

# POBAČAJI U KOBILA

---

Lučić, Karla

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:112667>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-03**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

KARLA LUČIĆ

POBAČAJI U KOBILA

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2022.

Diplomski rad je izrađen u Klinici za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Predstojnik: prof. dr. sc. Marko Samardžija

Mentorice: prof. dr. sc. Martina Lojkić

prof. dr. sc. Nikica Prvanović Babić

Povjerenstvo za obranu diplomskog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Iva Getz
1. prof. dr. sc. Martina Lojkić
2. prof. dr. sc. Nikica Prvanović Babić
3. doc. dr. sc. Branimira Špoljarić

## **ZAHVALE**

*Zahvaljujem svojim mentoricama, prof.dr.sc. Martini Lojkić i prof.dr.sc. Nikici Prvanović Babić na pomoći, strpljenju i savjetima prilikom izrade ovog diplomskog rada kao i tijekom studiranja.*

*Također, zahvaljujem svojim kolegama i prijateljima na nezaboravnim iskustvima i uljepšavanju mojih studentskih dana.*

*Posebno zahvaljujem svojoj obitelji, pogotovo mojim roditeljima na ogromnoj podršci, jer bez njih ništa od ovoga ne bih mogla ostvariti.*

## POPIS KRATICA

PGE<sub>2</sub> – prostaglandin E2

PGF<sub>2α</sub> – prostaglandin F<sub>2α</sub>

eCG – engl. *Equine Chorionic Gonadotrophin* – korionski gonadotropin konja

FSH – folikulostimulirajući hormon

LH – luteinizirajući hormon

P4 – progesteron

P5 – pregnenolon

IGF1 – inzulinu sličan faktor rasta 1

IGF2 – inzulinu sličan faktor rasta 2

RIA – radioimunološka analiza

RES – rana embrionalna smrtnost

GnRH – engl. *gonadotropin-releasing hormone* – gonadotropin – oslobađajući hormon

EHV-1 – konjski herpesvirus 1

EHV- 4 – konjski herpesvirus 4

EVA – engl. *Equine viral arteritis* – virusni arteritis konja

CTUP – engl. *combined thickness of the uterus and placenta* – kombinirana debljina maternice i posteljice

MAT - mikroskopska aglutinacija

hCG – engl. *human chorionic gonadotropin* – humani korionski gonadotropin

MRLS – engl. *Mare reproductive loss syndrome* – sindrom reproduktivnog gubitka u kobila

UZV – ultrazvuk

## **POPIS PRILOGA**

### **Popis slika:**

Slika 1. Zametak konja star 34 dana

Slika 2. Ultrazvučna slika 12. i 16. dana gravidnosti

Slika 3. Kolor Doppler UZV slika fetusa konja starog 45 dana

Slika 4. Struktura EHV-1

Slika 5. Struktura EAV virusa

Slika 6. Dužnosti ovlaštenog veterinaru u slučaju sumnje na virusni arteritis konja

Slika 7. Obveze službenog veterinaru ili veterinarskog inspektora u slučaju potvrde virusnog arteritisa konja

Slika 8. Elektronska mikrografija Leptospira

Slika 9. Mjere koje određuje nadležni veterinarski inspektor u slučaju potvrde leptospiroze

Slika 10. Blizanačka membrana

Slika 11. *Claviceps purpurea* na ječmu

### **Popis tablica:**

Tablica 1. Raspored potencijalnih UZV pregleda rano gravidne kobile

Tablica 2. Cijepni protokol za rinopneumonitis konja

Tablica 3. Fiziološke gornje granice za CTUP tijekom kasne gravidnosti

Tablica 4. Terapija za placentitis kod kobila u kasnoj gravidnosti

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE .....	3
2.1. Fiziologija gravidnosti u kobilu .....	3
2.1.1. Rani embrionalni razvoj .....	3
2.1.2. Majčinsko prepoznavanje gravidnosti.....	5
2.1.3. Diferencijacija fetalne membrane, implantacija i rana placentacija.....	7
2.1.4. Endokrina regulacija gravidnosti kobilu .....	10
2.2. Dijagnostika gravidnosti u kobilu.....	14
2.2.1. Uzgojna metoda dijagnostike ždrebnosti.....	14
2.2.2. Kliničke metode dijagnostike .....	15
2.2.3. Laboratorijske metode dijagnostike .....	20
2.3. Prekid gravidnosti.....	22
2.3.1. Rana embrionalna smrtnost .....	22
2.3.1.1. Ultrazvučni pokazatelji rane embrionalne smrtnosti .....	25
2.3.1.2. Terapija i preventiva rane embrionalne smrti .....	25
2.4. Zarazni pobačaji .....	26
2.4.1. Konjski herpesvirus .....	26
2.4.2. Virusni arteritis konja.....	32
2.4.3. Placentitis .....	38
2.4.4. Leptospiroza.....	43
2.5. Nezarazni pobačaji.....	46
2.5.1. Blizanačka gravidnost.....	46
2.5.2. Otrovanje vlasuljom.....	51
2.5.3. Sindrom reproduktivnog gubitka kobilu („ <i>Mare reproductive loss syndrome</i> “) .....	55
3. ZAKLJUČCI .....	58
4. POPIS LITERATURE .....	59
5. SAŽETAK.....	68
6. SUMMARY.....	69
7. ŽIVOTOPIS.....	70

# 1. UVOD

Pobačaji i reproduktivni problemi važni su uzroci ekonomskih gubitaka u konjogojstvu. Pobačaj definiramo kao prekid gravidnosti uz izbacivanje ploda i njegovih pripadajućih ovojnica prije 300. dana gravidnosti. Plod je najčešće mrtav ili ugiba neposredno nakon pobačaja. S obzirom na vrijeme nastanka, pobačaje dijelimo na ranu embrionalnu smrtnost te rane i kasne pobačaje. Kod pojave rane embrionalne smrtnosti, zametak najčešće ugiba prije 13. dana gravidnosti, a mogući uzroci su brojni te su opisani u ovome radu. Rani pobačaji su često potpuni, odnosno plod bude izbačen zajedno s pripadajućim ovojnicama te samom pobačaju ne prethode klinički znakovi, dok kod kasnih pobačaja dolazi do kliničkih simptoma koji upućuju na mogući prekid gravidnosti.

S obzirom na stadij, pobačaje smo podijelili na prijetee pobačaje (*abortus imminens*), početak pobačaja (*abortus incipiens*) i pobačaj u tijeku (*abortus in tractu*).

Etiološki, pobačaje dijelimo na zarazne i nezarazne, od kojih je pojava nezaraznih puno češća. Uzroci nezaraznih pobačaja su brojni, od problema povezanih s pupkovinom, poremećaja razvoja posteljice, mehaničkih, termičkih uzroka i slično. U ovom radu istaknuti su najčešći i najvažniji uzroci, a to su blizanačka gravidnost, otrovanja i sindrom reproduktivnog gubitka kobila (engl. *Mare reproductive loss syndrome*). Zarazni pobačaji uzrokovani su djelovanjem mikroorganizama koji mogu izravno djelovati na plod ili služiti kao oportunisti u sekundarnoj infekciji te dovesti do poteškoća u reprodukciji. Najčešće su uzrokovani bakterijama, ali mogu biti uzrokovani i virusima, gljivicama i parazitima. Kod takvih infekcija, pobačaj je često jedini klinički simptom ili je rjeđe, jedan od simptoma opće infekcije. Najčešći zarazni pobačaji koji su opisani u ovome radu, uzrokovani su konjskim herpesvirusom 1 (EHV-1), virusom arteritisa konja (EVA), *Leptospirum spp.* i mnogim bakterijama koje dovode do pojave bakterijskog placentitisa od kojih se ističu *Streptococcus equi. subsp., zooepidemicus*, *Escherichia Coli* i *Klebsiella pneumoniae*.

Glavni cilj kod pojave pobačaja je postaviti etiološku dijagnozu, s obzirom da se svaki pobačaj smatra zaraznim sve dok se ne dokaže suprotno. Kada dođe do pobačaja kobilu je potrebno izolirati, plod i/ili materijale poslati u laboratorij na pretrage, pregledati posteljicu i nakon toga je ukloniti te mjesto događaja očistiti, dezinficirati i po potrebi spaliti. Jako je bitno uzeti anamnezu od vlasnika i saznati informacije o prethodnim spolnim ciklusima,



gravidnostima, pobačajima te bilo kakvim reproduktivnim problemima kako bi se što preciznije odredio uzrok pobačaja i spriječila moguća ponovna pojava istoga.

Cilj ovoga rada bio je opisati najčešće i najvažnije uzroke pobačaja kod kobilica, njihovu patogenezu, dijagnostiku, liječenje i prevenciju u svrhu sprječavanja ponovne pojave istih kao i ostalih reproduktivnih poteškoća povezanih s navedenim uzrocima.

## 2. PREGLED LITERATURE

### 2.1. Fiziologija gravidnosti u kobilama

Kobile su sezonski poliestrične životinje čiji spolni ciklus ovisi o dužini dnevnog svjetla, odnosno podražaj za početak spolnog ciklusa predstavlja produljenje dana tako da im ciklus počinje u proljeće ili rano ljeto. Spolni ciklus kod kobilama traje otprilike oko 22 dana, a estrus oko 5-7 dana.

Gravidnost kod kobilama traje 336 (322-387) dana. Postoje manje razlike u trajanju gravidnosti s obzirom na pasminu, način držanja i prehrane kobile te također s obzirom na spol ploda (MAKEK i sur., 2009.).

#### 2.1.1. Rani embrionalni razvoj

Prvih 6 dana nakon ovulacije zametak se nalazi u jajovodu. Iako je pristup zametku u takvom okruženju otežan, prve značajke razvoja zametka su vidljive već u prvih 12 sati nakon ovulacije i uključuju izraženu polarnost zametka i segregaciju zigote (BETTERIDGE, 2011.). Nakon oplodnje zigota započinje niz uzastopnih dioba, pa za 24 sata sadrži dvije stanice, dok za 72 sata sadrži osam do deset stanica. Oko 4. do 5. dana formira se morula, dok petog do ranog šestog dana počinje razvoj blastociste koju karakterizira pojava blastocela te diferencijacija stanica u trofoblast i embrioblast (STOUT, 2009.). Segregacija stanica embrioblasta od stanica trofoblasta sporije je i manje izražena u kobilama nego u preživača i svinja, pa je kod kobilama teže razlikovati morulu od blastocite (BETTERIDGE, 2011.).

Okolo 6. – 7. dana zametak se spušta u maternicu. Specifičnost u kobilama je da se samo zametak može spustiti u maternicu, dok neoplođena jajna stanica ostaje u ampuli i podliježe degeneraciji (STOUT, 2009.; BETTERIDGE, 2011.). Diferencijacija između neoplođene jajne stanice i zametka posljedica je sekrecije prostaglandina  $E_2$  ( $PGE_2$ ) od strane zametka koji pomaže opuštanju uterotubarnog sfinktera i time omogućuje ulaz zametku u maternicu (WEBER i sur., 1991.). Osim toga, zametak mora biti i metabolički aktivan.

Zametak se spušta u maternicu u stadiju kasne morule ili rane blastociste, još uvijek unutar *zone pellucide* (BETTERIDGE, 2011.). U vrijeme formiranja blastociste veličina zametka je varijabilna te ovisi o više čimbenika koji uključuju starost kobile, način obrade ejakulata koji je korišten za rasplod i broj ovulacija po pojedinom estrusu (AURICH i BUDIĆ, 2015.).

Odmah po ulasku u maternicu počinje se formirati acelularna glikoproteinska kapsula između stanica trofoblasta i *zone pellucide* (BETTERIDGE i sur., 2007.). Šupljina blastociste se počinje povećavati, postaje bolje definirana i obložena stanicama endoderma. Brza ekspanzija blastociste rezultira njenim izlaskom iz *zone pellucide* oko 7. dana razvoja kada je zametak promjera 250  $\mu\text{m}$  i potpuno obavijen kapsulom. Kapsula ima izrazitu važnost za nastavak gravidnosti. Unutarnji tlak koji vrši kapsula sprječava elongaciju trofoblasta i osigurava sferičnost zametka kako bi se omogućilo njegovo kretanje po maternici. Kapsula osigurava mehaničku zaštitu kako bi zametak mogao izdržati značajne sile miometrija koje ga pomiču kroz maternicu. Osim toga, visoka koncentracija negativno nabijenih ostataka sijalinske kiseline unutar glikoproteina kapsule može regulirati intrauterino kretanje zametka i pomaže u nakupljanju i preuzimanju egzokrinih izlučevina endometrijskih žlijezda (AURICH i BUDIĆ, 2015.). Tijekom narednog tjedna, zametak zadržava okrugli oblik i nastavlja brzi rast gdje 10. dana nakon ovulacije doseže promjer 3-5 mm, a 14. dana 15-20 mm. Po dolasku u maternicu zametak se ne prihvaća za endometriju nego ostaje pokretljiv i migrira kroz cijelu maternicu potpomognut njenim kontrakcijama. Njegova migracija i pokretljivost je ovisna o proizvodnji prostaglandina od strane samog zametka. Migracija je važna s dva aspekta; omogućuje zametku interakciju s endometrijom kako bi se spriječila luteoliza i osigurava zametku dovoljno hrane iz uterinog mlijeka u periodu prije implantacije (STOUT, 2009.).

Osmog dana gravidnosti spajanjem stanica endoderma i unutarnje strane trofoblasta razvija se žumanjčana vreća. U fazi brzog rasta zametka, od 11. do 16. dana, tekućina u žumanjčanoj vreći je hipotonična. U ovoj fazi zametak migrirajući kroz maternicu izmjenjuje bitne signale s majkom, a kapsula zametka se i dalje razvija te se na nju selektivno vežu različiti proteini tako da kapsula ima ulogu isporuke različitih tvari između zametka i endometrija. Osim kapsule, ulogu isporuke tvari ima i stanična stijenka žumanjčane vreće koja proizvodi inzulinu sličan čimbenik rasta. On je važan za daljnji razvoj zametka i proizvodnju estrogena (BETTERIDGE i sur., 2007.). Estrogeni utječu na prokrvljenost i propusnost krvnih žila te su odgovorni za nastanak edema endometrija oko 16. dana gravidnosti koji se može vidjeti ultrazvučnom pretragom (GINTHER i sur., 1998.).

Pokretljivost i migracija zametka unutar maternice završava oko 16. dana gravidnosti fiksacijom zametka (GINTHER i sur., 1998.). Dolazi do povećanja tonusa maternice, a paralelno s tim i do povećanja veličine zametka, što sprječava njegovo daljnje kretanje. Istovremeno, kapsula zametka postaje labava i gubi anti-adhezivnu sposobnost. Povećava se osmolarnost tekućine žumanjčane vrećice te se povećavaju i koncentracije proteina, fruktoze, arginina i oksitocina u toj tekućini. Nakon fiksacije, amnijski nabori se uzdižu oko zametaka,

zatim se spajaju kako bi formirali amnion. Još se ne zna sa sigurnošću kako i kada kapsula nestaje. Postoji mogućnost da zbog daljnjeg rasta žumanjčane vrećice kapsula pukne. Gubitkom kapsule zametak ima dovršen amnion, alantoidni u nastanku te krvotokni sustav te pred kraj prvog mjeseca gravidnosti počinje visoki stupanj organogeneze (BETTERIDGE, 2011.).

### **2.1.2. Majčinsko prepoznavanje gravidnosti**

U diestrusu tijekom spolnog ciklusa maternica je pripremljena za dva moguća događaja: luteolizu i lutealno održavanje gravidnosti. Ako zametak nije prisutan u maternici prva 2 tjedna nakon ovulacije, dolazi do luteolize, odnosno regresije žutog tijela te ponovnog estrusa. Ako postoji zametak, maternica mora zaustaviti luteolizu i održati proizvodnju progesterona. Gravidnost će biti uspješna ako dođe do odgovarajućeg signala od strane zametka koji će rezultirati održavanjem funkcije žutog tijela u procesu znanom kao „majčinsko prepoznavanje gravidnosti“ (McDOWELL i SHARP, 2011.). Kod kobilica, rana faza prepoznavanja gravidnosti počinje već u jajovodu koji dopušta selektivni transport zametka, ali ne dopušta prijenos neoplođenih jajnih stanica (SWEGEN, 2021.) što je posredovano stvaranjem prostaglandina od strane zametka (WEBER i sur., 1991.).

Zanimljivo je da kod kobilica još nije dokazan signal koji potiče majčinsko prepoznavanje. Kod goveda ili svinja zametci izlučuju interferon- $\tau$  koji suprimira proizvodnju  $PGF2\alpha$  od strane endometrija što se smatra glavnim signalom za majčinsko prepoznavanje gravidnosti. Kod konjskog zametka nije nađen interferon- $\tau$ , te on nema nikakvu važnost u prepoznavanju gravidnosti (McDOWELL i SHARP, 2011.). Zametci konja i svinja proizvode velike količine estrogena. Estrogen ima važnu ulogu u prepoznavanju gravidnosti kod svinja, međutim kod konja nije dokazano da estrogeni imaju ulogu u navedenom procesu, odnosno da ne produžuju aktivnost žutog tijela (AURICH i BUDIK, 2015.).

### **Prostaglandin $F2\alpha$**

Prostaglandin  $F2\alpha$  ( $PGF2\alpha$ ) je prirodni luteolizin maternice. Kod kobilica u ciklusu lutealna regresija počinje oko 14. dana nakon ovulacije što se podudara s maksimalnom koncentracijom  $PGF2\alpha$  u veni i lumenu maternice (McDOWELL i SHARP, 2011.) maksimalnom proizvodnjom  $PGF2\alpha$  od strane endometrija i maksimalnom proizvodnjom metabolita prostaglandina (KINDAHL i sur., 1982.). Kao što je već spomenuto, kritičan zahtjev za majčinsko prepoznavanje gravidnosti je održavanje žutog tijela i posljedično tome održavanje razine progesterona što se može postići na nekoliko načina:

1. prevencijom lučenja prostaglandina
2. promjenom distribucije djelovanja  $\text{PGF2}\alpha$  tako da se izbjegne njegovo djelovanje na žuto tijelo
3. izlučivanjem tvari koje poništavaju učinak  $\text{PGF2}\alpha$  na žuto tijelo.

Za sintezu prostaglandina potreban je enzim ciklooksigenaza 2, čija se koncentracija mijenja ovisno o tome hoće li u ciklusu doći do luteolize ili do prepoznavanja gravidnosti. Kod negravidnih kobila oko 15. dana nakon ovulacije ekspresija ciklooksigenaze 2 je znatno povećana, dok je kod gravidnih inhibirana, stoga se smatra da je regulacija navedenog enzima iznimno bitna za majčinsko prepoznavanje gravidnosti. Iako endometrij sam po sebi ima sposobnost lučenja  $\text{PGF2}\alpha$ , dokazano je da je u prisutnosti zametka ta ista sposobnost smanjena, odnosno zametak izravno djeluje na supresiju proizvodnje  $\text{PGF2}\alpha$  u endometriju putem smanjene aktivnosti i ekspresije enzima ciklooksigenaze 2 (SWEGEN, 2021.).

Majčinsko prepoznavanje gravidnosti kod kobila ovisno je o potpunoj supresiji lučenja prostaglandina od strane endometrija kao odgovor na oksitocin koji luči endometrij i hipofiza (STOUT, 2009.). U negravidne kobile, u vrijeme luteolize, postoji pozitivna povratna sprega između ova dva hormona, pa u konačnici dolazi do luteolize zbog pojačane sekrecije  $\text{PGF2}\alpha$ . Tijekom gravidnosti, prisustvo zametka remeti pozitivnu povratnu spregu između oksitocina i  $\text{PGF2}\alpha$ , pa žuto tijelo ostaje aktivno. Sposobnost zametka da inhibira stvaranje receptora oksitocina igra važnu ulogu u majčinskom prepoznavanju gravidnosti.

### **Sekrecija proteina maternice**

Jedna od posljedica lučenja progesterona od strane žutog tijela je stvaranje velike količine proteina maternice poput uteroferina, uteroglobina, proteina Mx i U1 maternice, transformirajućeg čimbenika rasta i epidermalnog čimbenika rasta. Navedeni proteini su esencijalni za normalan razvitak zametka, međutim njihova uloga u prepoznavanju gravidnosti zasad nije dokazana (SMITS i sur., 2018.).

### **Kretanje zametka**

Pokretljivost zametka kroz maternicu predstavlja važan mehanizam majčinskog prepoznavanja gravidnosti. Konjski je zametak mobilan od 9. do 15. dana gravidnosti. Migracija omogućuje konstantnu raspodjelu antiluteolitičkog signala po maternici, čime se postiže supresija izlučivanja  $\text{PGF2}\alpha$  iz endometrija i time sprječava luteolizu. Simulacija kretanja zametaka iz jednog roga u drugi koristeći kuglicu odgađa luteolizu i produljuje dugovječnost žutog tijela (RAHEEM, 2017.). Kada se omogući kretanje zametka kroz samo

jedan rog, inhibicija lučenja PGF2 $\alpha$  nije dostatna da spriječi luteolizu i gravidnost se prekida (MC DOWEL i SHARP, 2011.).

### **Prokrvljenost maternice**

Da bi moglo doći do majčinskog prepoznavanja gravidnosti, treba postojati komunikacija između majke i zametka. Dio te komunikacije se odnosi na promjene u endometrijskom krvožilnom sustavu inducirane djelovanjem zametka (SILVA i GINTHER, 2006.). Nakon fiksacije, kada se zametak smjesti u jedan rog maternice, dolazi do povećanja vaskulariziranosti u endometriju. Gravidni rog održava značajno veću perfuziju krvi vjerojatno kao rezultat djelovanja estrogena i prostaglandina od strane zametka. Paralelno s tim, u negravidnom rogu nije došlo do navedenih promjena čime se može zaključiti da su sve te promjene rezultat komunikacije između majke i zametka. Također, autori navode da dođe do zadebljanja dorzalnog endometrija prethodno fiksaciji što doprinosi orijentaciji zametka tako da se on smješta na 6.00 u odnosu na prokrvljeni dio mezometrija, prema čemu se može zaključiti da je dezorijentacija zametka povezana sa ranim embrionalnim uginućima (AURICH i BUDIĆ, 2015.).

### **2.1.3. Diferencijacija fetalne membrane, implantacija i rana placentacija**

Do 20. dana nakon ovulacije zametak je pričvršćen na bazi gravidnog roga, još uvijek je okružen kapsulom, iako se ona počinje stanjivati i labaviti i lako se odvaja s površine trofoblasta. Zametak počinje poprimati oblik na jednom polu i sadrži primitivno srce koje pumpa embrionalnu krv u embrionalne arterije. Embrionalna krv putuje do terminalnog sinusa na rubu vaskularnog mezoderma između koriona i žumanjčane vreće. Alantois se u ovom stadiju počinje formirati kao vrećasti izdanak iz embrionalnog stražnjeg crijeva. Tijekom sljedećih 20 dana taj izdanak se širi i spaja se sa korionom te nastaje alantokorion koji će na kraju formirati posteljicu. Žumanjčana vreća se smanjuje i postaje sve više okružena alantoisom koji preuzima njenu ulogu. Žumanjčana vreća između 50. i 60. dana gravidnosti ostaje kao ostatak unutar pupkovine (PODICO, 2019.).

Histološki, oko 20. dana gravidnosti korion je sastavljen od niza kubičnih epitelioidnih stanica trofoblasta s blijedo obojenim bazalno smještenim jezgrama. Endometrij koji okružuje zametak je relativno debeo, a stroma prodire do dubine endometrija sa uvijenim sekretornim žlijezdama. Apikalne regije tih žlijezda sadrže egzokrini sekretorni materijal koji nazivamo histotrofa, a koji se nakuplja između trofoblasta i luminalnog epitela (PODICO, 2019.). Između

24. i 26. dana gravidnosti oko luminalnog epitela se mogu vidjeti maternalni neutrofili čija je zadaća fagocitirati i ukloniti debris od propale kapsule zametka. Oko 28. do 30. dana gravidnosti alantois se toliko proširi da zauzima skoro jednu trećinu cijeloga zametka te ga potiskuje dorzalnije. Oko samoga zametka vidljiv je blijedi, prstenasti pojas na spoju rastućeg alantoisa i regresirajuće žumanjčane vreće. Taj blijedi, prstenasti pojas predstavlja početak formiranja korionskog pojasa koji će kroz sljedećih 10 dana gravidnosti rasti i postajati sve deblji (ALLEN i sur., 2011.).

Do 32. dana gravidnosti alantois se toliko proširio da je korionski pojas postao vidljiv kao blijedobijela traka širine 1-1,5 cm, a sekretorne žlijezde luče velike količine histotrofa. Ostatci degenerirane kapsule zametka koja sadrži visoke količine proteina uterokalina te ostalih endometrijskih proteina čine izvor energije za zametak. Oko 34. dana stanice trofoblasta u korionskom pojasu zbog jake hiperplazije postaju puno deblje i izduženije te formiraju liniju jednostavnih žlijezda koje se otvaraju prema površini maternice. Takve invazivne trofoblastne stanice invadiraju endometrij i migriraju u stromu stvarajući bijele plakove poznate kao endometrijske čašice (PODICO, 2019.). Stanice u zrelih endometrijskim čašicama su stupaste, većih dimenzija, binuklearne s bazofilnom citoplazmom obogaćene malim vakuolama koje služe za sekreciju korionskog gonadotropina (engl. *Equine Chorionic Gonadotrophin*, eCG) (PODICO, 2019.). Čašice svoju maksimalnu veličinu postižu oko 70. dana, a aktivne su do 130. dana gravidnosti nakon čega postepeno degeneriraju te ostavljaju male nakupine nekrotičnog materijala. S obzirom na veliki broj prisutnih stanica u endometrijskim čašicama moguća je aktivacije stanica imunskog sustava što bi moglo dovesti do odbacivanja endometrijskih čašica i posljedičnog prekida gravidnosti. Lokalna imunosna reakcija rezultira stvaranjem velikog broja limfocita, pogotovo u početnom periodu formiranja čašica (DE MESTRE i sur., 2010.). Oko 43. dana gravidnosti čašice endometrija izgledaju kao diskretne, blijede izbočine širine 1-2 cm koje strše iznad površine endometrija, a raspoređene su u krug ili u obliku potkove. eCG koji se stvara u čašicama difundira u žlijezde endometrija čiji apikalni dijelovi zbog navedene hipersekrecije eCG – a postaju obliterirani.



**Slika 1.** Zametak konja star 34 dana (BETTERIDGE, 2011.)

Od 40. dana gravidnosti nadalje, kako tonus miometrija pada, zametak počinje gubiti svoj sferični oblik zbog kontinuiranog rasta alantoisa. Zametak se nastavlja povećavati i izduživati dok oko 60. dana ne zauzme ostatak prostora gravidnog roga. Između 55. i 60. dana gravidnosti fetus poprima specifičan oblik konja te se aktivno pomiče u maternici (ALLEN i sur., 2011.). Pupkovina se dosada dovoljno razvila da omogući fetusu određeni stupanj pokretljivosti unutar maternice, a iz baze pupčane vrpce se preko površine alantokoriona širi trag fetalnih krvnih žila. Histološki, na granici posteljice, epitel fetusa i majke su približeni i sjedinjavaju se pomoću mikrovila, a veze se produbljuju i izdužuju kako bi dale prvu naznaku onoga što će na kraju formirati mikrokotiledone. U periodu od 60. do 80. dana alantokorion poprima crvenkastu boju te je točkaste strukture zbog razvoja mikrokotiledona na svojoj vanjskoj površini. Plod i dalje leži na boku u ventralnom dijelu maternice u blizini bifurkacije materničnih rogova. U ovom periodu endometrijske čašice dostižu svoju maksimalnu veličinu, ali isto tako maksimalni potencijal lučenja eCG – a. Navedeni vrhunac lučenja eCG – a je praćen stalnim smanjenjem do nestanka oko 120. – 150. dana gravidnosti (KINDAHL i sur., 1982.). Posljedično tome, eCG se više ne može detektirati u serumu kobile (PODICO, 2019.). Korionski gonadotropin konja je glikoproteinski hormon s djelovanjem homolognim djelovanju folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH). Visoki afinitet eCG – a za LH receptore, a niski za FSH receptore čini ovaj hormon odgovornim za proizvodnju akcesornih žutih tijela koja pomažu održavanju gravidnosti. Niska lutealna funkcija i posljedično niske koncentracije progesterona su poznati uzroci gubitka gravidnosti kod kobilica. Sam proces tvorbe endometrijskih čašica je bitan u prosudbi rane embrionalne



smrtnosti ploda. Ukoliko plod uquine prije tvorbe endometrijskih čašica (od 36. do 40. dana gravidnosti) kobila će se vratiti u estrus za manje od mjesec dana. Ukoliko plod uquine nakon tvorbe endometrijskih čašica, kobila se ne može ponovno tjerati još 3 mjeseca sve dok ne dođe do degeneracije čašica čime se dovodi do regresije žutog tijela (MAKEK i sur., 2009.).

#### **2.1.4. Endokrina regulacija gravidnosti kobila**

Endokrino održavanje gravidnosti i početka poroda predstavlja niz koordiniranih hormonalnih događaja koji uključuju interakciju između fetusa u razvoju, njegovih glavnih potpornih organa, posteljice i kobile. U ranijim stadijima gravidnosti (<45 dana) hormoni (progesteron, estrogene, gonadotropini) majke i rastućeg zametka igraju glavnu ulogu u procesu majčinskog prepoznavanja gravidnosti. U periodu od 40. do 120. dana gravidnosti kada se razvije alantokorion, značajna je sekrecija eCG-a, relaksina, estrogene i progestagene. Oko 70. dana fetus i posteljica preko cirkulacije majke dobivaju supstrate za sintezu glavnih hormona gravidnosti, a to su estrogene i progesteroni. Kvantitativno, ovo predstavlja najznačajniju endokrinu aktivnost tijekom gravidnosti i osigurava nastavak razvoja fetusa unutar maternice. Pred kraj prvog tromjesečja gravidnosti fetalni endokrini organi počinju sami sintetizirati vlastite hormone koji mu pomažu u razvoju te konačno u periporođajnom razdoblju hormoni majke i fetusa u sinergiji pripremaju porođaj (OUSEY, 2011.).

#### **Progesteroni i srodni spojevi**

Progesteron (P4) i njegovi srodni spojevi neophodni su za održanje gravidnosti. Visoke razine progesterona blokiraju djelovanje i sintezu prostaglandina koji bi doveli do luteolize primarnog žutog tijela tijekom ranog stadija gravidnosti ili u kasnijem stadiju do indukcije kontrakcija miometrija. Od ovulacije pa do otprilike 40. dana gravidnosti progesterone i estrogene isključivo proizvodi primarno žuto tijelo. Drugo povećanje koncentracije progesterona u majčinoj plazmi oko 40. dana gravidnosti nastaje zbog tvorbe sekundarnih žutih tijela. Ona nastaju zbog lučenja eCG-a od strane endometrijskih čašica 37. dana nakon ovulacije (STOUT, 2009.). Koncentracije progesterona dosežu vrhunac između 90. i 120. dana gravidnosti praćeni s maksimalnim izlučivanjem eCG-a, nakon čega razina progesterona pada. Nakon regresije žutog tijela posteljica postaje organ zadužen za održavanje gravidnosti (SATUE i GARDON, 2021.). Posteljica se razvija kao endokrini organ između 40. i 120. dana gravidnosti. Prekursori steroida se transportiraju iz majčine cirkulacije u cirkulaciju fetusa te se unutar tkiva fetusa i posteljice metaboliziraju kako bi proizveli estrogene i progesterone koji

se nakon toga vraćaju u majčinu cirkulaciju. Glavni prekursor steroida je kolesterol koji dolazi iz majčine cirkulacije, prolazi posteljicu i pretvara se u pregnenolon (P5) u fetusu pomoću P450 enzima koji je prisutan kod fetusa u nadbubrežnoj žlijezdi, gonadama i trofoblastu. Na kraju prvog tromjesečja gravidnosti fetalna nadbubrežna žlijezda se povećava, mikrovili posteljice počinju rasti i granati se te se povećava krvotok u pupkovini i maternici (BOLLWEIN i sur., 2004.). Posljedično tome, razina progesterona fetusa i majke počinje rasti (STOUT, 2009.). Tijekom zadnjih nekoliko tjedana gravidnosti razina progesterona rapidno raste s vrhuncem oko 2-3 dana prije poroda, dok zadnjih nekoliko sati prije poroda razina naglo pada. Naglo povećanje razine par dana prije poroda je neophodno s obzirom da progesteron djeluje na supresiju miometrijske aktivnosti što je bitno kako bi se fetus pripremio na porod. Ubrzo nakon poroda, majčine razine progesterona su jako niske dok kod ždrebađi koncentracije P5 ostaju visoke postupno padaju u prvih 24 sata nakon poroda, potvrđujući da je fetus izvor P5 (OUSEY, 2011.).

## **Estrogeni**

Estrogeni su nađeni u zametku već 8. dana gravidnosti. Koncentracija estrogena proizvedenog od zametka raste kako raste i sam zametak (OUSEY, 2011.). Unatoč tome, koncentracije estrogena u serumu kobile u prvih par tjedana gravidnosti ostaju niske. Moguće je da značajna proizvodnja estrogena od strane zametka utječe na povećavanje broja receptora progesterona unutar maternice za održavanje razine P4 i promicanje feto-maternalnih hranjivih tvari te izmjene plinova u vrijeme prije nego što posteljica postane funkcionalna (PODICO, 2019.). Oko 35. do 40. dana značajno rastu koncentracije estrogena u majke kojeg proizvode jajnici. Do 80. dana gravidnosti koncentracije estrogena su varijabilne, ali 80. dana dolazi ponovno do velikog porasta razine estrogena kada je glavni izvor fetoplacentalni spoj. Estrogeni su prisutni u visokim koncentracijama u majčinoj plazmi, urinu i alantoisnoj tekućini tijekom većine gravidnosti (FOSTER i sur., 2002.). Razine estrogena ostaju visoke od 80. dana, pa sve do zadnja 2-3 mjeseca gravidnosti kada postupno padaju. Estrogeni su uterotonici i njihovo djelovanje je suprotno djelovanju progesterona. Visoke koncentracije estrogena ukazuju na povećani krvni protok tijekom gravidnosti i spolnog ciklusa (BOLLWEIN i sur., 2004.). Osim toga, estrogeni potiču aktivnost miometrija sintezom kontraktilnih proteina u stanicama miometrija, povećavaju ekspresiju oksitocinskih receptora i potiču oslobađanje prostaglandina (OUSEY, 2011.). Neophodni su za opskrbu maternice krvlju i dostavu hranjivih tvari fetusu u razvoju.

## **Relaksin**

Relaksin je hormon gravidnosti kojeg proizvodi posteljica, točnije stanice trofoblasta posteljice (KLONISCH i sur., 2000.). Koncentracija relaksina raste od oko 80. dana gravidnosti i ostaje povišena do kraja gravidnosti. Daljnji porast koncentracije javlja se tijekom poroda, dok se nakon izbacivanja posteljice razina relaksina vraća na bazalne vrijednosti unutar 36 sati, ostajući visoka u slučaju zaostale posteljice (OUSEY, 2011.).

## **Prostaglandini**

Glavni prostaglandini gravidnosti i porođaja su prostaglandin F<sub>2α</sub> i E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). Tijekom rane gravidnosti PGF<sub>2α</sub> ima luteolitičku ulogu, dok u kasnijem stadiju stimulira kontrakcije miometrija povećavajući koncentracije intracelularnog kalcija u mišićima. Razine PGF<sub>2α</sub> i PGE<sub>2</sub> ostaju niske većinu gravidnosti, a povećavaju se približavajući se terminu poroda, brzo rastu tijekom prve faze poroda, a najvišu koncentraciju imaju tijekom vrhunca poroda kada stimuliraju snažne maternične kontrakcije (OUSEY, 2011.).

## **Oksitocin**

Oksitocin se luči iz stražnjeg režnja hipofize. Teško ga je točno izmjeriti u plazmi s obzirom da se otpušta pulzirajuće i vrlo se brzo metabolizira. Oksitocin stimulira kontrakcije miometrija povećanjem otpuštanja kalcija iz intracelularnih zaliha miometrija. Tijekom gravidnosti koncentracije su mu niske i povećavaju se tijekom poroda nakon puknuća alantokoriona (OUSEY, 2011.). Visoke razine se javljaju tijekom maksimalnih kontrakcija i fetalne ekspulzije kada je oslobađanje oksitocina stimulirano rastezanjem vrata maternice i vagine (Fergusonov refleks). Tijekom poroda, pad progesterona i rast estradiola pogoduje indukciji oksitocinskih receptora i povećanoj aktivnosti maternice (MCGLOTHIN i sur., 2004.).

## **Glukokortikoidi**

Fetalne koncentracije kortizola rastu rapidno tijekom kasnog stadija gravidnosti dok se kod majke razine glukokortikoida mijenjaju. Povećanje fetalnog kortizola povezano je s pripremom fetusa na život izvan maternice stimuliranjem različitih procesa potrebnih za sazrijevanje organa kao što su jetra, štitnjača, pluća, probavni sustav, koštana srž i kardiovaskularni sustav (OUSEY, 2006.). Kod gravidnih kobila koje nisu izložene stresu, razine glukokortikoida ostaju niske, a stupanj rada receptora ostaje nepromijenjen (OUSEY,

2011.). S druge strane, gravidne kobile izložene stresu imaju visoke razine kortizola u korelaciji s visokim razinama fetalnog kortizola.

### **Hormoni uključeni u laktogenezu, prehranu i rast fetusa**

Prolaktin i hormon rasta su esencijalni za početak laktacije kod većine vrsta sisavaca te ako jedan od njih nije prisutan neće doći do razvoja mliječne žlijezde i proizvodnje mlijeka (OUSEY, 2011.). Djelovanje prolaktina zajedno s progesteronima i estrogenima važno je za lobuloalveolarni rast mliječne žlijezde. Prolaktin se izlučuje putem sekretornih stanica prednjeg režnja hipofize te je inhibiran djelovanjem dopamina i endogenih opioda (AURICH i sur., 2002.). Kod kobila, razine prolaktina ostaju niske do zadnjih 2 tjedna gravidnosti kada se razine povećavaju, što je praćeno s razvojem mliječne žlijezde i početkom laktogeneze. Iako prolaktin utječe na početak laktogeneze, on nije esencijalan za nastavak laktacije jer se inhibicijom prolaktina od strane bromokriptina (agonist dopamina) tijekom vrhunca laktacije ne mijenja mliječnost niti veličina mliječne žlijezde (OUSEY, 2011.).

Hormon rasta ili somatotropin se oslobađa iz hipofize te regulira rast i laktaciju. Također, stimulira IGF1 koji se oslobađa iz jetre nakon rođenja te je povezan sa drugim somatotrofnim hormonima kao što su leptin i inzulin. Kod sisavaca somatotropin također proizvodi posteljica te su njegove koncentracije u korelaciji sa veličinom ploda pri rođenju (MULLIS i sur., 2008.).

IGF1 i inzulin su uključeni u rast i laktaciju, a prilikom poroda u kolostrumu su nađene visoke koncentracije IGF1 i inzulina. IGF1 uglavnom proizvodi jetra, ali također i jajnici, maternica i hipotalamus te je uključen u iskorištavanje hranjivih tvari, rast i regulaciju reproduktivnih mehanizama vezanjem na receptore u reproduktivnim tkivima. U fetalnoj plazmi nađeno je više IGF2 nego IGF1, a oba su uključena u fetoplacentalni razvoj. Inzulin otpuštaju  $\beta$ - stanice gušterače kao odgovor na koncentraciju glukoze u krvi. On igra ključnu ulogu u raspodjeli hranjivih tvari između kobile i fetusa. Bazalne koncentracije inzulina u kobile su veće u ranoj nego kasnoj gravidnosti (OUSEY, 2011.).

Leptin je hormon masnog tkiva uključen u prehranu i regulaciju apetita. Pruža mozgu informacije o statusu energije organizma tako da visoke koncentracije leptina utječu na smanjeni voljni unos hrane u organizam. Većinski leptin proizvode adipociti, ali su leptinski receptori utvrđeni i u testisima, jajnicima i drugim tkivima s visokim koncentracijama kod pretilih životinja (BUFF i sur., 2002.). Koncentracije leptina tijekom gravidnosti su povećane zbog regulacije razine sinteze masnog tkiva od strane majke stimulirana estrogenom pri čemu proizvodnja leptina od strane fetusa i posteljice može dovesti do hiperleptinemije. Tijekom

rane gravidnosti leptin je bitan za implantaciju zametka, a tijekom kasne za rast fetusa. U kasnoj fazi gravidnosti kobila osigurava hranjive tvari za rast fetusa na račun vlastite tjelesne mase tako da u tom periodu prevladavaju niske razine leptina (OUSEY, 2011.).

### **Fetalni hormoni**

Zametak već od 10. dana svog postojanja sintetizira enzime i steroide (STOUT, 2009.). Navedeni hormoni koje zametak proizvodi se uglavnom izlučuju unutar tkiva maternice, bar do drugog i trećeg tromjesečja gravidnosti nakon čega fetus izlučuje visoke koncentracije prekursora steroidnih hormona. Navedeni period se poklapa sa hipertrofijom steroidogenog tkiva u nadbubrežnoj žlijezdi i gonadama fetusa. Fetus doprinosi svom razvoju tako što maksimalno iskorištava majčine hranjive tvari kroz povećanu aktivnost fetalnog somatotropnog hormona (OUSEY, 2011.).

## **2.2. Dijagnostika gravidnosti u kobila**

Rana dijagnostika gravidnosti u kobila ima danas sve veće značenje u suzbijanju neplodnosti i/ili smanjene plodnosti. Postavljanje točne dijagnoze omogućava utvrđivanje i pravovremeno liječenje problematičnih životinja, što bitno utječe na rezultate pripusta, odnosno osjemenjivanja (MAKEK i sur. 2009.).

Postoji nekoliko vrsta metoda dijagnostike, njihovo korištenje ovisi o stadiju gravidnosti, iskustvu veterinaru i raspoloživosti opreme. Metode dijagnostike smo podijelili na uzgojne, kliničke i laboratorijske metode.

### **2.2.1. Uzgojna metoda dijagnostike ždrebnosti**

Pod ovom metodom podrazumijevamo izostanak estrusa kod gravidnih poliestričnih životinja. Plod inhibira regresiju žutog tijela i na taj način sprječava ponovni estrus. Ukoliko kobile nisu gravidne pokazuju znakove estrusa 16 do 20 dana nakon ovulacije. Sukladno tome, ako kobilica nakon tog vremenskog perioda ne pokazuje znakove estrusa, velike su šanse da je gravidna. Navedena metoda nije u potpunosti pouzdana jer su česte lažno pozitivne i lažno negativne dijagnoze. Iz tog razloga kobile se treba pregledati kliničkim i laboratorijskim metodama. Lažno pozitivan nalaz se može javiti kod kobila koje su u ždrebećem estrusu, kod kobila u laktaciji te kod kobila koje nisu koncipirale, ali imaju produžen diestrus te kod kobila

sa produženom lutealnom fazom zbog rane embrionalne smrtnosti. Također, neke kobile koje nisu koncipirale se mogu vratiti u estrus, ali ne pokazivati znakove estrusa (tihi estrus) (ENGLAND, 2005.). Lažno negativan nalaz podrazumijeva kobilu koja pokazuje znakove tjeranja unatoč koncepciji te se takve kobile mogu pariti što može uzrokovati smrt zametaka ako dođe do otvaranja cerviksa tijekom koitusa što se događa najčešće kod starijih kobila ili onih koje su nedavno oždrijebljene.

### **2.2.2. Kliničke metode dijagnostike**

Kliničke metode dijagnostike ždrebnosti uključuju vaginalnu, rektalnu i ultrazvučnu pretragu. Svaka klinička pretraga započinje uzimanjem anamneze od vlasnika.

#### **Vaginalna dijagnostika**

Vaginalnu inspekciju provodimo pomoću spekuluma ili dilatatora najčešće u kombinaciji sa rektalnom pretragom. Pretraga spekulomom tijekom gravidnosti nije bez rizika te se ne preporuča izvoditi osim ako nije posebno naznačeno. S obzirom da vagina gravidnih kobila ima gusti mukoidni sekret koji čini prepreku uzlaznim infekcijama, vaginalnim pregledom se navedena barijera može poremetiti čime se povećava rizik nastanka infekcija (SITTERS, 2021.). Osim toga, putem spekuluma zrak iz okoline ulazi u vaginu čime se također povećava rizik ulaska mikroorganizma u spolni sustav kobile. U slučaju da je vaginalni nalaz pozitivan sluznica rodnice je blijeda, bez sjaja, suha i ljepljiva. Stoščić materničnog grljka je mali, sljubljenih nabora, zatvoren i prekriven bijelkasto-sivom sluzi koja formira sluzni čep. Navedene promjene su odraz visoke razine progesterona u serumu te su vidljive najčešće od 14. dana pa do 8. tjedna nakon koncepcije. U kasnijem stadiju gravidnosti, od 5. mjeseca rodnica je izdužena, stoščić materničnog grljka je jako dislociran te ga je teško uočiti, a vanjski mu je otvor dorzalno usmjeren. Sluznica je i dalje suha, a sluz postaje vodenasta te ima konzistenciju meda. Osobito se ističu vene u stijenci rodnice koje su modrocrtvene boje. Poslije 8. mjeseca gravidnosti maternica se podiže iz trbušne šupljine te se sukladno tome dužina rodnice smanjuje. U posljednjem mjesecu gravidnosti mijenja se vaginalna slika. Sluznica rodnice i materničnog grljka postaju tamnocrtvene, a sluz je sve više vodenasta. Sluznica je sve sjajnija zbog serozne infiltracije.

Osobito nam je vrijedan vaginalni nalaz u negativnoj fazi gravidnosti u 5., 6. i 7. mjesecu kada se maternica spusti u abdomen pa ju je često teško rektalno palpirati. Tijekom prve faze porođaja opuštenu vrat maternice se postupno širi zbog pritiska alantokoriona

djelovanjem kontrakcija maternice (SITTERS, 2021.). Vaginalnu inspekciju treba izbjegavati tijekom kasne gravidnosti zbog mogućnosti stimulacije oslobađanja prostaglandina i posljedično tome izazivanja prijevremenih kontrakcija maternice (SITTERS, 2021.).

### **Rektalna dijagnostika**

Rektalna pretraga u kobilu je najčešće korištena metoda te se može provoditi u svim stadijima gravidnosti, a danas se uglavnom kao dominantna metoda kombinira s transrektalnom ultrazvučnom pretragom. Optimalno vrijeme za izvođenje rektalne pretrage ovisi o iskustvu kliničara, stadiju gravidnosti i karakteristikama kobile (peristaltika, promjer lumena rektuma, stupanj kontrakcija i sl.) (SITTERS, 2014.).

U periodu od 18. do 20. dana ždrebosti rektalnom pretragom uočava se pojačani tonus materničnih rogova koji su okruglog presjeka, mali i tvrde konzistencije te čvrsto zatvoren grlić maternice. Kontrakcija maternice u ovom stadiju uzrokovana je jakim hormonalnim djelovanjem koji senzibilizira maternicu do 40.- 42. dana gravidnosti. Na jajnicima je naglašena folikularna aktivnost iako palpacija jajnika malo pridonosi dijagnozi jer su veliki folikuli često prisutni, a žuto tijelo se ne može palpirati. Zbog moguće rane embrionalne smrtnosti u ovom periodu preporuča se uz rektalnu napraviti i ultrazvučnu pretragu.

U periodu od 23. do 25. dana ždrebosti još je uvijek rektalno prisutan naglašen tonus maternice i ciklička aktivnost jajnika. Maternični grljak je čvrsto zatvoren. U gravidnom rogu blizu bifurkacije može se palpirati ampula veličine golubinjeg jaja.

U periodu od 35. do 60. dana ždrebosti ampula u području bifurkacije je veličine kokošnjeg jaja i smještena je na ventralnoj strani gravidnog roga te počinje fluktuirati. Oko 49. dana ždrebosti, ampula je veličine guščjeg jaja, a oko 56. dana je veličine ljudske šake.

U periodu od 60. do 65. dana ždrebosti maternica postaje još mekša, a plod se počinje širiti u maternični trup. Proširenje u gravidnom rogu je veličine dinje i pokriva prednji rub zdjelice. Ligament gravidnog roga i istostranog jajnika su jače napeti.

U 3. mjesecu ždrebosti proširenje gravidnog roga je veličine dječje glave te fluktuiru, a plod se puno lakše palpira u području materničnog trupa što se lako može zamijeniti za puni mokraćni mjehur, pa treba utvrditi povezanost sa materničnim grljkom ili s jajnicima. U ovom periodu možemo dijagnosticirati protuudar ploda na način da se rukom potisne maternica ventralno. Treba napomenuti da je protuudar ploda kod kobilu manje izražen nego naprimjer kod krava. Sa 90 dana ždrebosti, gravidni rog je dislociran kranioventralno u abdominalnoj šupljini, a pri palpaciji osjeća se zategnuti prednji rub širokog materničnog ligamenta što je karakteristično za ovu fazu gravidnosti.

U 4. mjesecu ždrebnosti gravidni rog je veličine bedra, fluktuiraju te se lako može palpirati i protuudar ploda. Krajem ovog mjeseca gravidnosti može se osjetiti treperenje arterije uterine medije na strani gravidnog roga. Isto tako, napeti prednji dio širokog materničnog ligamenta je položen okomito. Razina napetosti i položaj tog ligamenta je važan simptom za dijagnostiku gravidnosti.

U periodu od 5. do 6. mjeseca ždrebnosti zbog težine ploda, gravidna maternica se spušta na ventralnu trbušnu stijenku te je pokrivena zavojima tankog crijeva i kolona tako da se teško palpira. Iz tog razloga ovu fazu nazivamo negativnom fazom gravidnosti.

Pred kraj 7. mjeseca gravidnosti plod se počinje dizati prema zdjelici, a maternična stijenka postaje tanja i mekša. Stoga u 8. mjesecu ždrebnosti ponovno se može osjetiti gravidna maternica i plod. S obzirom da se plod intenzivno razvija i raste, dolazi do smanjenja količine plodnih voda što samu palpaciju ploda čini još lakšom.

Tijekom zadnja 2 mjeseca gravidnosti dolazi do omekšavanja i skraćivanja grlića maternice. Kod kobilica koje su blizu stadija porođaja teško je rektalnom palpacijom razlikovati cerviks od ostalih struktura mekog tkiva (SITTERS, 2014.).

Treba napomenuti da rektalna pretraga nije primjerena metoda dijagnostike za rano otkrivanje blizanačke gravidnosti, otkrivanje i karakterizaciju tekućine maternice ili procjenu žutog tijela (SITTERS, 2014.).

### **Ultrazvučna dijagnostika**

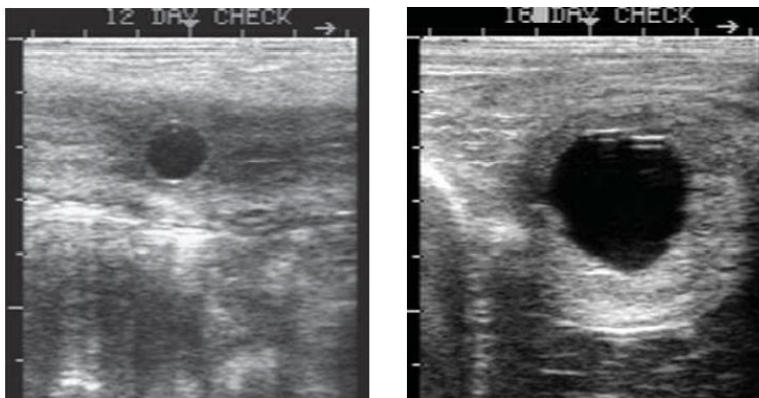
Kako bi ultrazvučna dijagnostika bila temeljita, potrebno je prije obaviti temeljitu rektalnu pretragu. Za izvođenje transrektalne ultrazvučne pretrage koristimo linearnu sondu frekvencije 5 do 8 MHz. Međutim, kako je transrektalna ultrazvučna pretraga otežana tijekom 3. do 6. mjeseca gravidnosti zbog otežanog pristupa plodu, u tom periodu se preporuča izvoditi transabdominalnu ultrazvučnu pretragu koja se izvodi pomoću linearne ili sektorske sonde frekvencije 2,5 do 3,5 MHz. Obično se prvi pregledi rutinski provode 12.-16. dan nakon ovulacije (McCUE, 2014.). Od velike je važnosti identificirati i izmjeriti ciste u maternici, ako su prisutne, zbog diferencijacije s embrionalnim mjehurićem. Ciste jako sporo rastu i sporo se razvijaju, ne kreću se unutar maternice i nemaju otkucaje srca (McCUE, 2014.).

Ultrazvučnom pretragom jajnika utvrđujemo prisutnost i karakteristike žutog tijela kao i prisutnost edema maternice. Fiziološki, kod gravidne kobile mora postojati žuto tijelo i ne smije biti prisutan edem maternice. Odsutnost žutog tijela i prisutnost edema ukazuje na povratak kobile u estrus (McCUE, 2014.).



Rani zametak se može vidjeti kada postoji dovoljna količina tekućine u žumanjčanoj vreći, ona izgleda kao anehogena struktura koja je u ranom stadiju sferičnog oblika.

Pomoću ultrazvučne pretrage možemo puno bolje pratiti stanje ploda i gravidnost same kobile jer se već 10. – 12. dana može utvrditi gravidnost, odnosno već se u tom periodu može utvrditi prisutnost zametnog mjehurića koji izgleda kao anehogena sferična struktura veličine 2mm (ENGLAND, 2005.). Sukladno tome, može se ranije utvrditi rana embrionalna smrtnost kao i prisutnost blizanačke gravidnosti. Zametak rapidno povećava svoj promjer te 14. dana nakon ovulacije dostiže veličinu od 10 mm ostajući u sferičnom obliku zbog debele embrionalne kapsule. Tijekom toga perioda zametak je pokretan te se može uočiti unutar rogova ili tijela maternice (ENGLAND, 2005.). Nakon fiksacije, rast zametka se usporava te se zametak rotira tako da njegova najdeblji dio (regija embrionalnog pola) zauzima ventralni položaj.



**Slika 2.** Ultrazvučna slika 12. i 16. dana gravidnosti (McCUE, 2014.)

Oko 21. dana, zametak je vidljiv u obliku hiperehogene strukture duguljastog oblika, u tom periodu se mogu detektirati i prvi otkucaji srca vidljivi kao brzo treperenje u središnjem dijelu zametaka. Od 30. dana gravidnosti vidljiv je amnion koji okružuje zametak u razvoju. Četrdesetog dana žumanjčana vreća je skoro u potpunosti odsutna, a pupkovina postaje vidljiva kao hiperehogena struktura.

Nakon formiranja endometrijskih čašica, ultrazvučna pretraga je potrebna za osiguravanje vitalnosti i kontinuiranog razvoja fetusa, pogotovo ako postoji rizik od fetalne resorpcije ili pobačaja. Nakon 50. dana gravidnosti vidljivi su udovi fetusa, uslijed potiskivanja

maternice ventralno („balotman“) , fetus pluta unutar alantoične tekućine te možemo razlikovati prsni i trbušni dio fetusa (ENGLAND, 2005.).

Od 60. dana gravidnosti vidljive su orbitalne kosti fetusa te se mjerenjem promjera očne jabučice može određivati starost ploda. Starost ploda možemo određivati ultravučnom fetometrijom kod koje se osim prema promjeru očne jabučice mjeri i promjer trupa i lubanje ploda. Osim određivanja starosti ploda, ovom metodom dijagnostike možemo određivati i spol ploda prema smještaju genitalnog tuberkula. Kod mužjaka on se spušta između stražnjih nogu dok se kod ženki pomiče bliže repu (MAKEK i sur., 2009.).

Tijekom kasne gravidnosti fetalni kostur postaje vidljiv, specifično glava, kralježnica i rebra koja stvaraju intenzivne refleksije koje su lako prepoznatljive (ENGLAND, 2005.). U 8. mjesecu gravidnosti ultrazvučno su vidljivi samo mali dijelovi fetusa zbog njegove veličine.

Bitno je napomenuti kako se ultrazvučna pretraga inicijalno radi zbog rane detekcije blizanačke gravidnosti, odnosno redukcije iste te je inducirano napraviti dva pregleda prije 30. dana gravidnosti kako bi se povećala mogućnost detekcije blizanačke gravidnosti (MARTINEZ DE ANDINO, 2020.). Danas se sve više koristi i Color Doppler naročito kod pretraga organogeneze fetusa tzv. „anomaly scan“ te funkcionalnog protoka krvi kroz maternicu i posteljicu te unutar samog ploda.

**Tablica 1.** Raspored potencijalnih UZV pregleda gravidne kobile (McCUE, 2014.)

DAN GRAVIDNOSTI	POSTUPAK PRETRAGE
12-15	Inicijalni pregled gravidnosti; identifikacija i redukcija blizanaca; procjena žutog tijela, statusa folikula i prisutnost edema endometrija
24-27	Ispitivanje zametaka; otkrivanje otkucaja srca; ponovno potvrditi odsutnost blizanaca
-35	Potvrda statusa gravidnosti u fazi stvaranja endometrijskih čašica
-45	Početni razvoj dodatnih CL-a
-60	Procjena stanja gravidnosti i dodatnih CL-a
55-90	Određivanje spola fetusa
-150	Potvrda gravidnosti; prvo cijepljenje protiv EHV-1
-300	Kasna procjena dobrobiti fetusa – praćenje fetusa, određivanje fetalnog položaja (kranijalno naspram kaudalno) i prijevremeno cijepljenje

### **2.2.3. Laboratorijske metode dijagnostike**

Ove metode dijagnostike se zasnivaju na određivanju koncentracija tvari koje potječu od ploda, maternice, jajnika, a ulaze u majčin krvotok, urin ili mlijeko te se dijele na tvari koje su specifične za gravidnost i tvari koje nisu specifične za gravidnost (MAKEK i sur., 2009.).

#### **Određivanje koncentracije eCG**

eCG se pojavljuje u krvi u mjerljivim koncentracijama oko 40. dana gravidnosti i prisutan je do 120. dana gravidnosti (ENGLAND, 2005.). Koncentracije eCG-a možemo određivati radioimunološkom analizom (RIA) i testom lateks aglutinacije te je razvijen brzi terenski test koji se zasniva na inhibiciji hemaglutinacije. Već nakon 30 minuta od uzorkovanja možemo dobiti željene rezultate. Moguć je i lažno pozitivan nalaz ukoliko je došlo do uginuća ploda nakon 40. dana gravidnosti, a ukoliko se uzorak uzima kod kobile koja je gravidna manje od 40 dana odnosno više od 120 dana moguć je lažno negativan rezultat (MAKEK i sur., 2009.). Zbog mogućih lažno pozitivnih i lažno negativnih rezultata, mjerenje koncentracije eCG-a se najčešće koristi u svrhu potvrde prisutnosti endometrijskih čašica i stanja samog ploda (McCUE, 2009.).

#### **Određivanje koncentracije progesterona u krvi i mlijeku**

Koncentracije progesterona ostaju visoke ( $>4$  ng/ml) tijekom prve polovice gravidnosti sve do otprilike 150. dana gravidnosti kada im je koncentracija najniža uslijed regresije sekundarnih žutih tijela i endometrijskih čašica. Koncentracije ostaju niske do posljednjeg mjeseca gravidnosti (SPRAYBERRY, 2009.), kada progesteron proizveden od nadbubrežne žlijezde fetusa i majke metabolizira u posteljici, a nastali metaboliti tijekom druge polovice gravidnosti prevladavaju u serumu kobile. Tijekom posljednjeg mjeseca gravidnosti koncentracije progesterona i njegovih metabolita rastu, a stopa porasta koncentracije postaje veća kako se bliži zadnji tjedan gravidnosti. Tako se koncentracije progesterona sa  $<10$  ng/ml povećavaju na  $\geq 20$  ng/ml (SPRAYBERRY, 2009.). Zadnjih sat do dva sata prije očekivanog termina poroda, koncentracije progesterona ponovno padaju.

Koncentracije progesterona u plazmi (ili u mlijeku) određujemo od 18. do 20. dana nakon ovulacije te možemo koristiti RIA i ELISA metodu (ENGLAND, 2005.). Rezultati radioimunološke analize se dobivaju kroz par dana, dok ELISA metodom rezultate već možemo dobiti kroz pola sata. U navedenom periodu koncentracije progesterona bi trebale biti više od 1 ng/ml iako postoje slučajevi kod pojedinih kobila koje iako su gravidne, kratak period imaju niske koncentracije progesterona.

Ako je razina progesterona visoka to ukazuje na postojanje žutog tijela i posljedično potvrđuju gravidnost. Niske koncentracije progesterona u posljednjem mjesecu gravidnosti povezane su s pobačajima, pogotovo onima uzrokovanim fetalnom hipoksijom. Moguće je i lažno pozitivan rezultat ukoliko se razvilo perzistentno žuto tijelo (MAKEK i sur., 2009.), ukoliko je kobila u diestrusu, ako je kobila pseudogravidna ili kobila nije gravidna, ali ima prisutne patologije na jajnicima (McCUE, 2009.).

### **Određivanje koncentracije estrogena u krvi i urinu**

Rast koncentracije estrogena tijekom gravidnosti se može koristiti u dijagnostici gravidnosti od 60. dana pa sve do kraja gravidnosti. Porast njegove koncentracije dokazuje da je plod živ i da se razvija (MAKEK i sur., 2009.). Estrogen se može dokazati iz seruma, fecesa i urina te su njegove koncentracije u plazmi i urinu najviše 150. dana gravidnosti i ostaju visoke do otprilike 300. dana gravidnosti. Koncentracije estrogena najčešće detektiramo iz mokraće jer slobodni estrogeni reagiraju sa sumpornom kiselinom stvarajući specifičnu boju tijekom reakcije (ENGLAND, 2005.). Specifična nam je Lunaasova metoda dokazivanja razine estrogena iz urina. To je pouzdana i jednostavna metoda koja se može izvoditi u terenskoj praksi. Ovu metodu možemo izvoditi od 140. do 300. dana gravidnosti uzimanjem prve jutarnje mokraće. Detekcija estron sulfata nije koristan pokazatelj placentitisa ili prijetjećeg pobačaja, budući da su mu koncentracije jako visoke do manje od 24 sata prije pobačaja.

### **Pregled cervikovaginalne sluzi**

Već u prvom mjesecu gravidnosti ovaj pregled daje siguran rezultat u 90% slučajeva. Cervikovaginalnu sluz možemo uzimati vatom iz vagine, Albrechstenovim kliještima ili nakon vaginalne pretrage kobila skinemo sluz sa spekuluma. Nakon uzimanja uzorka napravi se 2-3 razmaza. Već prema izgledu razmaza možemo posumnjati na to je li kobila gravidna ili ne. Ako je na razmazu sloj uzorka sivobjeličaste boje kobila je gravidna, a ukoliko je uzorak vodenast i prozirno se razlijeva kobila nije gravidna. Uzorak osim inspekcijom možemo pregledati i mikroskopski u obliku nativnog preparata ili bojanjem preparata po Giemsi ili hematoksilin eozinom (MAKEK i sur., 2009.). Ako smo preparat obojali po Giemsi i stavili pod mikroskop te vidjeli da se u uzorku nalaze sluzne kuglice i od svih elemenata da prevladavaju trepetljikaste stanice možemo zaključiti da je kobila gravidna. Kod kobila koje nisu gravidne neće biti formiranih kuglica te će prevladavati stanice orožnjalog epitela i bijele krvne stanice.

## 2.3. Prekid gravidnosti

### 2.3.1. Rana embrionalna smrtnost

Kod kobilica, rana embrionalna smrtnost (RES) odgovara vremenu prijelaza zametka u stadij fetusa (BALL, 2011.). Predstavlja značajan ekonomski gubitak zbog povećanih troškova i smanjenog uzgoja ždrebadi (SATUE i GARDON, 2016.) te je povezan s dobrobiti životinja (KAHLER i sur., 2019.). Zametci ugibaju tijekom različitih faza razvoja, počevši od oplodjenog jajašca, preko morule, blastociste, do kasnijih razvojnih stadija organogeneze. Prema tome, razlikujemo dva razdoblja embrionalne smrtnosti. Tijekom prvog razdoblja, od oplodnje do 11. dana nakon ovulacije, većina zametaka ugiba u jajovodu (BALL, 2011.), gdje ostaje 6 dana. Tijekom tog razdoblja prolazi kroz drastične razvojne promjene koje obuhvaćaju rana brazdanja, kompakciju morule, blastulaciju, diferencijaciju trofoblasta i embrioblasta te aktivaciju genoma zametka. Prijelaz s majčinog na embrionalni genom smatra se kritičnom točkom embrionalnog razvoja. Drugo razdoblje je između 14. i 40. dana gravidnosti kada se zametak nalazi u maternici.

Općenito govoreći, RES podrazumijeva nestanak zametnog mjehura prilikom ultrazvučnog pregleda, a nakon potvrđene gravidnosti, iako se mogu vidjeti moguće naznake gubitka zametka. Te naznake su najčešće nepravilan oblik embrionalnog mjehurića, produžena pokretljivost mjehurića nakon 16. dana, prekomjerni edem endometrija, premali mjehurić, odsutnost otkucaja embrionalnog srca, povećana ehogenost tekućine unutar zametka, odvajanje mjehurića s gubitkom tekućine ili abnormalni razvoj embrionalnih ovojnica (BALL, 2011.). Ultrazvučnom pretragom možemo rano dijagnosticirati gravidnost (12.-14. dan nakon ovulacije) te pratiti razvoj zametka ili eventualno otkriti moguću ranu embrionalnu smrtnost.

Pojavnost RES je u rasponu od 5-15% uzimajući u obzir da stopa ždrebljenja pada kod kobilica starijih od 14 godina. Stoga, kod kobilica starijih od 18 godina učestalost RES je najviša te iznosi između 20 i 30% (SATUE i GARDON, 2016.). Blastociste starijih kobilica sadrže više morfoloških nepravilnosti (VANDERWALL, 2008.), te slabije preživljavaju nakon embriotransfera u zdrave kobile primateljice (SATUE i GARDON, 2016.). BALL (2011.) navodi da je kritično razdoblje za pojavu RES kod starijih kobilica između 2. i 4. dana nakon ovulacije. Također, postupak s kobilama tijekom umjetnog osjemenjivanja djeluje kao stresor za kobile, što dovodi do povećanja koncentracija kortizola u krvi (MALSCHITZKY i sur., 2015.). Dugotrajni ili kronični stres dovodi do smanjene sekrecije gonadotropnih hormona i

inhibicije same reprodukcije (MALSCHITZKY i sur., 2015.) zbog povećane koncentracije glukokortikoida, kortizola i kortikosterona u plazmi.

Opisano je nekoliko etioloških čimbenika koji mogu uzrokovati RES, a koji su podrijetlom od majke i od ploda (VANDERWALL, 2008.). Starost kobile je jedan od glavnih predisponirajućih čimbenika za RES radi poremećene mejoze (BALL, 2011.), degeneracije oocita, smanjene kontraktilnosti maternice, težih degenerativnih promjena endometrija (BALL, 2011.; PODICO, 2019.) te smanjene limfne drenaže i učestalih endometrijskih cisti u maternici (VANDERWALL, 2008.). Od ostalih čimbenika se spominje:

### **1. Abnormalnosti oocita**

Pad kvalitete oocita povezan sa starenjem kobilica glavni je čimbenik smanjene plodnosti. U *in vitro* studijama (SATUE i GARDON, 2016.) oocite starijih kobilica sporije dosežu metafazu II ili pak ostaju zaustavljene u metafazi I od oocita mlađih kobilica, što upućuje na poremećaj mejoze u starijih kobilica. Mitohondriji *in vitro* sazrijelih oocita starijih kobilica također pokazuju više strukturnih abnormalnosti što dokazuje da se kvaliteta oocita starenjem kobilica znatno smanjuje. Osim navedenoga, kod starijih kobilica češće dolazi do odgađanja ovulacije i predovulatornog sazrijevanja oocita što upućuje da starije kobile prolaze kroz reproduktivno starenje koje karakterizira produljenje folikularne faze, neredovite ovulacije te prestanak folikularne aktivnosti (BALL, 2011.; SATUE i GARDON, 2016.). Produljenje folikularne faze povezano je s povišenim razinama FSH i LH te s povećanom incidencijom abnormalnih oocita. Sve navedene promjene i starenje oocita rezultiraju smanjenom plodnošću i učestalijom embrionalnom smrtnošću kod starijih kobilica (BALL, 2011.; SATUE i GARDON, 2016.).

### **2. Endokrini čimbenici**

Endokrini čimbenici, poput progesterona, navedeni su kao potencijalni čimbenici koji pridonose smanjenoj plodnosti ili ranoj embrionalnoj smrtnosti u kobilica (SATUE i GARDON, 2016.). Funkcija progesterona je pripremiti maternicu za prihvata i razvoj oplođenog jajašca. Kao što smo već spomenuli, žuto tijelo je odgovorno za proizvodnju progesterona, a ukoliko dođe do njegove razgradnje, neće doći do majčinskog prepoznavanja gravidnosti, odnosno doći će do rane embrionalne smrtnosti (VANDERWALL, 2008.). Dugotrajna insuficijencija progesterona rezultira ograničenom pokretljivošću zametaka, odgođenom fiksacijom, smanjenom veličinom i promijenjenom orijentacijom embrionalnog mjehurića. Nesposobnost zametaka da blokira luteolizu identificirana je kod kobilica kod kojih je RES nastupila do 20.

dana nakon ovulacije i bio je karakteriziran prisutnošću embrionalnih mjehurića premalih za dob zametka i uspjeh fiksacije (BALL, 2011.; PODICO, 2019.).

U kobilu koje imaju slabi tonus maternice i/ili cerviksa, neuspješnu fiksaciju zametka 16. dana nakon ovulacije ili nemaju detektibilno žuto tijelo ultrazvučnom pretragom jajnika preporuča se određivanje koncentracije progesterona u serumu. Minimalne koncentracije progesterona tijekom rane gravidnosti su između 2,0 i 4,0 ng/mL (BALL, 2011.).

### **3. Čimbenici endometrija**

Smanjena plodnost kod starijih kobilu povezana je s degenerativnim i upalnim promjenama u endometriju od kojih možemo istaknuti endometrozu, endometritis i vaskularne promjene. Intrauterino nakupljanje tekućine u ranoj gravidnosti povezano je s RES, osobito ako endometritis traje duže od 5 dana nakon ovulacije kada se zametak spusti u maternicu te s nižom koncentracijom progesterona. Isto tako, negativno utječe na pokretljivost i vitalnost spermija. RES je učestaliji kada se zametak fiksirao u prethodno gravidnom rogu maternice (VANDERWALL, 2008.; BALL, 2011.).

### **4. Utjecaj pastuha na stopu gubitka zametaka**

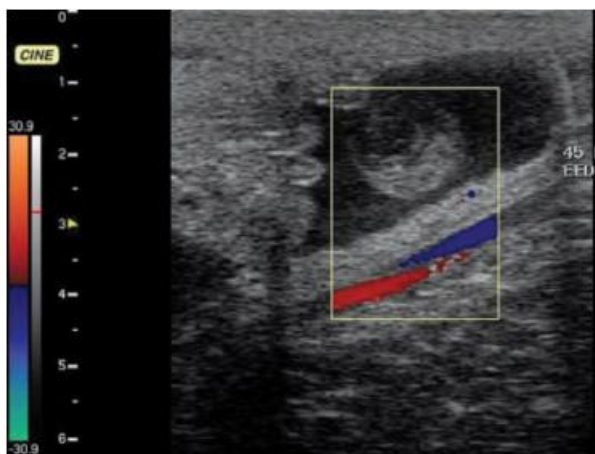
Utjecaj pastuha na RES kod kobilu može biti povezan s genetskim čimbenicima, zaraznim bolestima ili oštećenim kromatinom spermija. Oštećenje kromatina se može povećati tijekom pohrane ohlađenog sjemena ili nakon krioprezervacije, što može doprinijeti većem gubitku zametaka (VANDERWALL, 2008.; BALL, 2011.).

### **5. Učinak prehrane na gubitak zametaka**

Na plodnost utječe i neadekvatna hranidba i loša tjelesna kondicija (eng. BCS, *Body Condition Score*) (VANDERWALL, 2008.). Kobile imaju veće hranidbene potrebe tijekom laktacije, pa su izložene većem riziku ranog gubitka zametaka ako su neadekvatno hranjene (BALL, 2011.). Istraživanja su pokazala da hranidba utječe na koncentraciju progesterona u serumu gravidnih kobilu (GINTHER, 1995.).

### 2.3.1.1. Ultrazvučni pokazatelji rane embrionalne smrtnosti

Ultrazvučni nalaz RES uključuje edem maternice, abnormalni smještaj zametka, smanjeni promjer zametka, deformaciju zametnog mjehurića, kolabiranu žumanjčanu vrećicu i niži broj otkucaja srca (BETTERIDGE i sur., 2018.). Zametci s usporenim embrionalnim razvojem od 14. do 21. dana gravidnosti imaju veći rizik od RES nego zametci fiziološke veličine u navedenom periodu (KRAKOWSKI i sur., 2011.). Abnormalni zametak ne može signalizirati blokiranje luteolize, što će dovesti do njegova uginuća. Takvi su zametaki većinom opisani kao trofoblastični mjehurići u kojima se trofoblast razvija bez diferencijacije embrioblasta, a RES nastupa do 30. dana gravidnosti. Praćenje otkucaja srca zametaka u periodu od 20. do 22. dana gravidnosti je pokazatelj vitalnosti zametka te se preporuča koristiti Color Doppler ultrazvuk koji omogućuje detaljniji prikaz embrionalnog krvotoka (BALL, 2011.).



Slika 3. Kolor Doppler UZV slika fetusa konja starog 45 dana (McKINNON i sur., 2011.)

### 2.3.1.2. Terapija i preventiva rane embrionalne smrti

Rana embrionalna smrtnost predstavlja veliki izazov svakom kliničaru. Česte ultrazvučne pretrage omogućavaju rano otkrivanje embrionalne smrtnosti i omogućavaju ponovno osjemenjivanje kobile što je prije moguće. U starijih kobilama, s obzirom na smanjenu kvalitetu oocita, preporuča se inducirati ovulaciju s pripravcima humanog korionskog gonadotropina (engl. *human chorionic gonadotropin*, hCG) i analogima gonadotropin-oslobađajućeg hormona (engl. *gonadotropin-releasing hormone*, GnRH) kako bi se skratila folikularna faza i smanjila mogućnost starenja oocita. U svrhu prevencije RES, često se koristi egzogeni sintetski progesteron. U upotrebi je najčešće altrenogest (0,44 mg/kg, oralna



aplikacija), uljna otopina progesterona (150-300 mg, intramuskularna aplikacija) te različiti pripravci progesterona sa kontroliranim otpuštanjem (McKINNON i sur., 2000.). U većini slučajeva, preporuča se nastaviti primjenu progesterona sa kontroliranim otpuštanjem tijekom 100-120 dana gravidnosti. Ako se terapija planira prekinuti prije 60. dana gravidnosti preporuča se izmjeriti serumske koncentracije progesterona. Altrenogest je posebno pogodan jer je primjenom standardnih laboratorijskih metoda moguće razlučiti njegovu koncentraciju od progesterona kojeg sintetizira gravidna kobila. Eksperimentalno, kod gravidnih kobila kod kojih se primjenom prostaglandina u vrijeme ovulacije dovelo do regresije žutog tijela i time ugrozila gravidnost, primjena egzogenih progesterona osigurala je daljnju održivost gravidnosti (BETTERIDGE, 2018.). Kod kobila primateljica kod kojih je proveden zahvat ovariektomije, primjena egzogenog progesterona osigurava početni razvoj zametaka (BALL, 2011.).

Osim progesterona, za pokušaj održavanja gravidnosti i poboljšanja plodnosti, korišteni su imunomodulatori ili imunostimulansi kod kobila sa perzistentnim endometritisom. Isto tako, flunixin meglumin (nesteroidni protuupalni lijek) je predložen kao sredstvo za poboljšanje plodnosti kod kobila u vrijeme nekiruskog embriotransfera (FOSS i CRANE, 2004.).

## **2.4. Zarazni pobačaji**

### **2.4.1. Konjski herpesvirus**

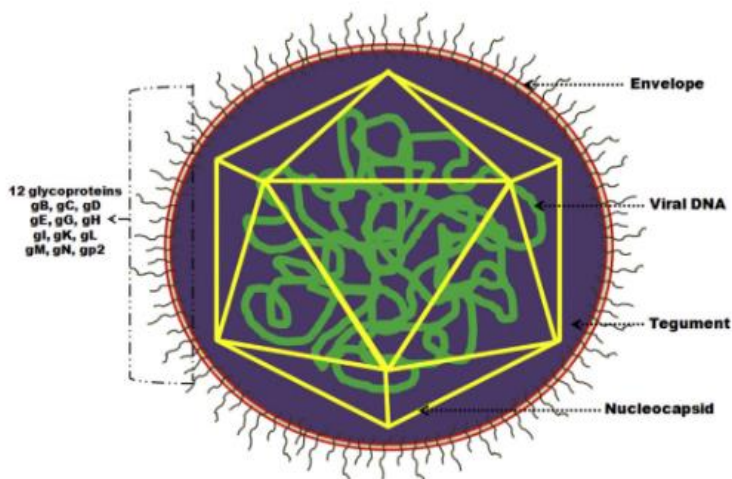
Herpesvirus 1 i 4 predstavljaju veliki problem u konjogojstvu diljem svijeta zbog njihovih veterinarsko-medicinskih i ekonomskih posljedica. Konjski herpesvirus 1 (EHV-1) ili virus pobačaja najčešće povezujemo sa pobačajima dok konjski herpesvirus 4 (EHV-4) ili virus rinopneumonitisa povezujemo sa respiratornim bolestima u ždrebadi. Izuzetak toga, oba podtipa virusa imaju sposobnost izazvati respiratorni oblik bolesti i pobačaj (TIMONEY, 2011. a).

#### **Etiologija**

Konjski herpesvirusi 1 i 4 su članovi roda *Varicellovirus*, potporodice *Alphaherpesvirinae*, porodice *Herpesviridae*. Oba podtipa su izvorno smatrani podtipovima jednog virusa, EHV-1, te im je prirodna vrsta domaćina konj (TIMONEY, 2011. a), iako EHV-

1 može inficirati i druge vrste domaćih životinja. Promjer virusa EHV-1 je oko 150 nm, a građen je od ikozaedarske nukleokapside koja sadrži virusni genom. Ovojnica virusa sadrži različite glikoproteinske peplomere koje su zadužene za razvoj infekcije, pričvršćivanje i ulazak u stanice domaćina te širenje od stanice do stanice (REED i TORIBIO, 2004.; KHUSRO i sur., 2020.). Glikoproteini na površini virusne membrane vežu se na površinu stanice domaćina i omogućavaju spajanje virusa sa stanicom. Virusni genom sadrži jednu linearnu dvolančanu DNA. EHV-1 i EHV-4 se lako inaktiviraju izvan domaćina deterdžentima, dezinficijensima, lipidnim otapalima i toplinom te mogu preživjeti do tjedan dana u hladnim i vlažnim uvjetima u okolišu (LYLE, 2009.).

EHV-1 se smatra glavnim uzrokom zaraznog pobačaja u kobilama u mnogim zemljama, a također može uzrokovati neurološki sindrom, posebice mijeloencefalopatiju i sindrom povezan sa multisistemskim vaskulitisom, teškim plućnim edemom i blagim enterotifokolitisom. Kobile koje nisu adekvatno zaštićene, a izložene su virusu (osobito EHV-1) u kasnijim stadijima gravidnosti, možda neće pobaciti, ali ždrijebe će biti kongenitalno inficirano (LYLE, 2009.; SATUE i GARDON, 2016.). EHV-4 može izazvati sporadične slučajeve pobačaja. EHV-1 ima tkivni tropizam za endotelne stanice, respiratorne epitelne stanice, neurone i limfne stanice (TEARLE i sur., 2003.), dok većina sojeva EHV-4 ima tropizam samo za epitelne stanice i neurone, ograničavajući sposobnost uzrokovanja viremije ili bolesti ostalih organskih sustava osim respiratornog.



**Slika 4.** Struktura EHV-1 (KHUSRO i sur., 2020.)

## **Prijenos virusa**

Prijenos EHV-1 i EHV-4 primarno je putem respiratorne sluznice, što može biti posljedica izravnog ili neizravnog kontakta s nazalnim ili konjuktivalnim sekretom inficiranih životinja, pobačenim fetusima, posteljicom ili tekućinama. Transplacentalni prijenos je moguć u slučaju infekcije EHV-1, dok kod infekcije EHV-4 rijetko. U slučaju transplacentalnog prijenosa obično dolazi do pobačaja u zadnjem tromjesečju gravidnosti (KHUSRO i sur., 2020.). EHV-1 može ući u litički ili latentni ciklus infekcije. Litički ciklusi uključuju replikaciju virusa, što dovodi do lučenja sekreta iz nosa, pobačaja ili neuroloških simptoma, a latentni ciklus infekcije nastaje kada se virusna DNA translocira u jezgru stanice, ali je transkripcija i translokacija genoma blokirana. Kod latentnog oblika infekcije u početku nema kliničkih znakova bolesti te se ona može reaktivirati ako dođe do poticaja od stresnog faktora. U slučaju da se radilo o latentnom obliku infekcije kod koje je došlo do reaktivacije, kobila najčešće pobačuje zbog nedovoljno razvijenog imunskog odgovora. Zabilježeno je nekoliko slučajeva u kojima je infektivni EHV-1 ili virusna DNA dokazana u sjemenu pastuha i u embriju klinički zdrave kobile davateljice (LYLE, 2009.; TIMONEY, 2011. a).

## **Patogeneza**

Nakon ulaska EHV-1 u respiratorni sustav dolazi do replikacije virusa unutar epitela gornjeg dišnog sustava uključujući ždrijelo, nos, meko nepce i epitel dušnika (TIMONEY, 2011. a). Nakon replikacije, virus inficira unutarnje tkivo respiratornog sustava i limfne čvorove što predstavlja sekundarnu fazu infekcije. Inficirani limfociti iz limfnih čvorova odlaze u krvotok uzrokujući viremiju koja omogućuje translokaciju virusa u endotelne stanice posteljice te dolazi do razvoja vaskulitisa, koji je najizraženiji tijekom 5.-9. mjeseci gravidnosti (KHUSRO i sur., 2020.). S nastalim dubokim vaskulitisom endometrija može doći do pobačaja bez infekcije fetusa. Osim endometrija, vaskulitis zahvaća i alantokorion. Navedene promjene na posteljici i alantokorionu dovode do tromboze zahvaćenih krvnih žila (TIMONEY, 2011. a). Stupanj i opseg tromboze određuje hoće li doći do pobačaja ili ne. Većina pobačaja se pojavljuje između 8. i 11. mjeseca gravidnosti, iako se mogu pojaviti već u 5. mjesecu. Ako virus ne uspije izazvati pobačaj oko 5. mjeseca gravidnosti, pretpostavlja se da su vaskularne promjene endometrija i ekspresija virusnog antigena u endotelnim stanicama kod ovih jedinki znatno manje u usporedbi s kobilama inficiranim u kasnijim stadijima gravidnosti.

Virus se preko inficiranih fetalnih leukocita prenosi na fetus uzrokujući diseminirane nekrotične lezije u tkivima. Istodobno, dolazi do pojave lokalnog edema na mjestu

komunikacije majke i ploda što dovodi do prijevremenog odvajanja alantokoriona i endometrija te u konačnici pobačaja fetusa. Ako su trombotične lezije opsežne, ishemija posteljice se javlja vrlo brzo zajedno s odvajanjem posteljice i pobačajem. U takvim uvjetima, virus nije imao dovoljno vremena za invaziju fetusa i posteljice, stoga pregledom, fetus neće biti pozitivan na prisutnost virusa (KHUSRO i sur., 2020.).

## **Pobačaji**

Pobačaju uzrokovanom EHV-1 i EHV- 4 vrlo rijetko prethode bilo kakvi klinički znakovi. Većina navedenih pobačaja se javlja sporadično i češće kod kobila koje se prvi puta ždrijebe. Respiratorni znakovi bolesti obično nisu prisutni. Fetusi su obično pobačeni mrtvi s nepromijenjenim amnionom ili se povremeno mogu nalaziti unutar alantokoriona. Pojedina ždrebada bude pobačena živa, ali ugibaju vrlo brzo, posljedično opsežnim virusnim oštećenjima pluća. Takva ždrebada je najčešće slaba, ima poteškoće u disanju, žuticu i pokazuje neurološke simptome. Pojedini autori takav slučaj nazivaju „neonatalna EHV bolest ždrebadi“ (TIMONEY, 2011. a). Kobile nakon pobačaja uzrokovanim herpesvirusima nemaju poteškoće sa ponovnim ulaskom u ciklus i plodnošću. Virus se ne može dokazati u maternici kobile 48 sati od pobačaja, a izlučevine fetusa, posteljice i reproduktivnog sustava kobile neposredno nakon pobačaja predstavljaju vrlo važne izvore infekcije (LYLE, 2009.).

## **Dijagnostika**

Dijagnoza pobačaja se temelji na prisutnosti karakterističnih patoloških lezija u fetusu i/ili posteljici, dokazivanju virusa izolacijom u staničnoj kulturi i/ili PCR-om i dokazivanju virusnog antigena u smrznutom ili formalinom fiksiranom tkivu posteljice i fetusa imunoflorescencijom ili neizravnim imunoperoksidaznim bojanjem (SATUE i GARDON, 2016.). Uzorci koji se koriste za navedene metode dijagnostike su: pluća, jetra, nadbubrežna žlijezda, timus, slezena i alantokorion fetusa.

Patohistološka pretraga pobačenog fetusa i posteljice je najčešće korištena metoda dijagnostike. Eozinofilna intranuklearna inkluzijska tjelešca u epitelnim stanicama respiratornog sustava i hepatocitima fetusa te vaskulitis posteljice predstavljaju karakterističan nalaz u uzorcima obojenim hematoksilinom i eozinom.

Serološko ispitivanje seruma kobila na herpesvirus ima mali dijagnostički značaj, za razliku od ispitivanja seruma pobačenog fetusa ili mrtvorodne ždrebadi te prekolostralnih uzoraka iz slučajeva herpesvirusne neonatalne bolesti koji mogu imati značajne razine neutralizirajućih protutijela.

Za razlikovanje podtipova herpesvirusa, najbolja metoda je korištenje specifičnih ELISA testova. Vrlo je bitno razlikovati pobačaje uzrokovane herpesvirusom od onih uzrokovanih virusom arteritisa konja, koji se razlikuju s obzirom na učestalost pojave kliničkih simptoma pred pobačaj i stupanj lezija fetusa. Fetusi inficirani virusom arteritisa konja rijetko kada imaju razvijene teške lezije za razliku od fetusa inficiranih herpesvirusom, kod kojih se razvije teži oblik diseminiranih lezija koje ukazuju na ovu infekciju.

Dijagnostika latentnog oblika herpesvirusne infekcije uglavnom se provodi PCR metodom uzimanjem uzorka krvi te se u leukocitima periferne krvi dokazuje prisutnost EHV-1 (TIMONEY, 2011. a).

U slučaju kada se sumnja na pobačaj uzrokovan EHV-1 infekcijom, ali se fetus i ovojnica ne mogu pronaći, parni uzroci seruma kobile mogu pomoći u određivanju je li EHV-1 bio uzrok pobačaja.

### **Liječenje i prevencija**

Ne postoji lijek za sprječavanje pobačaja u gravidnih kobila inficiranih EHV-1 ili EHV-4 virusom, već se godinama koristi cijepljenje u svrhu prevencije pojave infekcije. Trenutno se primjenjuju inaktivirana ili živa cjepiva. Inaktivirana cjepiva se sastoje od cijelog apatogenog mikroorganizma bez mogućnosti umnažanja ili širenja na druge životinje dok živa cjepiva odgovaraju atenuiranim ili živim vektorskim cjepivima na bazi virusa (KHUSRO i sur., 2020.). Indikacije za cijepljenje konja protiv rinopneumonitisa su (BARBIĆ, 2022.):

- a) konji mlađi od 5 godina
- b) konji na rasplodnim ergelama u kontaktu sa gravidnim kobilama
- c) konji koji borave u uzgojima s intenzivnim prometom ljudi i konja
- d) sportski, rasplodni i izložbeni konji.

Cijepljenje ne rješava problem latentnih infekcija te cijepljene životinje nisu u potpunosti zaštićene od pobačaja ili neuroloških oblika bolesti niti nakon nekoliko godina uzastopnog cijepljenja (BARBIĆ, 2022.). U tablici je prikazan cijepni protokol za rinopneumonitis konja:

**Tablica 2.** Cijepni protokol za rinopneumonitis konja (BARBIĆ, 2022.)

KATEGORIJA I CIJEPNI STATUS	CJEPIVO	1.DOZA	2.DOZA	3.DOZA	DOCJEPLJIVANJE
<b>Odrasli, nerasplodni, necijepljeni</b>	Inaktivirana EHV-1/EHV-4	D o	4 do 6 tjedana	4 do 6 tjedana	Svakih 6 mjeseci
	Atenuirana EHV-1	D o	4 do 6 tjedana	4 do 6 tjedana	Svakih 6 mjeseci
<b>Gravidne kobile</b>	Inaktivirana EHV-1 registrirana za sprječavanje pobačaja	5. mjesec gravidnosti	Sedmi mjesec graviditeta	Deveti mjesec graviditeta	-
	Inaktivirana EHV-1/EHV-4	4 do 6 tjedana pred ždrebljenje	-	-	-
<b>Rasplodne kobile Pastusi</b>	Cijepljenje prije sezone rasploda i kasnije sukladno riziku od infekcije				
<b>Ždrebad</b>	Inaktivirana EHV-1/EHV-4	U dobi od 4 do 6 mjeseci	4 do 6 tjedana	U dobi od 10 do 12 mjeseci	Svakih 6 mjeseci
	Atenuirana EHV-1	U dobi od 4 do 6 mjeseci	4 do 6 tjedana	do 12 mjeseci	Svakih 6 mjeseci

Poseban rizik predstavljaju kobile u kasnoj gravidnosti koje dolaze iz inozemstva. Smanjenje rizika se može postići uvođenjem karantene za novonabavljene životinje u trajanju od 3 do 4 tjedna. Konje na farmama za uzgoj bi trebalo držati u manjim, fizički izoliranim skupinama kako bi se smanjio rizik od unošenja infekcije i smanjio opseg izbijanja ako do infekcije dođe. Također, gravidne rasplodne kobile treba držati u skupinama i izolirati od ostale populacije konja na farmi te je potrebno smanjiti stres povezan s prenapučenošću i postupcima rukovanja s kobilama (BARBIĆ i sur., 2012. ;WALTER i sur., 2013.). Ako se gravidne kobile uklone iz svoje skupine i potom se vrate na farmu, ne bi ih trebalo uvoditi u njihovu izvornu skupinu. Osim mjera segregacije i podjele konja po skupinama, uvijek treba provoditi higijenske mjere unutar farme. Ako je došlo do pobačaja, mjesto na kojemu je životinja pobacila treba temeljito dezinficirati i svaku moguću podlogu spaliti. Fetus i posteljicu treba staviti u plastičnu vrećicu i poslati u dijagnostički laboratorij. Stražnji dio i perinealno područje kobile koja je pobacila treba oprati sa odgovarajućim dezinficijensom i kobilu izolirati tijekom preporučenog razdoblja od 4 tjedna (TIMONEY, 2011. a).

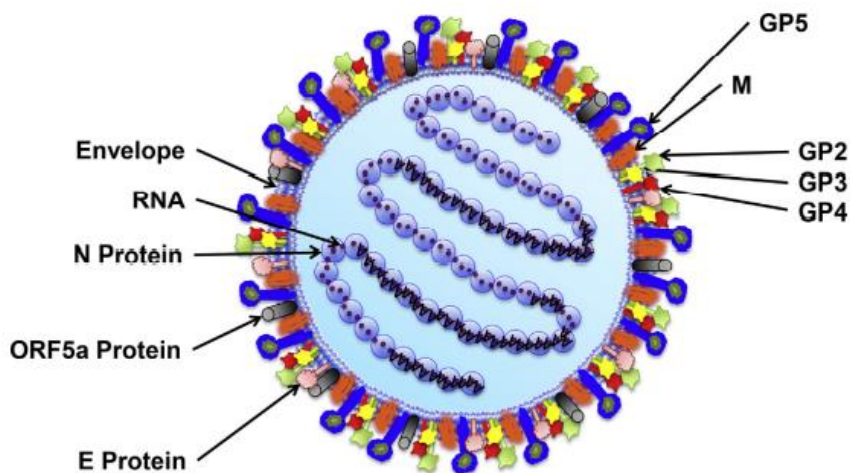
U slučaju da je došlo do izbijanja EHV infekcije na ergeli, komunikacija s vlasnikom oboljelog konja je jako bitna. Vlasnik ima dužnost obavijestiti udrugu uzgajivača i vlasnike ostalih konja u ergeli o izbijanju bolesti.

#### **2.4.2. Virusni arteritis konja**

Virusni arteritis konja (engl. *Equine viral arteritis*, EVA) je akutna kontagiozna zarazna bolest kopitara uzrokovana virusom arteritisa konja (TIMONEY, 2011. b). Bolest je karakterizirana vrućicom, depresijom, leukopenijom, edemom i respiratornim znakovima. Također je bolest od primarne važnosti zbog rizika od pobačaja kod gravidnih kobila, pojave bolesti i uginuća kod mlade ždrebadi te mogućnosti virusa da se trajno nastani u pastusima koji postaju perzistentni kliconoše infekcije (TIMONEY, 2011. b; SATUE i GARDON, 2016.). EVA se pojavljuje diljem svijeta, iako prevalencija dosta varira među zemljama i konjima različitih pasmina. Bolest uzrokuje velike ekonomske gubitke, bilo direktno zbog pobačaja, upale pluća ždrebadi ili febrilne bolesti odraslih konja, ili indirektno zbog međunarodnih propisa o trgovini/kretanju životinja, posebice onih koji se odnose na inficirane pastuhe kliconoše i njihovo sjeme (DEL PIERO, 2000.; MacLACHLAN i BALASURIYA, 2006.).

#### **Etiologija**

Virus konjskog arteritisa je jednolančani RNA virus s ovojnicom, a pripada rodu *Arterivirus*, porodici *Arteriviridae*, redu *Nidovirales* (LYLE, 2009.). Građen je od izometrične jezgre okružene ovojnicom koja sadrži lipide iz koje strše šiljici. RNA je inkapsulirana jednim nukleokapsidnim proteinom i nalazi se unutar jezgre (DEL PIERO, 2000.). Preživljavanje virusa ovisi o temperaturi, te može preživjeti 20-30 minuta na 56°C i 2-3 dana na 37°C, može preživjeti i do 75 dana na 4°C. Uzorci tkiva koji sadrže virus mogu se godinama čuvati na -70 °C bez gubitka infektivnosti virusa. Neovisno o temperaturi, virus se lako inaktivira lipidnim otapalima (eter i kloroform) te uobičajenim deterdžentima i dezinficijensima (HOLYOAK i sur., 2008.).



**Slika 5.** Struktura EAV virusa (BALASURIYA, 2014.)

### **Prijenos virusa**

Najvažniji načini prijenosa EVA su respiratornim putem preko akutno inficirane životinje i spolnim putem preko akutno ili kronično inficiranog pastuha (TIMONEY, 2011. b). Iako se virus tijekom akutne faze bolesti izlučuje putem raznih sekreta i ekskreta, u najvećoj koncentraciji je prisutan u respiratornom traktu. Širenje EVA se događa izravnim kontaktom s infektivnim respiratornim sekretom, koji može biti pozitivan na virus 2 do 16 dana od ulaska virusa u organizam. Prijenos virusa spolnim putem je jedini način prijenosa EVA preko perzistentno inficiranih pastuha ili pastuha kliconoša. Otprilike 34% inficiranih pastuha ostaju perzistentni kliconoše i kao takve ih treba izlučiti iz uzgoja (ENGLAND, 2005.). Virus arteritisa konja se može prenositi i preko posteljice inficirane kobile na njezino nerođeno ždrijebe te ovisno o stadiju gravidnosti u kojem dolazi do izlaganja virusu, infekcija može rezultirati pobačajem ili kongenitalnom infekcijom ždrebeta (GOLNIK, 1992.). Infekcija se može prenijeti i putem embriotransfera ukoliko se kobila davateljica osjemeni s inficiranim sjemenom. Dodatni načini širenja uključuju različite infektivne izlučevine, sjeme i tkiva te tekućine pobačenog fetusa ili mladog ždrebeta.

Većina EVA infekcija su subkliničke, no povremeno karakterizirane kombinacijom bolesti sličnih influenci u odraslih konja, pobačaja u gravidnih kobilu i intersticijske pneumonije u mlade ždrebadi (SATUE i GARDON, 2016.).



## **Patogeneza**

EVA vrlo brzo inficira respiratorni epitel umnažajući se u bronhijalnim i alveolarnim makrofagima prije nego što migriraju do regionalnih limfnih čvorova. Unutar 3 dana dolazi do razvoja viremije putem leukocita i virus se distribuira u tkivima i tekućinama po cijelome tijelu. Do otprilike 6. dana, virus se lokalizirao u endotelu i medijalnim miocitima krvnih žila s razvojem karakterističnog vaskulitisa (BALASURIYA, 2014.). Lezije dovode do razvoja edema i krvarenja u raznim tkivima i organima. Postoje dokazi da replikacija EVA u makrofagima i endotelu dovodi do aktivacije i povećane transkripcije gena koji kodiraju proteinske upalne medijatore, a oni igraju značajnu ulogu u patogenezi. Do pobačaja može doći zbog razvoja miometritisa. Smanjenje dotoka krvi u fetus može nastati zbog kompresije krvnih žila endometrija koja nastaje zbog edema ili promjene vaskularnog tonusa djelovanjem upalnih medijatora (TIMONEY, 2011. b). Koncentracije progesterona u serumu se progresivno smanjuju 6 do 48 sati prije pobačaja. Smanjena koncentracija progesterona uz hipoksičnu posteljicu i lokalno otpuštanje prostaglandina može potaknuti odvajanje koriona.

Postoje dokazi da pobačaj nakon eksperimentalne infekcije kobile virulentnim sojem *Bucyrus* može biti rezultat smrtonosne fetalne infekcije, a ne miometritisa i/ili oštećenja posteljice. Tkiva pobačenog fetusa sadrže viši titar virusa od kobila koje su pobacile što pokazuje da se u fetusu događa značajna replikacija virusa. Smatra se da je stres koji je nastao posljedično infekciji odgovoran za aktiviranje fetalne osi hipotalamus-hipofiza što na kraju dovodi do pobačaja (BELL i sur., 2006.).

## **Pobačaji**

Kod gravidnih kobila inficiranih EVA pobačaju ne prethode znakovi bolesti, eventualno se mogu pojaviti kasnije u akutnoj fazi bolesti ili rano u fazi oporavka od infekcije. Stope pobačaja u prirodno inficiranih kobila mogu varirati od 10% do 71% te se najčešće pojavljuju između 3. i 10. mjeseca gravidnosti (DEL PIERO, 2000.; HOLYOAK i sur., 2008.). Bilo da se radi o pobačaju ili kongenitalno inficiranom ždrebetu, posteljica, tekućine posteljice, fetus ili inficirano ždrijebe predstavljaju izvore infekcije za sve nezaštićene životinje u kontaktu. Nema dokaza da virus perzistira kod nezaštićene kobile inficirane putem sjemena.

Uobičajeni scenarij je da nezaštićena kobile dolazi u izravan kontakt s akutno inficiranim konjima, najčešće putem osjemenjivanja inficiranim ejakulatom. Postoje dokazi da kobile koje pobace zbog EVA infekcije nisu plodne sljedećih nekoliko sezona (TIMONEY i McCOLLUM, 2004.).

Kod pobačenih fetusa stupanj autolize najčešće varira te fetusi mogu imati lezije kao što su interlobularni plućni edem, vaskularne lezije posteljice, mozga, jetre i slezene, međutim većina pobačenih fetusa, bila infekcija prirodna ili eksperimentalno inducirana, nema očite teže makroskopske lezije unatoč visokom titru virusa (BELL i sur., 2006.).

Pastusi mogu prolaziti kroz razdoblje privremene neplodnosti povezane sa smanjenim libidom, smanjenom pokretljivošću i koncentracijom spermija te povećanim postotkom morfološki abnormalnih spermija u ejakulatu tijekom infekcije EVA. Navedene promjene mogu trajati 6-7 tjedana nakon eksperimentalno inducirane infekcije (TIMONEY, 2011. b). Uobičajene abnormalnosti spermija uključuju odvojene glave, abnormalnosti glave i proksimalne kapljice, abnormalnosti repa, srednjeg dijela i akrosome. Kvaliteta sjemena je normalna u perzistentno inficiranih pastuha, unatoč visokom titru virusa koji se izlučuje u sjemenu. Koncentracije virusa su najviše u frakciji bogatom spermijima, a ne pre-ejakulatornoj tekućinom. Perzistencija virusa kod pastuha ovisna je o testosteronu te su takvi pastusi odgovorni za generacije gentski heterogenih sojeva EVA (BALASURIYA, 2014.; SATUE i GARDON, 2016.).

### **Dijagnostika**

Kod sumnje na pobačaj uzrokovan virusom arteritisa konja potrebno je pokušati izolirati virus iz niza fetalnih tekućina i tekućina posteljice, posebno fetalnih pluća, jetre i limforetikularnog tkiva (TIMONEY, 2008.). Također, treba uzeti uzorke za histološki i imunohistokemijski pregled. Ako se sumnja na EVA u slučaju smrti ždrebadi ili starijih konja, potrebno je prikupiti tkiva i tekućine te poslati u isti laboratorij gdje su poslani uzorci u slučaju pobačaja. Kod pobačenih fetusa, EVA se može identificirati unutar trofoblastičnog epitela i mezenhima, a ubrzo nakon toga unutar pneumocita, alveolarnih makrofaga, epitela timusa i enterocita (DEL PIERO, 2000.).

Što se tiče zakonske regulative u Republici Hrvatskoj, prema „Programu nadziranja, praćenja prevalencije i proširenosti infekciozne anemije kopitara, virusnog arteritisa konja, leptospiroze i groznice Zapadnog Nila u 2021. godini“, sumnja na virusni arteritis konja se postavlja u slučaju pojave kliničkih znakova (pobačaji, respiratorni znakovi) te u pastuha pretraživanjem ejakulata kod kojih je metodom VN- testa (virus-neutralizacijski test) utvrđen titar protutijela  $\geq 1:4$  (ANONYMUS, 2021.).

„Pravilnik o mjerama kontrole arteritisa konja“ navodi dužnosti ovlaštenog veterinaru u slučaju sumnje na bolest:

*Dužnosti ovlaštenog veterinaru u slučaju sumnje na bolest*

Članak 3.

- 1) U slučaju sumnje na bolest ovlaštenu veterinar mora dostaviti na pretraživanje:
  - a) pobačenu fetus i organe uginule životinje;
  - b) uzorak krvi i bris sluznice oka i nosa sumnjivih životinja;
  - c) najmanje dva ejakulata od serološki pozitivnih pastuha;
  - d) provesti epidemiološko istraživanje;
  - e) narediti neškodljivo uništavanje uginulih životinja.
- 2) U slučaju sumnje na bolest službeni veterinar ili veterinarski inspektor posjedniku životinje naređuje sljedeće mjere:
  - a) zabranu prometa i premještanja kopitara s gospodarstva;
  - b) zabranu pripusta kopitara;
  - c) zabranu izdavanja svjedodžbe;
  - d) provođenje mjera čišćenja i dezinfekcije u objektima za držanje životinja.

**Slika 6.** Dužnosti ovlaštenog veterinaru u slučaju sumnje na virusni arteritis konja (ANONYMUS, 2009.)

Također, prema navedenom pravilniku, bolest je potvrđena u slučaju kada se (ANONYMUS, 2009.):

- u krvi pastuha utvrde specifična protutijela za virus uzročnika bolesti, a u ejakulatu se dokaže prisustvo virusa
- u krvi kobilu utvrde specifična protutijela za virus uzročnika bolesti ili se dokaže prisustvo virusa.

Otkrivanje prisutnosti virusa u ejakulatu pastuha se najčešće provodi putem VN- testa, iako je moguće provoditi i RT-PCR (engl. *real-time polymerase chain reaction*). Skuplja, ali jednako pouzdana metoda je testiranje pastuha na dvije seronegativne kobile i provjera serokonverzije nakon 28 dana (TIMONEY, 2011. b).

## Liječenje i prevencija

Liječenje konja oboljelih od EVA je trenutno ograničeno na kontrolu težine kliničkih simptoma bolesti. Pošto smo naveli da je perzistencija virusa kod pastuha ovisna o testosteronu, uporabom antagonista GnRH ili GnRH imunizacijom (imunokastracija) smanjuje se proizvodnja testosterona, čime se kod nekih pastuha eliminira virus. Nedavna istraživanja su pokazala da je moguće smanjiti, ali ne i u potpunosti eliminirati virus u ejakulatu pastuha inficiranog EVA upotrebom centrifugiranja na gradijentu gustoće i protokola „swim up“ za obradu ejakulata (TIMONEY, 2011. b).

Trenutni programi profilakse su usmjereni na uzgojne populacije s najvećim zdravstvenim posljedicama i ekonomskim učinkom EVA. Trenutno se u preventivi virusnog arteritisa konja koriste dvije vrste cjepiva, atenuirana (MLV) i inaktivirana.

Treba napomenuti da se kliconoštvo kod pastuha ne može riješiti cjepivom (BARBIĆ, 2022.). Brojne države koje dopuštaju promet cijepljenih konja, traže potvrdu o provedenom cijepljenju, posebice za pastuhe i mušku omad kao i potvrdu o negativnom serološkom statusu prije početka programa cijepjenja. Rasplodni pastusi koji su prethodno cijepljeni protiv EVA moraju se godišnje docjepljivati, uz program provedbe cijepjenja ne manje od 3 do 4 tjedna prije prvog opasivanja u sezoni. Rasplodni pastusi koji nisu cijepljeni ili su nepoznatog cijepnog statusa pri prvom cijepljenju moraju biti serološki negativni i u izolaciji najmanje 3 tjedna prije korištenja za rasplod (BARBIĆ, 2022.). Kobile se cijepe svake godine, ne kasnije od 3 tjedna prije pripusta.

U slučaju ergela koje provode umjetno osjemenjivanje, svo otpremljeno sjeme treba biti pregledano na EVA, pogotovo ako je sjeme došlo iz inozemstva (TIMONEY i McCOLLUM, 2004.).

Ako je bolest potvrđena, pastuh u čijem se ejakulatu utvrdi virus mora biti izlučen iz rasploda, a ako je u slučaju kobila kod koje su utvrđeni klinički znakovi bolesti, moraju se provesti dva serološka testiranja u razmaku od najmanje 14 dana. Ako se nakon toga utvrdi titar protutijela i potvrdi bolest, kobili se zabranjuje pripust dok se titar protutijela ne uravnoteži, odnosno smanji (ANONYMUS, 2009.).

Prema „Pravilniku o mjerama kontrole arteritisa konja“ navedene su dužnosti službenog veterinara ili veterinarskog inspektora u slučaju potvrde bolesti:

*Obveze službenog veterinara ili veterinarskog inspektora u slučaju potvrde bolesti*

Članak 5.

1) U slučaju potvrde bolesti arteritisa konja službeni veterinar ili veterinarski inspektor na zaraženom gospodarstvu mora:

- a) Narediti popisivanje i serološko pretraživanje svih kopitara;
- b) Narediti neškodljivo uništavanje pobačenih fetusa i plodnih ovojnica;
- c) Zabraniti pripust pozitivnih pastuha, njihovo evidentiranje kao izlučivača virusa u farmsku knjigu, uzgojnu knjigu ili drugi identifikacijski dokument pastuha i isključivanje iz rasploda;
- d) Zabraniti pripust kobila koje na dan pripusta pokazuju kliničke znakove bolesti ili su ih pokazivale u razdoblju od tri mjeseca prije pripusta;
- e) Ukoliko je pastuh serološki pozitivan, a dokazano je da je cijepljen protiv bolesti, odobriti korištenje životinje za rasplod pod uvjetom da je prije prvog cijepljenja pretražena na bolest sa serološki negativnim rezultatom, što je evidentirano u identifikacijski dokument pastuha;
- f) Odobriti prevoženje zaraženih kopitara s gospodarstva radi klanja;
- g) Narediti čišćenje i dezinfekciju zaraženog gospodarstva.

2) Mjere iz stavka 1. točaka c), d), e) i f) ovoga članka ostaju na snazi 28 dana nakon prestanka posljednjih kliničkih znakova bolesti i provođenja svih mjera te provođenja završnog čišćenja i dezinfekcije.

**Slika 7.** Obveze službenog veterinara ili veterinarskog inspektora u slučaju potvrde virusnog arteritisa konja (ANONYMUS, 2009.)

### **2.4.3. Placentitis**

Placentitis u kobila predstavlja značajnu prijetnju fetalnoj i neonatalnoj održivosti. Zahvaća približno 3-7% gravidnih kobila. Vrijednost ždrebad i ekonomski i emocionalno čini ovu bolest bitnom za istraživanja (LEBLANC, 2010.). Obično ga uzrokuju bakterije koje ascendentno dospiju u vaginu, ali mogu ući i kroz krvotok u maternicu (LYLE, 2009.). Najčešće bakterije koje uzrokuju placentitis su: *Streptococcus equi. subsp.*, *zoepidemicus*, *Escherichia Coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas Aeruginosa* i bakterije roda *Leptospira*. *Aspergillus fumigatus* je najčešća gljivica dijagnosticirana kao uzročnik gljivičnih pobačaja u kobila. Placentitis se najčešće razvija u kobila koje su se više puta oždrijebile i koje

su srednje do starije dobi (MacPHERSON i BAILEY, 2008.). Zaražene kobile često imaju lošu perinealnu konformaciju ili nedostatke te ti uvjeti pogoduju oportunističkim mikroorganizmima da migriraju kroz kaudalni dio reproduktivnog trakta do maternice (MacPHERSON i BAILEY, 2008.).

Iako su bakterije većinom zaslužne za nastanak bolesti, eksperimentalna istraživanja na kobilama poni pasmine pokazala je da se prijevremeni porod može pojaviti sekundarno nakon upale koriona umjesto direktnog djelovanja mikroorganizama. Pretpostavlja se da upalni procesi rezultiraju proizvodnjom PGE2 i PGF2 $\alpha$  koji stimuliraju prijevremene kontrakcije maternice što dovodi do prijevremenog poroda. Povećana proizvodnja prostaglandina i citokina također stimulira sazrijevanje hipotalamus-hipofiza nadbubrežne fetalne osi tako da kod nekih kroničnih slučajeva placentitisa, ždrebac može ubrzano sazrijeti i kao takvo će biti prerano oždrijebljeno, ali će biti dovoljno zrelo za život izvan maternice, iako većina nikad neće postati elitni sportski konji, čak i s najboljom neonatalnom skrbi (SATUE i GARDON, 2016.). Lokalizacija placentitisa u području cervikalne zvijezde (blijedo područje posteljice koje se nalazi nasuprot grlića maternice) prisutna je u 95% slučajeva placentitisa podržavajući činjenicu da bakterije najčešće ascendentno ulaze u vaginu i cerviks (TROEDSSON i MacPHERSON, 2011.). Klinički, kobile mogu imati vaginalni iscjedak, pokazivati znakove početnog razvoja mliječne žlijezde, oždrebiti prerano ili mrtvo ždrijebe. Klinički simptomi se ne pojavljuju kod svake infekcije, ponekad će pobačaj biti jedini znak infekcije.

Značajna iznimka je nokardioformni placentitis uzrokovan aktinomicetama od kojih su većina izolata bili *C. equi*. Najčešće se nokardioformne bakterije unose putem umjetnog osjemenjivanja, a zatim, bilo radi mirovanja ili izuzetno sporog rasta, ne uspijevaju inducirati placentitis sve do kasnog stadija gravidnosti, stoga se pobačaji kod takve infekcije najčešće pojavljuju tijekom 9. i 10. mjeseca gravidnosti. Kod ovakve infekcije, upala koriona se proteže iz kranijalnog dijela ventralnog tijela maternice, obično zahvaća i dno roga maternice s prijanjajućim žutosmeđim do smeđim mukoidnim eksudatom (DONAHUE i WILLIAMS, 2000.). Kobile povremeno pokazuju znakove preranog razvijanja mliječne žlijezde, a vaginalni sekret se rijetko kad pojavljuje.

Kod placentitisa uzrokovanog *S. zooepidemicus*, bakterije preko alantokoriona naseljavaju alantoisnu šupljinu, dobivaju pristup amnionskoj šupljini putem pupkovine i uzrokuju fetalnu infekciju udisanjem ili gutanjem amnionske tekućine pune bakterija. Nastala infekcija i upalna kaskada uzrokuju duže i jače kontrakcije maternice, povećanje koncentracije PGF2 $\alpha$  i PGE2 i povećanu ekspresiju citokina, što dovodi do prijevremenog poroda fetusa (SATUE i GARDON, 2016.).

## Dijagnostika

Transrektalna i transabdominalna ultrazvučna pretraga uz endokrinološke testove su dijagnostičke metode koje se najčešće koriste za dijagnostiku placentitisa, s obzirom da kobile često razvijaju subklinički oblik placentitisa bez pojave kliničkih znakova (TROEDSSON i MacPHERSON, 2011.).

## Ultrazvučna dijagnostika

Transrektalna ultrazvučna pretraga kaudalnog alantokoriona kod kobila u kasnoj gravidnosti daje izvrsnu sliku posteljice u području cervikalne zvijezde. Praćenje promjena u tom području daje naznaku radi li se o subkliničkom ili kliničkom obliku bolesti. Fokus pregleda je na kombinirani spoj maternice i alantokoriona posteljice te je prema tome jedinica nazvana kombinirana debljina maternice i posteljice (engl. *combined thickness of the uterus and placenta*, CTUP) (TROEDSSON i MacPHERSON, 2011.). Za provođenje pretrage koristi se linearna sonda od 5-7,5 MHz koju treba postaviti 3-5 cm kranijalno od cervikalno-placentalnog spoja, a zatim ju pomicati lateralno sve dok glavna krvna žila maternice ne postane vidljiva na ventralnoj strani maternice. Nakon toga, treba izmjeriti CTUP između dominantne krvne žile i alantokorionne tekućine. Utvrđene su normalne vrijednosti za CTUP. Povećanje CTUP-a >8 mm između 271. i 300. dana, >10 mm između 301. i 330. dana i >12 mm nakon 330. dana gravidnosti povezani su sa zatajenjem posteljice i prijetecim pobačajem. Mjere CTUP-a su povećane i tijekom infekcije, upale posteljice ili odvajanja membrana od endometrija. Osim toga, može doći do nakupljanja gnojnog materijala u vrećicama između alantokoriona i maternice, tako da zadebljanje amniona također upućuje na upalu (SATUE i GARDON, 2016.). Tekućine koje progresivno povećavaju svoju ehogenost imaju povećanu celularnost posljedično upali ili infekciji, stoga su kontinuirani ultrazvučni pregledi ključni u utvrđivanju jesu li navedene promjene tekućine patološkog karaktera ili ne (MacPHERSON i BAILEY, 2008.).

Integritet i debljina fetoplacentalnog spoja i sastav plodnih voda na temelju ehogenosti procjenjuju se transabdominalnom ultrazvučnom pretragom (SATUE i GARDON, 2016.). Ovom metodom dijagnostike ne može se prikazati područje cervikalne zvijezde (avaskularne zone koja prekriva maternični grlić) što sprječava mogućnost dijagnostike placentitisa u ranim stadijima, ali zadebljanje posteljice i djelomično odvajanje alantokoriona od endometrija je vrlo dobro vidljivo pogotovo u slučaju placentitisa uzrokovanog hematogenim putem (TROEDSSON i MacPHERSON, 2011.). Najčešće se koristi sektorska sonda frekvencije 3,5 MHz dok linearna sonda frekvencije 5 MHz može biti od koristi kod transabdominalne

procjene posteljice. Ovim oblikom pretrage može se mjeriti CTUP ukoliko fetus nije u bliskoj apoziciji s maternicom. Kod normalnih gravidnosti, minimalna debljina maternice i posteljice trebala bi biti od  $7,1 \pm 1,6$  mm, a maksimalni CTUP bi trebao iznositi  $11,5 \pm 2,4$  mm (MacPHERSON i BAILEY, 2008.). Gravidnosti sa povećanim CTUP-om povezani su najčešće s porođajem slabije razvijene dismaturične ili čak oboljele ždrebadi (*neonatus dysmaturius*).

Transabdominalna procjena fetalnih ovojnica korisna je u utvrđivanju abnormalnosti posteljice u kobilu s hematogeno induciranim ili placentitisom uzrokovanim *Nocardiom sp.*. Kod kobile inficiranih tom bakterijom često dolazi do odvajanja posteljice i nakupljanja gnojnog sekreta na dnu gravidnog roga i spoja sa tijelom maternice.

**Tablica 3.** Fiziološke gornje granice za CTUP tijekom kasne gravidnosti (TROEDSSON i MacPHERSON, 2011.)

PERIOD GRAVIDNOSTI	FIZIOLOŠKI CTUP
151. – 270. dan gravidnosti	< 7 mm
271. – 300. dan gravidnosti	< 8 mm
301. – 330. dan gravidnosti	< 10 mm
331 -	< 12 mm

### Endokrino praćenje stanja posteljice

Posteljica konja sintetizira i metabolizira progesteragen. Ova funkcija je važna za održavanje gravidnosti nakon što endometrijske čašice i sekundarna žuta tijela nestanu oko 160. – 180. dana gravidnosti. Kobile s patološkim procesima na posteljici mogu imati povećane koncentracije progesterona u plazmi posljedično fetalnom stresu. Fetalno – placentalni progesteron se vrlo brzo metabolizira u  $5\alpha$  - pregnane, međutim oni se ne mogu lako mjeriti u komercijalnim uvjetima tako da dijagnoza bolesti posteljice putem mjerenja koncentracije  $5\alpha$  – pregnana nije moguća (SATUE i GARDON, 2016.). Eksperimentalnim induciranjem placentitisa u kobilu, otkriveno je da kod kobilu koje razviju kroničan oblik placentitisa rastu koncentracije progesterona u plazmi, dok kod kobilu koje razviju akutan oblik i kod kojih je vrlo brzo nakon infekcije došlo do pobačaja, koncentracije progesterona vrlo brzo padaju. Preporučeno je uzastopno mjeriti koncentracije progesterona u plazmi kobilu s placentitisom kako bi se na vrijeme otkrilo hoće li kobilu pobaciti. Dijagnostika se može poboljšati kombiniranjem mjerenja zadebljanja posteljice zajedno s mjerenjem koncentracije progesterona u plazmi (LYLE, 2009.; TROEDSSON i MacPHERSON, 2011.).



Koncentracije estrogena su kod gravidnih kobila u serumu povišene između 150. i 310. dana gravidnosti (DOUGLAS, 2004.). Kod kobila koje su pobacile uslijed placentitisa, primijećene su niže koncentracije estrogena, stoga se preporučuje dodatna primjena estradiol ciprionata ili estradiola -17 $\beta$  kako bi se spriječio mogući pobačaj.

Relaksin proizvodi posteljica, a mjerljiv je u plazmi od 80. dana gravidnosti, pa sve do kraja gravidnosti. Kod kobila s placentisom otkrivene su subnormalne koncentracije relaksina u plazmi.

## Liječenje

Empirijsko liječenje bakterijskog placentitisa uključuje progestine za održavanje funkcije maternice, antibiotike širokog spektra za uklanjanje bakterijske infekcije, imunomodulatore za smanjenje proupalnog odgovora i protuupalne lijekove za sprječavanje sinteze prostaglandina (LYLE, 2009.).

Učinkovita terapija placentitisa ne postoji kao takva, iako protokol sa slike 10 može pomoći u nekim slučajevima. Podaci iz istraživanja koje su uključivale ljude i ostale sisavce pokazuju da kombinirane terapije s antibioticima i protuupalnim lijekovima najviše obećavaju u prevenciji prijevremenog porođaja/pobačaja (MacPHERSON, 2005.).

**Tablica 4.** Terapija za placentitis kod kobila u kasnoj gravidnosti (LEBLANC, 2010.)

<b>LIJEK</b>	<b>PREPORUČENA DOZA</b>	<b>MEHANIZAM DJELOVANJA</b>
<b>Trimetoprim sulfa</b>	15-30 mg/kg, PO, q 12 h	Antimikrobno djelovanje
<b>Penicilin G kalij</b>	22000 IU/kg, IV, q 6 h	Antimikrobno djelovanje
<b>Gentamicin</b>	6,6 mg/kg, IV, q 24 h	Antimikrobno djelovanje
<b>Ceftiofur</b>	20 mg/kg, IV ili IM, q 12 h	Antimikrobno djelovanje
<b>Altrenogest</b>	0,088 mg/kg, PO, q 24 h	Tokolitik; sprječava prostaglandinom inducirani pobačaj
<b>Izoksuprin</b>	0,4-0,6 mg/kg, PO, q 24 h	Tokolitik
<b>Klenbuterol</b>	0,8 $\mu$ g/kg, PO/IV, q 12 h	Tokolitik
<b>Fluniksini meglumin</b>	1,1 mg/kg, PO/IV, q 12 ili 24 h	Nesteroidni protuupalni lijek, sprječava prostaglandinom inducirane pobačaje
<b>Fenilbutazon</b>	2,2 mg/kg, PO, q 12 ili 24 h	Nesteroidni protuupalni lijek
<b>Pentoksifilin</b>	8,5 mg/kg, PO, q 12 h	Anti -citokinska aktivnost, sprječava endotoksinima inducirani faktor tumorske nekroze
<b>Acetilsalicilna kiselina</b>	50 mg/kg, PO, q 12 h	Poboljšava protok krvi
<b>Deksametazon</b>	40, 35, 25 mg, q 24 h, IV (primjenjivati kroz 6 dana, svakih 48 h povećavati dozu)	Protuupalno djelovanje; stimulira sazrijevanje fetusa

#### 2.4.4. Leptospiroza

Leptospiroza je bakterijska zoonoza rasprostranjena po cijelome svijetu i uzrokovana spirohetama iz roda *Leptospira* (DI AZEVEDO i LILENBAUM, 2022.). Infekcija *Leptospirama* se u konja očituje kao pobačaj ili rekurentni uveitis, iako su potvrđeni sporadični slučajevi bolesti bubrega i jetre. Nedavna istraživanja pokazuju da je 1,5 - 5,9% pobačaja u konja povezano s leptospirozom (SATUE i GARDON, 2016.).



**Slika 8.** Elektronska mikrografija *Leptospira* (VERMA i sur., 2013.)

#### Etiologija

Leptospire su dugačke, tanke, spiralne, pokretne spirohete koje se boje po Gramu negativno. Red *Spirochaetales* uključuje dvije obitelji spiralnih bakterija, *Spirochaetales* i *Leptospiraceae* koje dijele jedinstvene morfološke i funkcionalne značajke. Leptospire se mogu grupirati u serogrupe, serovare kao i genotipove na temelju homologije DNA. Najvažniji serovari su: *pomona*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *bratislava*, *canicola* i *icterohaemorrhagiae*. Leptospire su proširene u okolišu, dugo preživljavaju u vlažnoj sredini, a njihova održivost u prirodi usko je povezana s trajnim ili vremenski ograničenim naseljavanjem proksimalnih bubrežnih kanalića, ponajprije glodavaca (MILAS i sur., 2013.), koji služe kao rezervoari infekcije te cijeli život putem mokraće izlučuju bakteriju u okoliš (TURK i sur., 2013.). S obzirom na međudnos s leptospirama, životinje primljive za infekciju dijele se u tri skupine: slučajni domaćini, evolucijski domaćini i rezervoari. Slučajni domaćini su životinje koje nakon infekcije najčešće očituju kliničke znakove bolesti, a ako prebole infekciju, izlučuju uzročnika urinom kraće vrijeme. Evolucijski domaćini su životinjske vrste u kojih je došlo do međusobne prilagodbe domaćina i određenoga serovara *Leptospira*, pa je infekcija najčešće latentna ili dolazi do blagoga oblika bolesti. Konji su evolucijski domaćini serovara *Bratislava* (MILAS i sur., 2013.). Za većinu serovara *Leptospira*, konji predstavljaju slučajne domaćine te bakterije mogu prodrijeti u njihove sluznice i/ili oštećenu kožu i migrirati u razne dijelove organizma (SATUE i GARDON, 2016.).

Jednom inficiran, konj može služiti kao izvor infekcije za druge konje do 14 tjedana nakon infekcij. Mnogo je serovara povezano sa pobačajima kod konja, ali jedan od najčešćih je serovar tipa *Pomona kennewick* (LYLE, 2009.; VERMA i sur., 2013.).

Konji su najčešće izravno ili neizravno izloženi okolišu kontaminiranom od strane glodavaca, s obzirom da konji žive u različitim okruženjima, uključujući pašnjake i staju i dijele te biotope s glodavcima. Tijekom zime, konji se hrane sijenom i zobi koji su neizbježno kontaminirani urinom glodavaca (TURK i sur., 2013.).

### **Patogeneza**

Nakon ulaska bakterije kroz sluznice (konjunktive, nazofarinks, spolni sustav) i višednevne inkubacije, dolazi do subkliničke bakterijemije koja traje 2-7 dana. Leptospiremija, koja uzrokuje vaskulitis, prethodi infekciji reproduktivnih organa koja kod gravidnih kobila može dovesti do resorpcije fetusa, pobačaja, mrtvorodenja ili porođaja slabe novorođenčadi (SANTCHI i VAALA, 2011.).

Sličnosti kliničkog oblika bolesti konja s ostalim domaćim životinjama uključuju bakterijemiju, lokalizaciju bakterije u bubrezima, pobačaj i sekreciju izlučevina iz maternice. Međutim, kod konja izostaje lokalizacija u mliječnoj žlijezdi uz agalaksiju, neplodnost i lokalizacija i perzistencija bakterije u pastuha (LYLE, 2009.).

### **Pobačaji**

Većina pobačaja uzrokovanih *Leptospirum* se pojavljuju između 6. i 9. mjeseca gravidnosti (VERMA i sur., 2013.). Zahvaćena posteljica je zadebljana, edematozna, hemoragična i može biti prekrivena smeđim mukoidnim naslagama na korionskoj površini. U nekim slučajevima zelena diskoloracija ili cistična adenomatozna hiperplazija alantoisa može biti vidljiva, a opisana je i upala pupkovine (HINES, 2014.; SATUE i GARDON, 2016.). Fetalna jetra je povećana, blijede do žute boje, bubreg je edematozan, prekriven blijedobijelim prugama po korteksu i meduli. Mikroskopske promjene su najčešće vidljive na posteljici, jetri i bubrezima, a spirohete se mogu naći u stromi i resicama alantokoriona te bubrežnim tubulima bojanjem po Warthin-Starryu (bojanje srebrom). Patohistološke lezije fetusa uključuju različite stupnjeve nefritisa i hepatitisa (LYLE, 2009.; SATUE i GARDON, 2016.). Kliničkoj manifestaciji bakterijskog pobačaja prethodi vaginalni iscjedak i prijevremena laktacija. Kobile koje pokazuju kliničke znakove treba smatrati visokorizičnima te provesti detaljnu fetoplacentalnu procjenu.

## Dijagnostika

Referentna metoda za dijagnostiku leptospiroze u konja je mikroskopska aglutinacija (MAT) seruma kobile koja je pobacila ili fetalnih tekućina. Osim te metode može se provoditi i dokazivanje *Leptospira* iz posteljice ili fetusa testom fluorescentnih antitijela (FAT), bojanje srebrom ili mikroskopska pretraga na tamnom polju (LYLE, 2009.). PCR metoda također pruža prikladnu alternativu u mnogim slučajevima s opisanim setovima početnica koji mogu razlikovati spirohete na razini roda ili su specifični za patogene *Leptospira sp.* (VERMA i sur., 2013.).

Prema „Pravilniku o mjerama za suzbijanje i iskorijenjivanje leptospiroze životinja“ sumnja na leptospirozu i moguće rekonvalescentno kliconoštvo postavlja se u životinje sa ili bez kliničkih znakova, u koje se serološkom pretragom krvi reakcijom mikroskopske aglutinacije za bilo koji serovar *Leptospira spp.* utvrdi titar protutijela, u slučaju kopitara, 1:400 i viši, osim za serovare *Bratislava* i *Australis* 1:200 i viši (ANONYMUS, 2011.).

Slučaj leptospiroze u životinja potvrđen je u slučaju kliničkih znakova bolesti, kada je serološkom pretragom krvi reakcijom mikroskopske aglutinacije principom parnih seruma, u razmaku sedam dana, utvrđen četverostruki i viši porast titra protutijela u drugom serumu, ili ukoliko nema kliničkih znakova bolesti, kada je jednokratnom serološkom pretragom utvrđen titar protutijela u kopitara 1:800 ili viši ili je uzročnik leptospiroze dokazan iz krvi, mokraće, organa životinje ili pobačenog fetusa (ANONYMUS, 2011.).

U slučaju serološki pozitivnog nalaza na leptospirozu iz članka 3. stavka 1. ovoga Pravilnika, nadležni veterinarski inspektor mora odrediti provedbu sljedećih mjera:

- (a) izdvajanje sumnjive od zdravih životinja,
- (b) liječenje sumnjive životinje odgovarajućim antimikrobnim pripravkom,
- (c) kontrolu učinkovitosti liječenja dvokratnim serološkim pretraživanjem krvi, prvi put 21. dan po provedenom liječenju životinje, a drugi put 21. dan nakon prve kontrole,
- (d) serološko pretraživanje krvi životinja prijemljivih na leptospirozu u istom objektu,
- (e) dezinfekciju i deratizaciju na gospodarstvu uz obvezno odstranjivanje otpadnih voda, sanaciju kanalizacije, oštećenih podova i drenažnog sustava,
- (f) kontrolu sustava za napajanje na gospodarstvu.

(2) U slučaju kada se u prethodno liječene životinje utvrdi istovjetni ili niži titar protutijela, bez obzira na serovar leptospira, od titra utvrđenog prethodne godine, a životinja je bila liječena i dvokratno serološki pretražena nakon liječenja, nadležni veterinarski inspektor mora odrediti uzorkovanje i pretragu parnog seruma u svrhu utvrđivanja reinfekcije. U slučaju kada u parnom serumu nema porasta titra protutijela isti se smatra rezidualnim i ne provode se mjere iz stavka 1. ovog članka.

**Slika 9.** Mjere koje određuje nadležni veterinarski inspektor u slučaju potvrde leptospiroze (ANONYMUS, 2011.)

## Liječenje

Budući da je pobačaj često prvi klinički znak infekcije, antibiotska terapija se ne koristi često. Najčešći preporučeni antibiotici su penicilin (10000-15000 IU/kg i/m, 12h), oksitetraciklin (5-10 mg/kg) i streptomycin (10 mg/kg i/m, 12h) (LYLE, 2009.). Liječenje antibioticima učinkovito je ako se primijeni u početnom stadiju bolesti, a uz njega se primjenjuje i simptomatsko i potporno liječenje. Opća profilaksa leptospiroze provodi se sprječavanjem kontakta životinja i ljudi s izvorima infekcije, a uključuje izdvajanje životinja kliconoša i suzbijanje kliconoštva liječenjem inficiranih životinja prikladnim antibioticima. Provođenje mjera opće profilakse složeno je zbog nemogućnosti potpunoga nadzora glavnih rezervoara bolesti, glodavaca, posebice u prirodi te subklinički inficiranih domaćih životinja koje također izlučuju leptospire mokraćom. Premda je veoma teško suzbijati bolesti prirodnoga žarišta, isušivanjem tla skraćuje se vrijeme preživljavanja *Leptospira* u okolišu, a kontrolom brojnosti populacije glodavaca smanjuje rizik od infekcije drugih životinja i ljudi (MILAS i sur., 2013.).

Prvo licencirano cjepivo za leptospirozu konja odobreno je 2015. godine. Radi se o inaktiviranom cjepivu koje sadrži cijelog uzročnika. Primovakciniraju se konji u dobi od 6 mjeseci s dvije doze u razmaku od 3-4 tjedna. Docjepljivanje se vrši svakih 12 mjeseci (BARBIĆ, 2022.). Cjepivo je sigurno za primjenu kod gravidnih kobila u drugom tromjesečju gravidnosti.

## 2.5. Nezarazni pobačaji

### 2.5.1. Blizanačka gravidnost

U uzgoju konja blizanci su nepoželjna pojava jer je rađanje zdravih blizanca prava rijetkost čija vjerojatnost iznosi 1:10000. Incidencija multiplih ovulacija u kobila je otprilike 20% (ENGLAND, 2005. b). Pravodobno otkrivanje i redukcija blizanaca u gravidnih kobila važno je iz reproduktivnih i ekonomskih razloga, budući da se blizanačka gravidnost smatra najčešćim uzrokom nezaraznih pobačaja (od 10 do 30%), embrionalne smrtnosti ili pak rezultira rađanjem avitalne i deformirane ždrebadi (GETZ i sur., 2011.).

Blizanačka gravidnost ima visoki stupanj ponovljivosti i nasljednosti (McKINNON, 2011.). Stopa pojave blizanačke gravidnosti ovisi o pasmini konja te što je pastuh plodniji veće su šanse da će kobila biti gravidna sa blizancima. Većina blizanačkih gravidnosti završava s ranom fetalnom resorpcijom ili gubitkom ploda, pobačajima u kasnijem stadiju gravidnosti ili

rođenjem male ždrebadi usporenog rasta (McKINNON, 2011.). Ako je ždrebada oždriježljena živa, često je mala, pokazuje posljedice intrauterinog zastoja u rastu i ima lošu stopu preživljavanja, a mnogima je potrebna skupa i sofisticirana njega. Kobile koje pobace blizance u kasnijem stadiju gravidnosti često imaju poteškoća sa ždriježljenjem, oštećenja reproduktivnog trakta i teško ih je ponovno oploditi.

Porijeklo blizanaca gotovo je isključivo dvojajčano (SATUE i GARDON, 2016.). Dizigotni blizanci potječu od dvije odvojene oplodene jajne stanice s dva različita spermatozoida, a monozigotni se odnose na blizance koji su nastali iz jedne oplodene jajne stanice (McKINNON, 2011.). Zabilježena je velika povezanost između pojavnosti blizanaca i pasmine, dobi i reproduktivnog statusa kobile, godišnjeg doba i lijekova primijenjivanih u svrhu kontrole ovulacije (SATUE i GARDON, 2016.). Blizanci su češći kod engleskih punokrvnjaka i kasača nego kod konja Quarter pasmine, ponija i arapskih konja. Istraživanja su pokazala je da je višestruka ovulacija češća kod starijih kobila (18% kod kobila u dobi  $\geq 6$  godina) nego kod mlađih kobila (14% kod kobila u dobi  $\leq 5$  godina) (MARI i sur., 2004.). U prvom postporođajnom estrusu očekuje se manje višestrukih ovulacija u usporedbi s drugim ciklusima. Najveći broj blizanačkih gravidnosti bilježi se kod jalovih kobila, zatim kod kobila koje se nisu oždriježile (engl. *maiden mares*) i na kraju kod kobila u laktaciji (McKINNON, 2011.). Također, višestruke ovulacije se često otkrivaju kod indukcije ovulacije, nakon primjene deslorelin acetata ili hCG-a (PERKINS i GRIMMETT, 2001.; SATUE i GARDON, 2016.).

Postoji veća vjerojatnost za pojavu blizanačke gravidnosti ako su ovulacije bile obostrane naspram jednostranih, a sličan učinak je bio zabilježen kod oporavka zametaka (WOLFSDORF, 2021.). Mehanizam koji vjerojatno objašnjava smanjenu pojavnost blizanaca kod jednostranih ovulacija je povezan s nepravilnim hvatanjem oocita od strane fimbrija kod prisutnosti više velikih folikula na jednom jajniku (McKINNON, 2011.).

Nesposobnost kobile da uspješno oždrijebi blizance je uzrokovana nedostatkom posteljice. Kod blizanačkih gravidnosti, obično se jedan od blizanaca razvija puno brže od drugoga, postupno preuzima glavnu majčine opskrbe krvlju i time uzrokuje smrt drugog fetusa zbog nedostatka krvi i hranjivih tvari, odnosno, stvara se nedovoljno fetalnih membrana za smještaj i prehranu dva fetusa u razvoju (SATUE i GARDON, 2016.). Stoga, smrt jednog fetusa rezultira smrću oba.

Pobačaji zbog blizanačke gravidnosti se najčešće javljaju između 5. i 9. mjeseca gravidnosti (McKINNON, 2011.). U nekim slučajevima, jedan od blizanaca ugine i bude mumificiran, dopuštajući drugome da se nastavi razvijati. U slučaju resorpcije, do redukcije dolazi uslijed kompetitivne apsorpcije hranjivih tvari povezanom s veličinom i položajem zametaka tijekom rane gravidnosti, a kasnije s orijentacijom fetusa (MARI i sur., 2004.). Laktacija se obično javlja nakon što jedno ždrijebe ugine i potakne preuranjeni razvoj mliječne žlijezde (WOLFSDORF, 2021.).

### **Dijagnostika**

Dijagnostika blizanačke gravidnosti prije fiksacije zametaka je teška i ovisi o kliničkom iskustvu, rezoluciji i jačini opreme (5 MHz), jačini monitora i ostalom (GETZ i sur., 2011.). Inicijalni UZV pregled treba napraviti 14. ili 15. dan gravidnosti jer u tom razdoblju zametak slobodno migrira po lumenu maternice, pa je veća mogućnost uspješnog uklanjanja jednog zametka jer je stijenka maternice tanka i potreban je minimalan pritisak ruke ili sonde da se zgnječi zametni mjehurić, a stopa preživljavanja opstajućeg zametaka iznosi  $\pm 90\%$  (MARI i sur., 2004.; ENGLAND, 2005. b). Diferencijalno dijagnostički treba misliti i na endometrijske ciste (GETZ i sur., 2011.), stoga je uputno kobilu pregledati prije pripusta ili umjetnog osjemenjivanja i točno utvrditi pojavnost, lokalizaciju i veličinu endometrijskih cista. Prepoznavanje jednostrano fiksiranih blizanaca od 17. do 21. dana gravidnosti može biti najteže vrijeme za dijagnostiku. Jedino što je vidljivo UZV pregledom je tanka linija koja se proteže okomito otprilike u sredini nečega što izgleda kao prevelika vezikula (McKINNON, 2011.). Od 22. do 60. dana gravidnosti prisutnost višestrukih fetusa, pupkovine i opći višak u broju vidljivih membrana trebali bi navoditi kliničara na vjerojatnost blizanačkog gravidnosti. Nakon 30. dana, spoj između dva fetusa u razvoju rezultira ultrazvučno vidljivom zajedničkom membranom koja predstavlja područje apozicije između dva alantokoriona i kao takva naziva se „blizanačka membrana“ (engl. *twin membrane*) (MacPHERSON i REIMER, 2000.).



**Slika 10.** Blizanačka membrana (McKINNON, 2011.)

Nakon 100. dana gravidnosti potrebna je pažljiva transabdominalna ultrazvučna pretraga kako bi se dijagnosticirao blizanački gravidnost.

Ishod gravidnosti nakon fiksacije blizanaca ovisi o njihovoj veličini i prirodi njihove fiksacije. Oko 70% blizanaca se fiksira jednostrano te u takvim slučajevima dolazi do vrlo velike učestalosti (otprilike 85%) spontane redukcije prije 40. dana gravidnosti. Oko 30% blizanaca se fiksira bilateralno te se spontana redukcija prije 40. dana gravidnosti u takvom slučaju događa rijetko jer fetusi još nisu u kontaktu jedan s drugim i ne ometaju unos hranjivih tvari jedan drugome (STOUT, 2009.). Vrlo brzo nakon 42. dana, kada fetusi dođu u međusobni kontakt, najčešće dolazi do gubitka oba fetusa ili do gubitka dođe u periodu od 8. do 11. mjeseca gravidnosti. Komplikacije koje mogu nastati kod pobačaja blizanaca u kasnoj gravidnosti ili porođaja blizanaca uključuju distociju, zaostajanje posteljice, odgođenu involuciju maternice, metritis te uginuće jednog ili oba ploda (MOREHEAD i sur., 2001.).

### **Metode redukcije blizanaca**

Blizanačka gravidnost najlakše se rješava u fazi dok još nije došlo do fiksacije zametaka, tako da se pod kontrolom ultrazvuka mehanički zggnječi jedan od blizanaca ili ga se gurne prema vrhu roga gdje nema uvjeta za fiksaciju. Nakon fiksacije, gnječenje jednog od blizanaca je otežano, osobito ako su fiksirani u istom materničnom rogu (GETZ i sur., 2011.).

Najbolji pristup redukcije nakon fiksacije zametaka ovisan je o kombinaciji optimalnog trenutka dijagnostike te veličini i raspodjeli zametnih mjehurića. U razdoblju između fiksacije



i formiranja posteljice (45. dan) pristup blizanačkoj gravidnosti može se podijeliti u tri kategorije (MacPHERSON i REIMER, 2000.):

### 1. Bilateralni blizanci

Budući da se spontana redukcija neće dogoditi prije 40. dana gravidnosti, a najvjerojatnije će uključivati gubitak oba ploda, treba intervenirati čim prije nakon donošenja dijagnoze. Ukoliko blizance nije moguće reducirati manuelnim gnječenjem, pristupa se transvaginalnoj ultrazvučnoj aspiraciji koju se preporuča provesti do 30. dana gravidnosti (MacPHERSON i REIMER, 2000.). Transvaginalna ultrazvučna aspiracija provodi se pomoću ultrazvučnog aparata sa sektorskom sondom od 5 i 7,5 MHz, aspiracijske pumpe i sustava za uvođenje igle za aspiraciju. Nakon sedacije kobile, sustav za uvođenje aspiracijske igle u kojemu je također smještena i sonda ultrazvuka, uvodi se u vaginu i vrh sonde fiksira kraniodorzalno s lijeve ili desne strane vanjske osi cerviksa. S pomoću druge ruke kirurg *per rectum* fiksira rog maternice na vrh sonde te se tako zametak s plodovom vodom može jasno vidjeti na ekranu i pod kontrolom ultrazvuka aspirirati plodove vode jednoga zametka (GETZ i sur., 2011.).

### 2. Unilateralni blizanci različite veličine

Konzervativni pristup uključuje redovito praćenje sve dok jedan zametak ne nestane ili pokaže znakove oštećenja, jer će vrlo vjerojatno doći do spontane redukcije prije formiranja endometrijskih čašica. Intervencija se uzima u obzir u slučaju da se gravidnost približava 35. danu, a još uvijek nema znakova nadolazećeg uginuća jednog zametka.

### 3. Unilateralni blizanci jednake veličine

Iako postoje izvješća o uspješnom manualnom gnječenju između 17. i 20. dana gravidnosti dok su zametci sferičnog oblika i mogu se odvojiti (MARI i sur., 2004.), takav postupak je težak kada dva zametka imaju jednu, zajedničku membranu jer će rezultat postupka biti gubitak oba zametka i stoga se ne preporučuje. Slično navedenom, ako su zametci stari 20-29 dana, također postoji visoki rizik od gubitka oba. Trenutan pristup u ovakvom slučaju je pratiti razvoj zametaka do 30. dana gravidnosti i intervenirati ako nema razlike u njihovoj veličini ili održivosti. U ranom stadiju gravidnosti kobile, poželjno je prekinuti gravidnost sustavnim primjenom analoga PGF2 $\alpha$ . Ako je kobila blizu 35. dana gravidnosti preporuča se

provesti manualno gnječenje zametaka i lavažu maternice ili transvaginalnu ultrazvučnu aspiraciju (STOUT, 2009.).

Druge metode koje se primjenjuju u svrhu uklanjanja jednoga od zametaka su: energetska dijeta kobile, transabdominalna intrakardijalna aplikacija KCl (kalijev klorid) u srce jednog od plodova te, u kasnijim fazama gravidnosti (nakon 100. dana), ultrazvučna transabdominalna aspiracija jednoga od blizanaca (MacPHERSON i REIMER, 2000.; GETZ i sur., 2011.).

Niti jedna se od navedenih metoda nije pokazala uspješnijom od transvaginalne ultrazvučne aspiracije. Kako bi poboljšali ovu metodu, treba pažnju usmjeriti na određivanje optimalnog vremena za izvođenje postupka u unilateralnih i bilateralnih blizanaca i razvijanje minimalno invazivnog pristupa koji uzrokuje najmanje nepoželjnih posljedica u maternici nakon zahvata (MacPHERSON i REIMER, 2000.).

### **2.5.2. Otrovanje vlasuljom**

Otrovanje vlasuljom u konja uzrokovano je endofitnom gljivičnom infekcijom visoke vlasulje (*Festuca arundinacea*). Visoka vlasulja je trava u hladnoj sezoni sa brzim rastom u proljeće i jesen. Vlasulja ima izvrstan nutritivni profil s obzirom na sirove bjelančevine, probavljivu suhu tvar i minerale. Visoke vlasulje koje nemaju endofita (E-), ne mogu se inficirati biljkom koja sadrži endofite (E+), međutim E+ biljke mogu cvjetati više od E- biljaka i time zauzeti cijeli pašnjak (BLODGETT, 2001.). E+ visoke vlasulje puno su otpornije od višegodišnjih trava te su sposobne izdržati ekstremne suše i poplave, vrućine i hladnoće, napade insekata i ekstremne sastave i pH tla. Produžena gravidnost, agalaksija, smrtnost ždrebadi i kobila, zadržavanje i žilave posteljice, slaba i nezrela ždrebada te smanjene razine prolaktina i progesterona u serumu povezani su s hranidbom E+ biljkama (CROSS, 2011.). Rana istraživanja su pokazala relativnu incidenciju produžene gravidnosti (38%), pobačaja (18%) i zadržavanja posteljice (9%) u kobila s otrovanjem visokom vlasuljom (BLODGETT, 2001.).

Otrovanje navedenom biljkom je rezultat otrovanja endofitnom gljivicom *Neotyphodium coenophialum* (ranije zvana *Acremonium coenophialum*) koja živi unutar biljke, između stanica i proizvodi ergot alkaloidne (BLODGETT, 2001.). Ergot alkaloidi su karakterizirani indolskom skupinom koja je komponenta tetracikličkog prstena poznatog kao ergolinski prsten. Ergot alkaloidi pokazuju visoki afinitet za  $\alpha$ -adrenoreceptore, D2 dopaminske receptore i nekoliko podtipova 5-HT receptora (serotonin receptori) (CROSS, 2009.). Razni alkaloidi mogu djelovati poput agonista ili antagonista različitih receptora,

ovisno o receptoru i alkaloidu. Pokazalo se da ergolin aktivira 5-HT<sub>2A</sub> receptore i potiče kontrakciju krvnih žila, stoga je protok u vaskularnim slojevima smanjen.

Ergotizam je klinički sindrom trovanja uzrokovan gljivicom *Claviceps purpurea*. To je saprofitna gljivica koja inficira žitarice koristeći hranjive tvari biljke. Ona može živjeti na raznim pašnjacima i sijenima uključujući plavu travu, ječam i raž (BLODGETT, 2001.). Dokazano je da tri klase alkaloida, uključujući ergovalin, lolin i peramin, proizvode gljivice i imaju potencijalnu ulogu u utjecaju na performanse životinje (SCHULTZ i BUSH, 2002.).



**Slika 11.** *Claviceps purpurea* na ječmu (GUPTA i sur., 2018.)

### **Produljenje gravidnosti kod kobila**

Kada su kobile konzumirale E+ vlasulju, gravidnost im se produžila za 27 dana. Kod tih kobila često se opaža teška distocija koja je rezultat neadekvatne pripreme reproduktivnog trakta za ždrijebljenje, produljene gravidnosti i malformacije fetusa. Zbog produžene gravidnosti, ždrebac obično ima veće skeletne okvire od fizioloških, time povećavajući poteškoće izlaska fetusa kroz nepripremljeni trakt te se često okreće za 90 - 180° od normalnog položaja za porod (CROSS, 2011.; GUPTA i sur., 2018.). U nekim slučajevima, neadekvatna priprema za porod nakon konzumacije E+ vlasulja može dovesti do smrti kobile i ždrebeta.

## **Agalaksija u gravidnih kobilu**

Trovanje vlasuljom i laktogeneza usko su povezani s djelovanjem ergot alkaloida na laktogene hormone. Konji se za stimulaciju laktogeneze oslanjaju na prolaktin. Ergopeptinski alkaloidi su agonisti dopaminskih D2 receptora, a s obzirom da dopamin uzrokuje inhibiciju prolaktina, glavni je čimbenik u patogenezi izostanka proizvodnje mlijeka (agalaksije) i smanjenog razvoja mliječne žlijezde u kobilu (EVANS i sur., 2012.).

Konji, za razliku od preživača, nemaju predželuce pa samim tim niti mogućnost predželučanog metabolizma alkaloida i podložni su apsorpciji veće količine alkaloida iz E+ visoke vlasulje. Mlijeko agalaktičnih kobilu izgleda kao masna tekućina smeđe boje ili boje slame, ima malu hranjivu vrijednost, a ždrebac uvijek uginu ako se dodatno ne hrani putem bočice. Također, u takvoj tekućini nema imunoglobulina potrebnih ždrebetu za razvoj i zaštitu, stoga kod takve ždrebači postoji visoki rizik od septikemije (CROSS, 2009.).

Nedostatak prolaktina u kasnom stadiju gravidnosti uz smanjenu proizvodnju progesterona i višim ili nižim koncentracijama estrogena može uzrokovati probleme kod kobile i/ili ždrebeta (BLODGETT, 2001.; EVANS i sur., 2012.).

## **Promjene na posteljici uzrokovane trovanjem**

Posteljica kobile koja je konzumirala E+ visoku vlasulju je zadebljana, crvenkaste boje i teža, s povećanom stopom retencije. Sadržaj DNA, RNA i kolagena je veći u posteljicama takvih kobilu (CROSS, 2011.). Ždrijebe je često prikazano normalno, ali je zatvoreno u čvrstom i zadebljanom alantokorionu kojeg ne može probiti, posljedično tome ždrijebe se guši osim ako nije prisutna osoba koja može prerezati alantokorion. Tijekom posljednjeg tromjesečja gravidnosti, kod kobilu koje pasu E+ vlasulju, uobičajeno je odvajanje posteljice koju nazivamo porod u košuljici (engl. *red bag delivery*). Kod takvih kobilu često dolazi do preranog razvijanja vimena i curenja mlijeka, što je jedini simptom koji može uputiti na odvajanje posteljice, iako se u nekim slučajevima, ultrazvučnom pretragom u području kaudalno od cervikalne zvijezde može vidjeti odvajanje posteljice (CROSS, 2011.). Zbog izloženosti posteljice toksinima, dolazi do abnormalne proizvodnje progesterona.

## **Pobačaji i plodnost**

Pobačaji kod kobilu pojavljuju se vrlo brzo nakon odvajanja posteljice od endometrija. Do pobačaja dolazi unutar zadnjih 6 mjeseci gravidnosti, iako se najčešće pojavljuju zadnjih 45 dana gravidnosti (CROSS, 2011.) Kobile koje su pasle na E+ pašnjacima imale su produžene lutealne funkcije, smanjene stope gravidnosti po ciklusu i povećane stope rane

embrionalne smrtnosti. Prisutnost crvene vreće i mrtvorođenja ždrebadi najčešće su prijavljivani od strane veterinara u ovakvim slučajevima (CROSS, 2009.).

Plodnost kod kobila koje pasu na E+ pašnjacima ostaje očuvana a jedini problem predstavlja ispaša u zadnjoj trećini ždrebnosti kada se i javlja ranije opisana patologija (GUPTA i sur., 2018.).

### **Prevenција i liječenje**

Mnogi konji pokazuju većinu znakova otrovanja već nakon konzumiranja malih količina vlasulje u sijenu ili ako pasu male količine ispod ograda, stoga kako bi se spriječilo otrovanje, potrebno je u potpunosti eliminirati visoku vlasulju sa pašnjaka. Iskustvo je pokazalo da ako pašnjaci nisu u potpunosti lišeni biljaka i održivog sjemena, E+ biljke postaju značajan problem do 3 godine nakon sadnje pašnjaka (CROSS, 2009.). Najbolji uspjeh eliminacije je postignut korištenjem kemijskog uništavanja vlasulja nakon čega slijede usjevi s gustom krošnjom prisutni do 2 godine prije ponovnog obnavljanja pašnjaka (FRIBOURG i MILNE, 2009.).

Konji su selektivni kad je u pitanju ispaša i odabrat će mnoge alternativne vrste krme prije nego što konzumiraju E+ visoke vlasulje. Loši uvjeti ispaše ili nedostatak dostupnosti alternativnog krmiva dovesti će do konzumacije E+ vlasulja i klasičnih simptoma otrovanja (CROSS, 2009.). Ova činjenica djelomično objašnjava zašto se čini da neki vlasnici imaju malo ili nemaju uopće slučajeva otrovanja vlasuljom, dok drugi vlasnici imaju rutinski slučajeve otrovanja (CROSS, 2011.).

Postoje dokazi koji sugeriraju da je djelovanje E+ vlasulja smanjeno ukoliko se kobile povuku sa pašnjaka najmanje 30-40 dana prije očekivanog termina poroda (CROSS, 2011.). Međutim, veliki broj veterinara predlaže da se kobile povuku i do 90 dana od očekivanog termina poroda.

Problem predstavlja i hranidba sijenom koje sadrži navedene biljke. Amonijak u sijenu degradira sadržaj ergovalina i čini ga sigurnim za konzumaciju (THOMPSON i sur., 2001.). Proces zahtijeva zatvaranje sijena u nepropusnu strukturu šatora i pumpanje bezvodnog plina amonijaka u šator kroz određeno vrijeme. Iako je navedeni proces vrlo učinkovit, vremenski je intenzivan i skup te općenito nije najbolje prihvaćen (BLODGETT, 2007.).

Kod liječenja otrovanja, jedan od najučinkovitijih oblika terapije je korištenje antagonista D2 dopaminskih receptora, specifičnije, Domperidona (2x dnevno u dozi od 1,1 mg/kg tjelesne težine) čija je primjena rezultirala povećanjem razine serumskog prolaktina i progesterona i dovela do gotovo potpunog oporavka oboljele kobile bez neuroleptičkih nuspojava (CROSS, 2011.).

### **2.5.3. Sindrom reproduktivnog gubitka kobilica („*Mare reproductive loss syndrome*“)**

Tijekom proljeća 2001. godine, u Kentuckyu (USA) u uzgojima konja došlo je do pojave velikog broja RES, pobačaja tijekom kasnih stadija gravidnosti, mrtvorodjenja i neonatalnih smrti ždrebad. U manjem broju došlo je do pojave fibrinoznog perikarditisa i unilateralnog uveitisa. Niti jednoj od navedenih bolesti nije dijagnosticiran uzrok te je pojava istih danas poznata kao sindrom reproduktivnog gubitka kobilica (engl. *Mare reproductive loss syndrome*, MRLS) koji uzrokuje velike financijske i emocionalne gubitke u vlasnika konja (SEBASTIAN i sur., 2008.; LEBLANC i sur., 2003.). Na pojedinim farmama stopa pojave RES bila je 60% u usporedbi s očekivanim „normalnim“ stopama od 3-5% (POWELL, 2011.).

Prvi puta je sindrom otkriven 2001. godine tijekom rutinskih ultrazvučnih pregleda spola fetusa kada je utvrđen veliki broj avitalnih fetusa s izostankom otkucaja srca te prisutnošću zamućenog sadržaja u alantoisnoj i amnijskoj tekućini. Slučajevi su dijagnosticirani kao RES. Kobile uglavnom nisu pokazivale kliničke simptome, pojedine su imale prisutan serosangvinozni ili gnojni iscjedak iz vagine, blage znakove kolika i abdominalnog naprežanja, a neke su imale subnormalne razine tjelesne temperature 1-3 dana prije pojave RES (SEBASTIAN i sur., 2008.; POWELL, 2011.).

Na temelju patoloških nalaza slučajeva MRLS nije moguće uvijek dijagnosticirati uzrok, iako se brojna patološka stanja mogu isključiti kao mogući uzroci. Najčešći nalazi kod fetusa su upala pupkovine, pneumonija, bakterijske infekcije i krvarenja. Smatra se da su bakterijske infekcije zaslužne za nastanak većine patoloških lezija iako se ne može utvrditi jesu li one primarni uzrok pobačaja ili predstavljaju sekundarnu oportunističku infekciju (SATUE i GARDON, 2016.).

Većina slučajeva RES pojavljivala se između 40. i 80. dana gravidnosti uz nekoliko slučajeva pojave RES do 140. dana gravidnosti. Mikroskopskim pregledom biopsije tkiva maternice dokazana je prisutnost umjerene do teške upale u kojoj su dominirale stanice neutrofila i mononuklearne stanice (SEBASTIAN i sur., 2008.). Većina fetusa koji su

dostavljeni na patološki pregled bili su umjereno do izrazito autolizirani te je patohistološki pregled posteljice pokazao neutrofilnu infiltraciju istih. Glavni nalaz kod slučajeva RES bio je bakterijski placentitis te su najčešće izolirane bakterije bile *Streptococcus spp.* i *Actinobacillus spp.* (SEBASTIAN i sur., 2008.).

Što se tiče kasnih fetalnih gubitaka, fetusi su najčešće pobačeni između 10. mjeseca gravidnosti i očekivanog termina poroda. Fiziološke su veličine i težine s obzirom na gestacijsku dob. Karakteristične patohistološke promjene uključuju funizitis, placentitis i perinatalnu upalu pluća. U alveolama su prisutne bakterijske kolonije (*Streptococcus spp.* i *Actinobacillus spp.*), sa ili bez upalnog odgovora, te slobodne skvamozne epitelne stanice. Funizitis predstavlja karakterističnu promjenu za MRLS i uglavnom zahvaća amnionski segment pupčane vrpce koji je oštrije površine, sivo-žute boje i povećan posljedično nastalim edemima i krvarenjima. Navedene promjene pupkovine infiltrirane su neutrofilnim upalnim stanicama (POWELL, 2011.).

Perikarditis je još jedan patološki nalaz povezan sa MRLS. Najčešća bakterija izolirana iz perikardijalne tekućine konja s bakterijskim perikarditisom je *Actinobacillus spp.* Najčešće uočena lezija je sloj fibrina koji prekriva epikard u obliku nodularnih naslaga sa zadebljanjem perikarda (SEBASTIAN i sur., 2008.; SATUE i GARDON, 2016.).

Kobile nakon pobačaja rijetko kada mogu ponovno ostati gravidne, a razlog tome je prisutnost eCG-a u krvi čije se razine održavaju zbog razvijenih endometrijskih čašica (ZENT, 2003.). U slučaju da dođe do porođaja, u 32% slučajeva posteljica izgleda kao crvena vreća, što ukazuje na moguća prerana odvajanja posteljice od endometrija, odnosno placentitis ili probleme sa placentacijom (SATUE i GARDON, 2016.).

Dijagnoza MRLS ovisi o procjeni epidemioloških faktora koji uključuju nagli početak i dramatično povećanje broja prijavljenih slučajeva rane embrionalne smrtnosti i kasnih fetalnih gubitaka te perikarditisa i unilateralnog uveitisa unutar rizične populacije. Dijagnostika pobačaja ili mrtvorođenja se temelji na kombinaciji nekoliko čimbenika, kao što su vrijeme u godini, bakteriološki nalazi, patološki nalazi, informacije o prethodnim gravidnostima i spolnim ciklusima i slično (POWELL, 2011.).

Dosada je pokazan vrlo mali uspjeh u liječenju kobila koje su pokazivale rane znakove rane embrionalne smrtnosti na temelju ultrazvučnog nalaza ehogenosti fetalne tekućine i održivosti embrionalnog otkucaja srca. Terapija se sastojala od primjene antibiotika, plazme,

tekućinske terapije, enteralne i/ili parenteralne prehrane, vitamina E, dimetil sulfoksida ili manitola, protuupalnih lijekova, dodatka kisika i intenzivne njege (POWELL, 2011.).

Terapija perikarditisa uključivala je perikardiocentezu u više navrata, intraperikardijalnu i sustavnu primjenu kortikosteroida i antibiotika (SLOVIS, 2011.). Terapija unilateralnog uveitisa nije bila učinkovita.



### 3. ZAKLJUČCI

1. Pobačaj kobilica predstavlja izbacivanje ploda i pripadajućih ovojnica prije 300. dana gravidnosti.
2. Rana embrionalna smrtnost se događa prije 13. dana gravidnosti, a glavni čimbenik koji sudjeluje u nastanku je dob kobile.
3. Pobačaji uzrokovani EHV-1 i EVA su najčešći zarazni pobačaji uzrokovani virusima te je ključ prevencije istih usmjeren na cijepljenje konja.
4. Najčešći uzrok zaraznih pobačaja je bakterijski placentitis za kojega još ne postoji u potpunosti učinkovita terapija.
5. Najčešći uzrok nezaraznih pobačaja je pojava blizanačke gravidnosti kod koje je ključ prevencije pravodobno otkrivanje i redukcija blizanaca.

## 4. POPIS LITERATURE

1. ALLEN, W. R., S. GOWER, S. WILSHER (2011): Fetal membrane differentiation, implantation and early placentation. U: Equine reproduction, 2<sup>nd</sup> ed. (McKinnon i sur., ur.), Blackwell Publishing Ltd. (Wiley-Blackwell), Chichester, Oxford (UK), Ames (USA), pp. 2187-2199.
2. ALLEN, W. R., S. WILSHER (2009): A review of implantation and early placentation in the mare. *Placenta* 30, 1005-1015.  
and low virulence isolates of equine herpesvirus-1 and -4. *Res. Vet. Sci.* 75, 83-86.
3. ANONYMUS, (2009): Pravilnik o mjerama kontrole arteritisa. Narodne novine, br. 41/07, 155/08.
4. ANONYMUS, (2011): Pravilnik o mjerama za suzbijanje i iskorijenjivanje leptospiroze životinja. Narodne novine, br. 41/07, 55/11.  
ANONYMUS, (2021): Program nadziranja, praćenja prevalencije i proširenosti infektivne anemije kopitara, virusnog arteritisa konja, leptospiroze i groznice Zapadnog Nila u 2021. godini. Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane.
5. AURICH, C., S. BUDIK (2015): Early pregnancy in the horse revisited – does exception prove the rule? *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 6, 50.
6. AURICH, C., T. GERLACH, J. E. AURICH, H. O. HOPPEN, J. LANGE, N. PARVIZI (2002): Dopaminergic and opioidergic regulation of gonadotropin and prolactin release in stallions. *Reprod. Domest. Anim.* 37, 335-340.
7. BALASURIYA, U. B. R. (2014): Equine Viral Arteritis. *Vet. Clin. North Am. Equine Practice* 30, 543-560.
8. BALL, A. B. (2011): Embryonic Loss. U: Equine Reproduction, 2<sup>nd</sup> ed., (McKinnon i sur., ur.), Blackwell Publishing Ltd. (Wiley-Blackwell), Chichester, Oxford (UK), Ames (USA), pp. 2327-2336.
9. BARBIĆ, L., I. LOJKIĆ, V. STEVANOVIĆ, T. BEDEKOVIĆ, V. STAREŠINA, N. LEMO, M. LOJKIĆ, J. MADIĆ (2012.): Two outbreaks of neuropathogenic equine herpesvirus type 1 with breed-dependent clinical signs. *Vet. Record* 170, 227-227.
10. BARBIĆ, LJ. (2022): Zarazni pobačaji u kobila, Imunoprofilaksa konja. ppt prezentacija. Preuzeto s: VEF-LMS sustav.
11. BELL, S. A., U. B. R. BALASURIYA, J. MACLACHLAN (2006): Equine Viral Arteritis. *Clinical Techniques in Equine Practice* 5, 233-238.

12. BETTERIDGE, K. J. (2007): Equine embryology: an inventory of unanswered questions. *Theriogenology* 68, 9-21.
13. BETTERIDGE, K. J. (2011): Embryo morphology, growth and development. U: Equine reproduction, 2<sup>nd</sup> ed., Volume 2, (McKinnon i sur., ur.), Blackwell Publishing Ltd. (Wiley-Blackwell), Chichester, Oxford (UK), Ames (USA), pp. 2167-2186.
14. BETTERIDGE, K. J., J. I. RAESIDE, R. O. WAELCHLI, H. L. CHRISTIE, M. A. HAYES (2018): Patterns of conceptus development and of progesterone concentrations in maternal blood preceding spontaneous early pregnancy failure in mares. *Reprod. Fertil. Dev.* 30, 1066-1076.
15. BLODGETT, D. J. (2001): Fescue Toxicosis. *Vet. Clin. North Am. Equine Practice* 17, 567-577.
16. BLODGETT, D. J. (2007): Fescue Toxicosis. U: *Veterinary Toxicology*, 2<sup>nd</sup> ed., (Gupta, R. C., ur.), Saunders Elsevier, Philadelphia, pp. 907-914.
17. BOLLWEIN, H., F. WEBER, I. WOSCHEE, R. STOLLA (2004.): Transrectal Doppler sonography of uterine and umbilical blood flow during pregnancy in mares. *Theriogenology* 61, 499-509.
18. BUFF, P. R., A. C. DODDS, C. D. MORRISON, N. C. WHITLEY, E. L. McFADIN, J. A. DANIEL, J. DJIANE, D. H. KEISLER (2002): Leptin in horses: tissue localization and relationship between peripheral concentrations of leptin and body condition. *J. Anim. Sci.* 80, 2942-2948.
19. CROSS, D. L. (2009): Toxic Effects of the Endophyte in Horses. U: *Tall Fescue for the Twenty-first Century*, Volume 53, (Fribourg i sur., ur.), American Society of Agronomy, Inc. Crop Science Society of America, Inc. Soil Science Society of America, Inc., pp. 311-325.
20. CROSS, D. L. (2011): Fescue Toxicosis. U: Equine reproduction, 2<sup>nd</sup> ed., Volume 2 (McKinnon i sur., ur.), Blackwell Publishing Ltd. (Wiley-Blackwell), Chichester, Oxford (UK), Ames (USA), pp. 2418-2427.
21. DE MESTRE, A. M., D. HANLON, A. P. ADAMS, E. RUNCAN, J. C. LEABEATER, R. TALLMADGE (2010): Prolonged estrus suppression by ectopic transplantation of invasive equine trophoblast. *Anim. Reprod. Sci.* 121, 60-61.
22. DEL PIERO, F. (2000): Equine Viral Arteritis. *Vet. Pathol.* 37, 287-296.
23. DI AZEVEDO, M. I. N., W. LILENBAUM (2022): Equine genital leptospirosis: Evidence of an important silent chronic reproductive syndrome. *Theriogenology* 192, 81-88.

24. DONAHUE, J. M., N. M. WILLIAMS (2000): Emergent Causes of Placentitis and Abortion. *Vet. Clin. North Am. Equine Practice* 16, 443-456.
25. DOUGLAS, R. H. (2004): Endocrine diagnostics in the broodmare: what you need to know about progestins and estrogens. *Proceedings of the Society for Theriogenology/American College of Theriogenologists*, pp. 106-115.
26. ENGLAND, W. C. G. (2005): *Fertility and Obstetrics in the horse*, 3<sup>rd</sup> ed., Blackwell Publishing Ltd., Oxford (UK), Ames (USA), Victoria (Australia), pp. 72-84;151-152; 168-172.
27. EVANS, T. J., D. J. BLODGETT, G. E. ROTTINGHAUS (2012): Fescue toxicosis. U: *Veterinary Toxicology*, 2<sup>nd</sup> ed., (Gupta, R. C., ur.), Saunders Elsevier, Philadelphia, pp. 1166-1177.
28. FOSS, R., A. CRANE (2004): Serum progesterone changes in embryo transfer recipients. *Proc. Am. Assoc. Equine. Prac.* 50, 521-524.
29. FOSTER, S. J., D. E. MARSHALL, E. HOUGHTON, D. B. GOWER (2002): Investigations into the biosynthetic pathways for classical and ring B-unsaturated oestrogens in equine placental preparations and allantochorionic tissues. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 82, 401-411.
30. FRIBOURG, H. A., G. MILNE (2009): Establishment and renovation of old sods for forage. U: *Tall fescue for the twenty first century*, (Fribourg i sur., ur.), ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI (USA), pp. 67-84.
31. GETZ, I., T. DOBRANIĆ, A. ORAK, N. PRVANOVIĆ, J. GRIZELJ, I. FOLNOŽIĆ (2011): Otkrivanje i redukcija blizanaca u gravidnih kobila. *Veterinar* 49, 34-39.
32. GINTHER, O. J. (1995): Embryonic loss. U: *Ultrasonic imaging and Animal Reproduction Horses*, Book 2, (Ginther O. J., ur.), Cross Plains, Equiservices, pp. 175-183.
33. GINTHER, O. J. (1998): Equine pregnancy: physical interactions between the uterus and conceptus. *American Association of Equine Practitioners Proceedings* 44, pp.73-104.
34. GOLNIK, W. (1992): Viruses isolated from aborted foetuses and stillborn foals. U: *Equine Infectious Diseases VI*, (Plowright i sur., ur.), *Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Conference*, Newmarket, R&W Publications, pp. 314.
35. GUPTA, R. C., T. J. EVANS, S. S. NICHOLSON (2018): Ergot and Fescue Toxicosis. U: *Veterinary Toxicology*, 3<sup>rd</sup> ed., (Gupta, R. C., ur.), Saunders Elsevier, Philadelphia, pp. 995-1001.

36. HINES, M. T. (2014): Leptospirosis. U: *Equine Infectious Diseases*, 2<sup>nd</sup> ed., (Sellon i Long, ur.), St. Louis, Missouri (USA), Saunders, pp. 302–310.
37. HOLYOAK, G. R., U. B. R. BALASURIYA, C. C. BROADDUS, P. J. TIMONEY (2008): Equine viral arteritis: Current status and prevention. *Theriogenology* 70, 403-414.
38. KAHLER, A., I. M. MCGONNELL, H. SMART, A. A. KOWALSKI, K. C. SMITH, D. C. WATHES, A. M. DE MESTRE (2019): Fetal morphological features and abnormalities associated with equine early pregnancy loss. *Equine Vet. J.* 53, 530-541.
39. KHUSRO, A., C. AARTI, R. R. RIVAS-CACERES, A. BARBABOSA-PLIEGO (2020): Equine Herpesvirus-1 Infection in Horses: Recent Updates on its Pathogenicity, Vaccination, and Preventive Management Strategies. *J. Equine Vet. Sci.* 87, 1-8.
40. KINDAHL, H., O. KNUDSEN, A. MADEJ, L. E. EDQVIST (1982): Progesterone, prostaglandin F<sub>2α</sub>, PMSG and oestrone sulphate during early pregnancy in mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 32, 353-359.
41. KLONISCH, T., S. HOMBACH-KLONISCH (2000): Review: relaxin expression at the feto-maternal interface. *Reprod. Domest. Anim.* 35, 149-152.
42. KRAKOWSKI, L., C. H. KRAWCZYK, K. KOSTRO, T. STEFANIAK, F. NOVOTNY, J. OBARA (2011): Serum Levels of Acute Phase Proteins: SAA, Hp and Progesterone (P4) in Mares with Early Embryonic Death. *Reprod. Domest. Anim.* 46, 624-629.
43. LEBLANC, M. M. (2010): Ascending Placentitis in the Mare: An Update. *Reprod. Domest. Anim.* 45, 28-34.
44. LEBLANC, M. M., N. M. WILLIAMS, W. LONG, J. HENNING (2003): Mare Reproductive Loss Syndrome. *J. Equine Vet. Sci.* 23, 246-248.
45. LYLE, S. K. (2009): Infectious Problems in the Last Trimester of Pregnancy. U: *Equine breeding management and artificial insemination*, 2<sup>nd</sup> ed., (Samper, J. C., ur.), Saunders Elsevier, Philadelphia, pp. 249-254.
46. MacLACHLAN, N. J., U. B. BALASURIYA (2006): Equine Viral Arteritis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 581, 429-433.
47. MacPHERSON, M. L. (2005): Treatment strategies for mares with placentitis. *Theriogenology* 64, 528-534.
48. MacPHERSON, M. L., C. S. BAILEY (2008): A clinical approach to managing the mare with placentitis. *Theriogenology* 70, 435-440.

49. MacPHERSON, M. L., J. M. REIMER (2000): Twin reduction in the mare: current options. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 233-244.
50. MAKEK, Z., I. GETZ, N. PRVANOVIĆ, A. TOMAŠKOVIĆ, J. GRIZELJ (2009): Rasplodivanje konja, Veterinarski fakultet, Zagreb., pp 89-114.
51. MALSCHITZKY, E., A. M. PIMENTEL, P. GARBADE, M. I. M. JOBIM, R. M. GREGORY, R. C. MATTOS (2015): Management Strategies Aiming to Improve Horse Welfare Reduce Embryonic Death Rates in Mares. *Reprod. Domest. Anim.* 50, 632-636.
52. MARI, G., E. IACONO, B. MERLO, C. CASTAGNETTI (2004): Reduction of Twin Pregnancy in the Mare by Transvaginal Ultrasound – Guided Aspiration. *Reprod. Domest. Anim.* 39, 434-437.
53. MARTINEZ DE ANDINO, E. (2020): Use of Ultrasonography for Pregnancy Diagnosis in the Horse. <https://info.selectbreeders.com/blog/use-of-ultrasonography-for-pregnancy-diagnosis-in-the-horse> (pristupljeno: 2. rujna 2022.)
54. McCUE, M. P. (2009): Pregnancy tests. Colorado State University, Fort Collins (USA), pp. 1-3.
55. McCUE, M. P. (2014): Ultrasound Examination of the Pregnant Mare. U: *Equine Reproductive Procedures*, 1<sup>st</sup> ed., (Dascanio J. i McCue P.), John Wiley & Sons, Inc., pp. 188-192.
56. McDOWELL, K. J., D. C. SHARP (2011): Maternal Recognition of Pregnancy. U: *Equine reproduction*, 2<sup>nd</sup> ed., Volume 2, (McKinnon i sur.), Blackwell Publishing Ltd. (Wiley-Blackwell), Chichester, Oxford (UK), Ames (USA), pp. 2200-2210.
57. McGLOTHIN, J. A., G. D. LESTER, P. J. HANSEN, M. THOMAS, L. PABLO, D. L. HAWKINS, M. M. LEBLANC (2004): Alteration in uterine contractility in mares with experimentally induced placentitis. *Reprod.* 127, 57-66.
58. McKINNON, A. O. (2011): Origin and Outcome of Twin Pregnancies. U: *Equine reproduction*, 2<sup>nd</sup> ed., Volume 2, (McKinnon i sur., ur.), Blackwell Publishing Ltd. (Wiley-Blackwell), Chichester, Oxford (UK), Ames (USA), pp. 2350-2358.
59. McKINNON, A. O., T. B. LESCUN, J. H. WALKER, J. R. VASEY, W. R. ALLEN (2000): The inability of some synthetic progestagens to maintain pregnancy in the mare. *Equine Vet. J.* 32, 83-85.
60. MILAS, Z., N. TURK, Z. ŠTRITOF MAJETIĆ, J. HABUŠ, V. MOJČEC PERKO, LJ. BARBIĆ, V. STEVANOVIĆ, M. PERHARIĆ, V. STAREŠINA (2013): Dijagnostika i suzbijanje leptospiroze konja u Hrvatskoj. *Hrvatski veterinarski vjesnik* 21, 31-37.

61. MOREHEAD, J. P., T. L. BLANCHARD, J. A. THOMPSON, S. P. BRINSKO (2001): Evaluation of early fetal losses on four equine farms in central Kentucky: 73 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220, 1828-1830.
62. MULLIS, P. E., P. TONELLA (2008): Regulation of fetal growth: consequences and impact of being born small. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 22, 173-190.
63. OUSEY, C. J. (2006): *Vet. Clin. North Am. Adv. Reprod.* 22, 727-747.
64. OUSEY, C. J. (2011): *Endocrinology of Pregnancy*. U: *Equine Reproduction*, 2<sup>nd</sup> ed., Volume 2, (McKinnon i sur., ur.), Blackwell Publishing Ltd. (Wiley-Blackwell), Chichester, Oxford (UK), Ames (USA), pp. 2222-2233.
65. PERKINS, N. R., J. B. GRIMMET (2001): Pregnancy and twinning rates in Thoroughbred mares following the administration of human chorionic gonadotropin (HCG). *N. Z. Vet. J.* 49, 94-100.
66. PODICO, G. (2019): Study on early fetal loss sin mares. *Diplomski rad*. University of Illionois at Urbana-Champaign, Urbana, Illionois.
67. POWELL, D. G. (2011): Mare reproductive loss syndrome. U: *Equine reproduction*, 2<sup>nd</sup> ed., Volume 2, (McKinnon i sur., ur.), Blackwell Publishing Ltd. (Wiley-Blackwell), Chichester, Oxford (UK), Ames (USA), pp. 2410-2417.
68. RAHEEM, K. A. (2017): An insight into maternal recognition of pregnancy in mammalian species. *J. Saudi. Soc. Agric. Sci.* 16, 1-6.
69. REED, S. M., R. E. TORIBIO (2004): Equine herpesvirus 1 and 4. *Vet. Clin. North Am. Equine Practice* 20, 631-642.
70. SANTCHI, E. M., W. E. VAALA (2011): Identification of the High-Risk Pregnancy. U: *Equine reproduction*, 2<sup>nd</sup> ed., Volume 1, (McKinnon i sur., ur.), Blackwell Publishing Ltd. (Wiley-Blackwell), Chichester, Oxford (UK), Ames (USA), pp. 5-15.
71. SATUE, K., J. C. GARDON (2016): Pregnancy loss in mare. U: *Genital Infections and infertility*, (Darwish, A. T., ur.), IntechOpen London, <https://www.intechopen.com/books/5059> (pristupljeno: 3. rujna 2022.)
72. SATUE, K., J. C. GARDON (2021): Physiological and clinical aspects of the endocrinology of the estrous cycle and pregnancy in mares. U: *Animal Reproduction in Veterinary Medicine*, (Aral, F., ur.), IntechOpen London, <https://www.intechopen.com/books/8545> (pristupljeno: 2. rujna 2022.)
73. SCHULTZ, C. L., L. P. BUSH (2002): The potential role of ergot alkaloids in mare reproductive loss syndrome. *Proceedings of the 5<sup>th</sup> Workshop on Mare Reproductive*

- Loss Syndrome, Kentucky Agricultural Experiment Station, University of Kentucky, Lexington., pp. 60-63.
74. SEBASTIAN, M. M., W. V. BERNARD, W. RIDDLE, C. R. LATIMER, T. D. FITZGERALD, L. R. HARRISON (2008): Review paper: Mare Reproductive Loss Syndrome. *Vet. Pathol.* 45, 710-722.
  75. SILVA L. A., O. J. GINTHER (2006): An early endometrial vascular indicator of completed orientation of the embryo and the role of dorsal endometrial encroachment in mares. *Biol. Reprod.* 74, 337-343.
  76. SITTERS, S. (2014): Palpation of the Pregnant Mare Per Rectum. U: *Equine Reproductive Procedures*, 1<sup>st</sup> ed., (Dascanio J. i McCue P., ur.), John Wiley & Sons, Inc., pp. 185-187.
  77. SITTERS, S. (2021): Speculum Examination of the Pregnant Mare. U: *Equine Reproductive Procedures*, 2<sup>nd</sup> ed., (Dascanio J. i McCue P., ur.), John Wiley & Sons, Inc., pp. 263-264.
  78. SLOVIS, N. (2011): Pericarditis: a clinical perspective during an epidemic of fibrinous pericarditis in central Kentucky. *Equine Vet. Educ.* 23, 69-72.
  79. SMITS, K., S. WILLEMS, K. VAN STEENDAM, M. VAN DE VELDE, V. DE LANGE, C. VERVERS, K. ROELS, J. GOVAERE, F. VAN NIEUWERBURGH, L. PEELMAN, D. DEFORCE, A. VAN SOOM (2018): Proteins involved in embryo-maternal interaction around the signalling of maternal recognition of pregnancy in the horse. *Sci. Rep.* 8, 1-2.
  80. SPRAYBERRY, K. A. (2009): Fetal Monitoring in Broodmares. U: *Equine breeding management and artificial insemination*, 2<sup>nd</sup> ed., (Samper, J. C., ur.), Saunders Elsevier, Philadelphia, pp. 241-248.
  81. STOUT, A. E. (2009): The early pregnancy. U: *Equine breeding management and artificial insemination*, 2<sup>nd</sup> ed., (Samper, J. C., ur.), Saunders Elsevier, Philadelphia, pp. 223-239.
  82. SWEGEN, A. (2021): Maternal recognition of pregnancy in the mare: does it exist and why do we care? *Reprod.* 161, 139-155.
  83. TEARLE, J. P., K. C. SMITH, A. J. PLATT (2003): *In vitro* characterisation of high
  84. THOMPSON, F. N., J. A. STUEDEMANN, N. S. HILL (2001): Anti-quality factors associated with alkaloids in eastern temperate pasture. *J. Range Manage.* 54, 474-489.



85. TIMONEY, P. J. (2008): Equine Viral Arteritis. U: OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, 6<sup>th</sup> ed., Office International des Epizooties, Paris, pp. 904–918.
86. TIMONEY, P. J. (2011a): Equine Herpesviruses. U: Equine reproduction, 2<sup>nd</sup> ed., Volume 2, (McKinnon i sur.), Blackwell Publishing Ltd. (Wiley-Blackwell), Chichester, Oxford (UK), Ames (USA), pp. 2376-2390.
87. TIMONEY, P. J. (2011b): Equine Viral Arteritis. U: Equine reproduction, 2<sup>nd</sup> ed., Volume 2, (McKinnon i sur.), Blackwell Publishing Ltd. (Wiley-Blackwell), Chichester, Oxford (UK), Ames (USA), pp. 2391-2398.
88. TIMONEY, P. J., W. H. McCOLLUM (2004): Equine Viral Arteritis. U: Infectious Diseases of Livestock, Vol. 2, 2<sup>nd</sup> ed., (Coetzer i Tustin, ur.), Oxford University Press Southern Africa, Cape Town, pp. 924–932.
89. TROEDSSON, M. H. T., M. L. MACPHERSON (2011): Placentitis. U: Equine reproduction, 2<sup>nd</sup> ed., Volume 2, (McKinnon i sur., ur.), Blackwell Publishing Ltd. (Wiley-Blackwell), Chichester, Oxford (UK), Ames (USA), pp. 2359-2367.
90. TURK, N., Z. MILAS, J. HABUŠ, Z. ŠTRITOF MAJETIĆ, V. MOJČEC PERKO, LJ. BARBIĆ, V. STEVANOVIĆ, M. PERHARIĆ, V. STAREŠINA (2013): Equine leptospirosis in Croatia – occurrence of subclinical infections and abortions. *Vet. Arh.* 83, 253-262.
91. VANDERWALL, D. K. (2008): Early Embryonic Loss in the Mare. *J. Equine Vet. Sci.* 28, 691-702.
92. VERMA, A., B. STEVENSON, B. ADLER (2013): Leptospirosis in horses. *Vet. Microbiol.* 167, 61-66.
93. WALTER, J., C. SEEH, K. FEY, U. BLEUL, N. OSTERRIEDER (2013): Clinical observations and management of a severe equine herpesvirus type 1 outbreak with abortion and encephalomyelitis. *Acta Vet. Scand.* 55, 1-9.
94. WEBER, J. A., D. A. FREEMAN, D. K. VANDERWALL (1991): Prostaglandin E2 secretion by oviductal transport-stage equine embryos. *Biol. Reprod.* 45, 540-543.
95. WOLFSDORF, K. (2021.): Managment of Twins in the Mare. <https://info.selectbreeders.com/blog/management-of-twins-in-the-mare> (pristupljeno: 11. rujna 2022.)
96. ZENT, W. W. (2003.): An overview of reproductive system changes during and after mare reproductive loss syndrome. Proceedings of the First Workshop on Mare

Reproductive Loss Syndrome, (Powell D. G. i sur., ur.), Kentucky Agricultural Experiment Station, University of Kentucky, College of Agriculture, pp. 30–31.

## 5. SAŽETAK

### Lučić, K. (2022): Pobačaji u kobilama

Pobačaj definiramo kao prekid gravidnosti uz izbacivanje ploda i njegovih pripadajućih ovojnica prije 300. dana gravidnosti. Plod je najčešće mrtav ili ugiba neposredno nakon pobačaja. Do pojave rane embrionalne smrtnosti dolazi prije 13. dana gravidnosti, a glavni čimbenik koji sudjeluje u nastanku je starost kobile povezan sa smanjenom kvalitetom oocita, niskim koncentracijama progesterona te degenerativnim i upalnim promjenama endometrija. Većina pobačaja je nezarazne etiologije, a najčešći uzrok je blizanačka gravidnost (10-30%) s obzirom da kobile zbog nedostatka razvijenosti posteljice ne mogu oždrijebiti dva ploda te se profilaksa usmjerava na pravodobno otkrivanje i redukciju blizanaca. Najčešći uzrok pobačaja zarazne etiologije je bakterijski placentitis. Dosada nije nađena učinkovita terapija placentitisa bez obzira na brojna istraživanja. Od virusnih uzročnika najvažniji su konjski herpesvirus 1 i virus arteritisa konja koji se suzbijaju po zakonu i za koje postoje propisane dijagnostičke i preventivne mjere. Svaki pobačaj smatra se zaraznim dok se ne dokaže suprotno te je cilj u slučaju pojave pobačaja postavljanje etiološke dijagnoze koja uključuje iscrpnu anamnezu, klinički pregled i uzimanje uzoraka za laboratorijske i dodatne pretrage ovisno o sumnji na uzrok.

**Ključne riječi:** kobilama, pobačaj, rana embrionalna smrtnost, blizanačka gravidnost, placentitis

## 6. SUMMARY

### **Lučić, K. (2022): Abortions in mares**

Abortion is defined as termination of pregnancy with expulsion of the fetus and its associated membranes before the 300. day of pregnancy. The fetus is usually dead or dies after the abortion. Early embryonic death occurs before day 13. of pregnancy and the main factor involved in its occurrence is the age of the mare associated with low oocyte quality, low progesterone concentrations and degenerative and inflammatory changes of the endometrium. Most abortions are of non-infectious etiology and the most common cause is twin pregnancy (10-30 %), given that mares cannot give birth to two fetuses due to the lack of placenta development and prevention is focused on timely detection and reduction of twins. The most common cause of abortions of infected etiology is bacterial placentitis. So far, no effective therapy for placentitis has been found, regardless of numerous studies. Of the viral agents, the most important are equine herpesvirus 1 and equine arteritis virus which are notifiable diseases and diagnostic and preventive measures are available. Every abortion is considered infectious until proven otherwise, and the goal is to establish an etiological diagnosis that includes a thorough history, clinical examination and taking samples for laboratory and additional tests depending on the suspected cause.

**Keywords:** mare, abortion, early embryonic death, twin pregnancy, placentitis

## **7. ŽIVOTOPIS**

Rođena sam 12. siječnja 1998. godine u Zagrebu. Osnovnoškolsko obrazovanje stekla sam u OŠ Vrbani u Zagrebu. Nakon završene osnovne škole upisala sam opći smjer XIII. gimnazije u Zagrebu, koju sam završila 2016. godine. Veterinarski fakultet upisala sam 2016. godine i na 5. godini studija opredijelila sam se na smjer Farmske životinje i konji. Sve godine fakulteta upisivala sam kao redovna studentica