my Turkish Erasmus friend, and me.



**Fig. 20.** Nuria, my Spanish Erasmus friend, and me.



**Fig. 21.** The Large Carnivore Research Team. From left: me, Slaven, Josip, Đuro, and my friend Daniele, an Italian PhD student.



# Rad s divljim životinjama

Veterinarska medicina pokriva široko područje različitih vrsta životinja od kojih je svaka specifična na svoj način. Osim domaćih životinja i kućnih ljubimaca, veterinari se poglavito u posljednje vrijeme sve više susreću i s brojnim vrstama divljih životinja, bilo da je riječ o slobodnoživućim vrstama, uzgajanim vrsta-

**Slika 1.** Farma jelena običnoga



**Slika 2.** Sekcija i uzorkovanje sivih puhova



**Slika 3.** Terapiranje teleta jelena običnoga



ma divljači bilo egzotičnim kućnim ljubimcima. Posebno treba istaknuti da je znatan dio tih vrsta još uvijek nedostatno istražen.

Rad s divljim životinjama na Veterinarskom fakultetu ima dugu tradiciju i jedna je od prepoznatljivosti našega fakulteta u svijetu. Pritom bih naglasio da skupina koja se bavi divljim životinjama uključuje timove za velike zvijeri, morske sisavce, divljač i egzotične vrste. U okviru redovitih djelatnosti u dvorani za razudbe Zavoda za veterinarsku patologiju secirali smo brojne vrste divljih životinja, poput sivih puhova, indijskih mungosa, risova, divljih mačaka, europskih dabrova, tetrijeba gluhana, morskih kornjača, jazavaca, lisica, čagljeva, divokoza, grivastih skakača, muflona, jelena, srna i divljih svinja. Provodimo kompletnu parazitološku pretragu životinja, morfološku i molekularnu identifikaciju utvrđenih parazita, uzorkujemo tkiva za bakteriološku i virološku pretragu, određujemo masnokiselinski sastav tkiva i proteinski sastav mišića te, naravno, patološku pretragu i eventualne druge analize prema potrebi. Molekularnim metodama istražujemo populacijsku genetiku istraživane vrste i raznolikost dijela genoma odgovornog za imunosni odgovor organizma (MHC sustav).

Želite li nam se pridružiti u radu s jelenom običnim na farmi jelena, tetrijebom gluhanom u Udruzi za zaštitu životinja „Tetrijeb“, ili prisustvovati na sekcijama divljih životinja, pisati studentske ili diplomske radove iz tih područja, možete se javiti na e-mail: [mbujanic@vef.hr](mailto:mbujanic@vef.hr).

Kako je Veterinarski fakultet ovlaštenik prava lova i prema tome provodi mjere uzgoja, zaštite i lova na području državnoga otvorenoga lovišta broj: 1/3 „Črnovščak“, pokrenuli smo ponovno osnivanje studentske sekcije za uzgoj divljači. Ova će sekcija nositi ime doajena iz područja lovstva i bolesti divljih životinja dr. Otta Rohra. Sekcija će omogućiti proširivanje znanja studenata s naglaskom na praktični dio, upoznavanje gospodarenja divljači u različitim staništima te, ne manje bitno, druženje u prirodi i lovištu „Črnovščak“.

**Miljenko Bujančić, dr. med. vet.**





# DEDICATION

Usmjereni na izvrsnost



# ENJOYMENT

Entuzijizam u svemu što radimo



# COURAGE

Spremni za skok u nepoznato



# HONESTY

Čestitost i povjerenje u ljude oko nas



# RELATIONSHIPS

Zajedno do cilja



# AMBITION

Odlučno nastojimo biti najbolji

## UPUTE AUTORIMA

1. Časopis Veterinar objavljuje radove hrvatskih i stranih studenata veterinarske medicine te studenata i stručnjaka iz područja biomedicine i zdravstva te područja biotehnologije. Uz autore, treba biti navedena i ustanova u kojoj studira/radi.
2. Objavljuju se izvorni znanstveni radovi, prikazi slučaja, stručni i pregledni članci, stručne rasprave, sažeci radova, popularizirajući članci te drugi tekstovi znanstvene i stručne tematike. Jednako tako, u časopisu se mogu naći i obavijesti, najave te osvrti na protekla događaja.
3. Tekstovi trebaju biti pisani u MS Wordu, font Times New Roman, veličine fonta 12 pt, proreda 1,5. Članak mora sadržavati minimalno 2 kartice teksta, a maksimalno 10 kartica, ne uključujući slike i priloge. Iznimno, duži tekstovi će se objaviti ako uredništvo bude smatralo da je to neophodno za potpunu prezentaciju sadržaja rada. Sažeci ne smiju prelaziti 20 redova.
4. Uz radove na hrvatskom jeziku moraju se priložiti naslov rada i sažetak na engleskom jeziku, dok se uz radove na engleskom jeziku moraju priložiti naslov rada i sažetak na hrvatskom jeziku.
5. Slike i prilozi se prilažu posebno. Treba izbjegavati trodimenzionalne grafove i priloge koji su nevažni ili manje važni za prezentaciju rada. Slike i prilozi moraju sadržavati redni broj, naslov i izvor prema pravilima citiranja referenci. U tekstu obavezno naznačiti mjesto gdje dolaze.
6. U samom tekstu citirani autori i godina objavljivanja navode se na sljedeći način: a) ako je jedan autor (Nicolet, 1982.), b) ako su dva autora (Smith i Wesson, 2005.), c) ako su tri i više autora (Holmes i sur., 1919.), d) ako se tekstom citira više autora (Van Valkenburgh, 1989.; Popowics, 2003.), e) publikacije istih autora i istih godina (Evans i Sanson, 2005a; Evans i Sanson, 2005b; itd.) .
7. Literatura se navodi na kraju članka i to prema abecednom redu. Navode se samo reference citirane u tekstu, i to na sljedeći način:
  - a) Časopisi  
ARADAIB, I. E., C. E. SCHORE, J. C. CULLOR, B. I. OSBURN (1998): A nested PCR for detection of North American isolates of bluetongue virus based on NSI genome sequence analysis of BTV- 17. Vet. Microbiol. 59, 99-108.
  - b) Kongresi i simpoziji  
WEBSTER, R., L. CAMPITELLI, S. KRAUSS, K. SHORTRIDGE, A. FIORETTI, Y. GUAN, M. PEIRIS, I. DONATELLI (2000): Are chickens playing an increasing role in the ecology of influenza viruses? Proceedings of the 5th International Congress of the European Society for Veterinary Virology, 27-30 August. Brescia, Italy. str. 34-37.
  - c) Knjige  
MURPHY, F. A., E. P. J. GIBBS, M. C. HORZINEK, M. J. STUDDERT (1999): Veterinary Virology, 3<sup>rd</sup> ed., Academic Press. San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokio, Toronto. str. 405-409.
  - d) Poglavlje u knjizi  
NORRED, W. P., K. A. VOSS, R. T. RILEY, R. D. PLATTNER (1996): Fumonisin toxicity and metabolism studies at the USDA. U: Fumonisin in Food. (Jackson, L., J. Devries, L. Bullerman, ur.). Plenum Press. New York. str. 225-236.
  - e) Diplomski rad / disertacija  
VILLACRES-ERIKSSON, M. (1993): Induction of immune response by iscoms. Disertacija. Faculty of Veterinary Medicine, Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala, Sweden.
  - f) Zakoni, pravilnici i sl.  
ANONIMUS (2010): Pravilnik o lovostaju. Narodne novine 67/10.
8. Tekst rada u MS Wordu i priloge dovoljne kvalitete da se mogu uspješno reproducirati, treba slati na e-mail adresu veterinar@vef.hr .
9. Rukopise radova ne vraćamo.
10. Radovi koji ne ispunjavaju navedene upute uredništvo neće prihvatiti.
11. Uredništvo dostavlja svakom autoru jednu tiskanu verziju časopisa.
12. Radovi objavljeni u časopisu Veterinar dostupni su online na [www.vef.hr/veterinar](http://www.vef.hr/veterinar) .



## SADRŽAJ:

### UVOD

- Riječ urednice 1

### IZVORNI ZNANSTVENI RADOVI

- Biomarkeri periodontalnih bolesti izdvojeni iz sline pasa 2
- Usporedba karakteristika LH valova u mliječnim krava podvrgnutih trima sinkronizacijskim protokolima 10

### PREGLEDNI RAD

- Uzroci upale ahilove tetive u životinja 19

### STRUČNI RAD

- Urinarna inkontinencija kao posljedica kastracije kuja 26

### POPULARIZACIJSKI ČLANCI

- IVSA Hrvatska 2017./2018. 32
- Advent u Africi, Južnoafrička Republika 34
- ERASMUS+ stručna praksa, Neu Ulm, Njemačka 36
- ERASMUS+ ljetna praksa, Gowran, Irska 40
- Kratka CEEPUS ekskurzija, Beč, Austrija 42
- CEEPUS život u Üllőu!, Üllő, Mađarska 46
- Ljetna škola planinskog stočarstva, Stara Planina, Srbija 48
- IX. međunarodni kongres veterinar za ovce, Harrogate, UK 50
- TDK konferencija, Budimpešta, Mađarska 52
- Erasmus Experience in Zagreb 54
- REPORT, Experiences with the Large Carnivore Research Team in Croatia 56
- Rad s divljim životinjama 63