

# Kontracepcija u pasa

---

Jaković, Laura

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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:178:872756>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-17**



Repository / Repozitorij:

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**VETERINARSKI FAKULTET**

**Laura Jaković**

**KONTRACEPCIJA U PASA**

**Diplomski rad**

**Zagreb, 2019.**

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

Predstojnik klinike: prof. dr. sc. Marko Samardžija

Mentori: Prof. dr. sc. Tugomir Karadjole

Izv. prof. dr. sc. Nino Maćešić

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Prof. dr. sc. Goran Bačić
2. Prof. dr. sc. Tugomir Karadjole
3. Izv. prof. dr. sc. Nino Maćešić
4. Doc. dr. sc. Ivan Folnožić, zamjena

## **Zahvala**

Veliku zahvalu dugujem svojim mentorima: prof. dr. sc. Tugomiru Karadjoli i izv. prof. dr. sc. Ninu Maćešiću koji su me svojim stručnim savjetima usmjeravali i olakšali pisanje ovog rada.

Zahvaljujem i svim svojim prijateljima i kolegama za nezaboravne trenutke, sva učenja, druženja, a posebno za utjehu tijekom teških razdoblja. Bez njih nikada ne bih uspjela.

Posebnu zahvalu dugujem svojim roditeljima, dečku i cijeloj obitelji za podršku tijekom cijelog studiranja te ohrabrenje da ustrajem na svom životnom putu.

## **Popis kratica**

FSH = folikulostimulirajući hormon

LH = luteinizirajući hormon

PGF2alfa = prostaglandin F2alfa

CL = (*Corpus luteum*), žuto tijelo

GnRH = gonadotropin oslobađajući hormon

ABP = (Androgen binding protein), androgen vezajući protein

MPA = medroksiprogesteron acetat

MA = megestrol acetat

PROL = proligeston

DMA = delmadinone acetat

CMA = chlormadinone acetat

ZP = zona pellucida

DNA = deoksiribonukleinska kiselina

RNA = ribonukleinska kiselina

FCA = Freundov adjuvans

BCG = bacil *Calmette Guerin*

ZP1, ZP2, ZP3 = glikoproteini zone pellucide

## Sadržaj

|                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Uvod .....                                                            | 1  |
| 2. Spolni ciklus kuje.....                                               | 2  |
| 2.1. Folikularna faza.....                                               | 2  |
| 2.1.1. Proestrus .....                                                   | 2  |
| 2.1.2. Estrus .....                                                      | 3  |
| 2.2. Lutealna faza .....                                                 | 5  |
| 2.2.1. Diestrus.....                                                     | 5  |
| 2.2.2. Graviditet .....                                                  | 6  |
| 2.2.3. Luteoliza .....                                                   | 7  |
| 2.3. Anestrus.....                                                       | 7  |
| 3. Hormonalna regulacija testisa psa .....                               | 8  |
| 3.1. Proizvodnja i sazrijevanje sperme u testisima.....                  | 8  |
| 3.2. Sazrijevanje, transport i skladištenje spermija u epididimisu ..... | 9  |
| 3.3. Proizvodnja i distribucija muških spolnih hormona.....              | 9  |
| 4. Kontracepcija kuja .....                                              | 11 |
| 4.1. Analози progesterona (progestini).....                              | 11 |
| 4.2. Estrogeni.....                                                      | 13 |
| 4.3. Androgeni.....                                                      | 13 |
| 4.4. GnRH agonisti.....                                                  | 14 |
| 4.5. GnRH antagonisti.....                                               | 16 |
| 4.6. Imunokontracepcija .....                                            | 16 |
| 4.7. Kontracepcija u budućnosti .....                                    | 18 |
| 4.7.1. Toksini .....                                                     | 18 |
| 4.7.2. Genska terapija .....                                             | 18 |
| 5. Kontracepcija pasa .....                                              | 19 |
| 5.1. Progestini.....                                                     | 19 |
| 5.2. Androgeni.....                                                      | 19 |
| 5.3. Prolaktin .....                                                     | 20 |
| 5.4. GnRH agonisti.....                                                  | 20 |
| 5.5. Antagonisti GnRH.....                                               | 21 |
| 5.6. Imunokontracepcija .....                                            | 22 |
| 5.7. Genska terapija.....                                                | 22 |
| 5.8. Kemijska kastracija .....                                           | 22 |
| 5.9. Reproduktivni toksini .....                                         | 23 |

|                     |    |
|---------------------|----|
| 6. Zaključci .....  | 25 |
| 7. Literatura.....  | 26 |
| 8. Sažetak .....    | 32 |
| 9. Summary .....    | 33 |
| 10. Životopis ..... | 34 |

## 1. Uvod

Kirurška kontracepcija metodom gonadektomije (kastracija) često se provodi u oba spola, a predstavlja trajan i reverzibilan učinak.

Kirurška kastracija često služi kao metoda liječenja bolesti reproduktivnog sustava ili hormonski uvjetovanih promjena. Nadalje, treba uzeti u obzir negativne učinke kastracije poput nedovoljnog razvoja reproduktivnih organa, promjena mišićnog i lokomotornog sustava, urinarne inkontinencije, debljine te promjena dlačnog pokrova. Alternativna metoda kirurškoj kastraciji je sterilizacija primjenom medikamenata koja može biti trajna ili privremena. Prilikom izbora bilo koje metode treba uzeti u obzir pozitivne i negativne učinke obje metode.

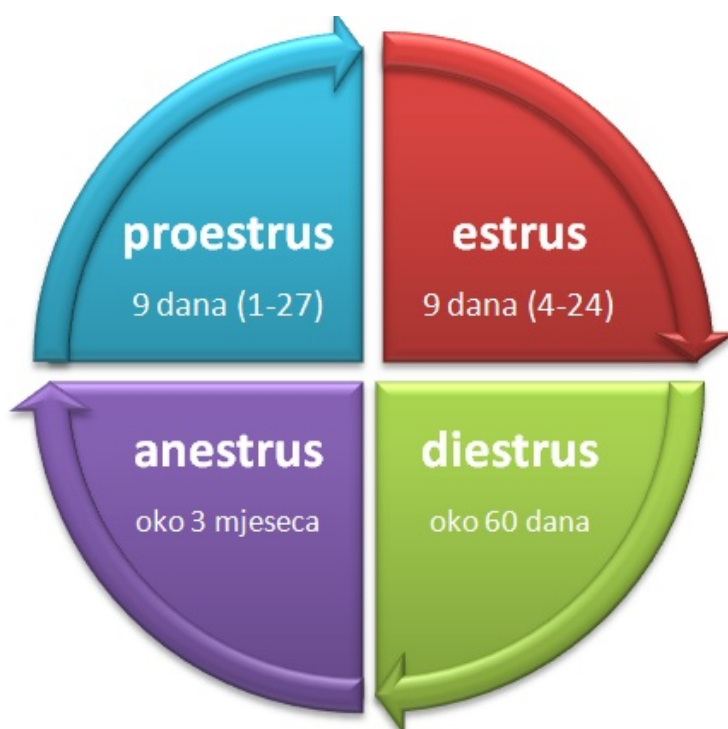
Vlasnici životinja vrlo često zahtijevaju trajno ili privremeno odgađanje tjeranja zbog fizičkih, ali i psihičkih promjena koje su povezane sa spolnim hormonima. Kako bi se spriječilo lutanje psa, agresija prema drugim životinjama, krvarenje i druge fizičke promjene, ali i neželjeno leglo te zaštita od bolesti, vlasnici se odlučuju za kastraciju. Iako je kastracija mnogim vlasnicima prvi izbor, postoje situacije gdje vlasnici žele postići reverzibilni učinak. Pojedine životinje se ne mogu sigurno uvesti u anesteziju u svrhu kastracije. Vlasnici se često ne odlučuju na kastraciju zbog straha da bi nedostatak spolnih hormona utjecalo na radne ili lovačke sposobnosti njihovog psa.

Privremenom sterilizacijom dobili bi uvid kako će se pas ponašati i da li će to utjecati na njegovo ponašanje. Neki vlasnici traže da se trenutno spriječi tjeranje, ali bi u budućnosti koristili psa za uzgoj. Nadalje, kontrola reprodukcije primjenom pristupačnih i sigurnih pripravaka bez operacije imala bi pozitivan utjecaj na smanjenje populacije pasa u skloništima, ali i u divljini.



## 2. Spolni ciklus kuje

Kuje postaju spolno zrele u dobi između 6 do 24 mjeseci ili kada dosegnu 80 posto svoje težine te se zbog toga kasnije javlja kod većih pasmina pasa. Monoestrične su životinje, odnosno u sezoni parenja imaju samo jedan estrus koji se javlja u bilo koje doba godine. Punu plodnost dostižu sa otprilike 2 godine starosti koja traje prosječno do 6 godine, a potom se smanjuje proporcionalno starosti životinje. Spolni ciklus kuje se sastoji od 4 faza: proestrusa i estrusa (folikularna faza), diestrusa (lutealna faza) te anestrusa. Interval između dva estrusa (interestrus) traje prosječno 7 mjeseci. Proestrus i estrus traju prosječno 9 dana, diestrus oko 2 mjeseca te anestrus 3 do 5 mjeseci (England, 2010.).



Slika 1. Prikaz trajanja faza spolnog ciklusa kuja

(Preuzeto: <http://veterinaronline.blogspot.com/2011/12/reprodukcija-psi-spolni-ciklus-kod-kuje.html>)

### 2.1. Folikularna faza

#### 2.1.1. Proestrus

Proestrus je faza rasta folikula pod utjecajem folikulostimulirajućeg hormona (FSH) i luteinizirajućeg hormona (LH) iz prednjeg režnja hipofize. Kada folikul pod utjecajem FSH dosegne veličinu od 8 mm, počinje izlučivanje inhibina koji selektivno inhibira lučenje FSH.

Daljnje dozrijevanje se odvija pod utjecajem LH koji djeluje na stanice folikula te potiče izlučivanje androgena, odnosno estrogena iz granuloza stanica folikula. Estrogen potiče prokrvljenost i uzrokuje edem reproduktivnog sustava i povećanu aktivnost žljezdanog epitela. Uslijed navedenog, dolazi do povećanja i stvaranja vaginalnih nabora, edema rodnice, endometrija i jajovoda, proliferacije mliječnih žlijezda te promjene epitela rodnice (Clarke i Arbabi, 2016.).

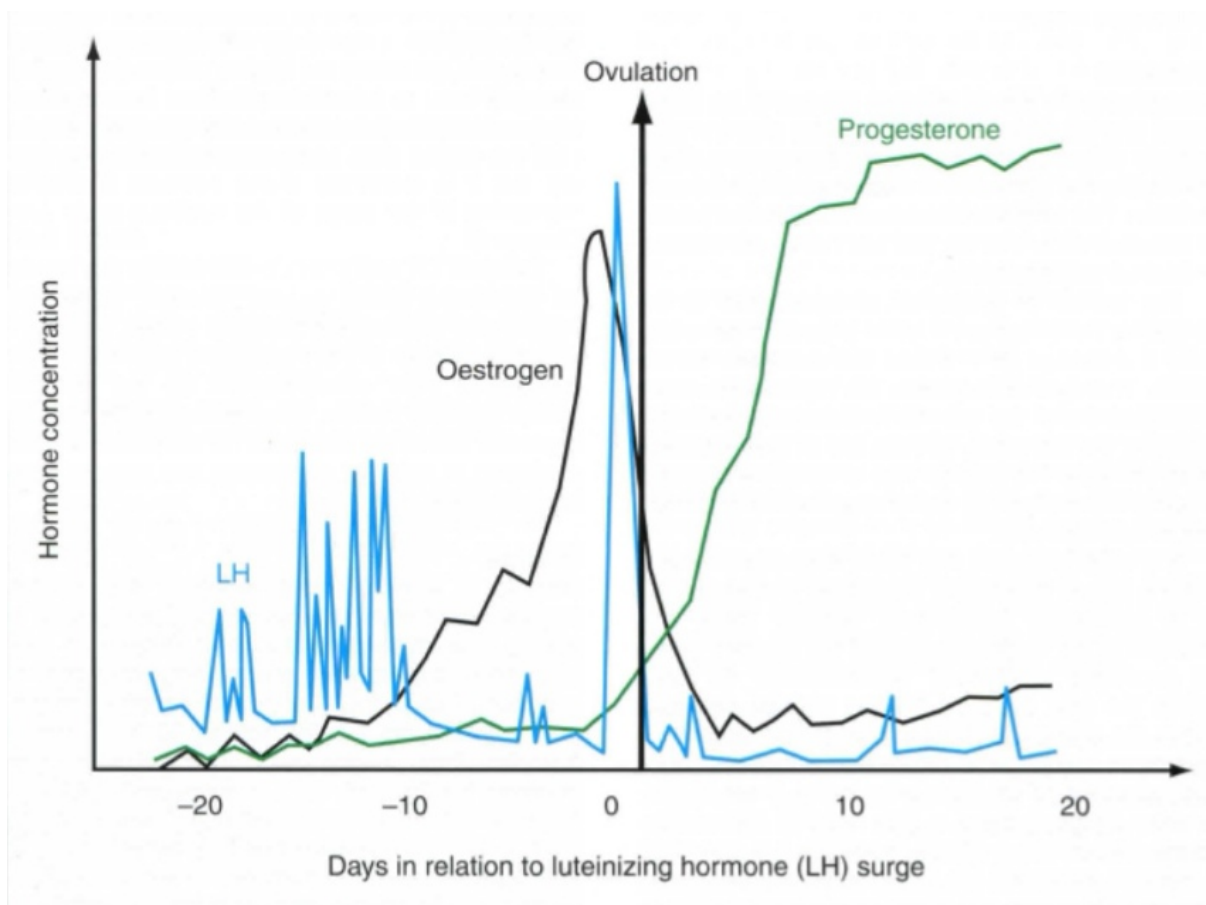
U proestrusu je povećana seksualna atraktivnost, ali kuja odbija parenje. Uočavaju se promjene u ponašanju, učestalo mokrenje i povećani interes prema drugim psima. Klinički se očituje povećanjem i crvenilom stidnice te pojavom serozno krvavog iscjetka koji potječe iz endometrija maternice (Concannon, 2011.).

Za dijagnozu proestrusa najvažnija je citološka promjena sluznice rodnice koja se očituje hiperplazijom i orožnjavanjem epitela rodnice koja postaje izraženija porastom koncentracije estrogena. Tako da, na početku proestrusa nalazimo najviše parabazalnih i intermedijalnih stanica koje tijekom spolnog ciklusa i porastom koncentracije estrogena prelaze u superficijalne stanice. Također, u ovom dijelu ciklusa nalazimo mnogo eritrocita čiji će se broj smanjivati tijekom spolnog ciklusa (Folnožić i sur., 2009.).

#### 2.1.2. Estrus

Estrus je faza spolnog ciklusa u kojem kuja podiže rep, luči feromone i dopušta parenje sa mužjakom. Feromoni djeluju na povećanje muške reproduktivne aktivnosti, ali isto tako imaju utjecaj na poticanje ili sinkronizaciju estrusa u drugih kuja. Vaginalni iscjedak je oskudniji te sadrži manje krvi, ponekad nije niti prisutan. Konzistencija stidnice je mekanija nego u proestrusu, a cerviks je djelomično otvoren (Robinson i Noakes, 2019.).

Koncentracija estrogena je najveća na početku estrusa te se postupno smanjuje prema kraju, a počinje rasti koncentracija progesterona. Raste koncentracija LH te započinje predovulatorni LH val koji pokreće niz staničnih i molekularnih promjena folikula koji prethode ovulaciji. Koncentracija progesterona u serumu raste iznad bazalne koncentracije prije LH vala, zbog luteinizacije granuloza stanica koje luče progesteron prije formiranja žutog tijela. Također, tijekom predovulatornog LH vala povišena je koncentracija testosterona, a potom počinje padati (England, 2010.).



Slika 2. Prikaz koncentracije hormona (Preuzeto iz: England, 2010.).

Ovulacija je složen proces koji se sastoji od rasta folikula i oslobađanja jajne stanice iz zrelog folikula u jajovod. Predovulatorni LH val stimulira sintezu progesterona, ciklooksigenaze koja će poticati sintezu prostaglandina te plazminogena koji je bitan za razgradnju stijenke folikula. Ova tri faktora nužna su za stvaranje stigme, a kasnije i žutog tijela. Pomoću plazminogen aktivatora dolazi do pretvaranja plazminogena u aktivni plazmin pomoću kojeg kolagenaza može prijeći u svoj aktivni oblik te prouzročiti razgradnju kolagena. No, da bi došlo do sinteze kolagenaze, mora doći do izlučivanja progesterona umjesto testosterona, a to će omogućiti upravo predovulatorni LH val. Ovi procesi dovest će do razgradnje kolagena unutar folikula te će se vrh folikula (stigma) izbočiti na površinu. Folikul na stigmi puca te dolazi do ovulacije (Ginther, 2016.).

Kuje se razlikuju od drugih životinja jer ovuliraju nezrele jajne stanice. Oplođnja nije moguća do stvaranja sekundarne oocite koju potakne predovulatorni LH val. Oocite kuja su zrele za oplođnju od drugog do petog dana nakon ovulacije. Nakon toga dolazi do degeneracije

oocita i zatvaranja cerviksa čime je onemogućen prolaza sperme u reproduktivni trakt. Kuje imaju višestruke ovulacije i većina folikula ovulira 48 do 60 sati nakon porasta LH, ali poneki folikuli mogu ovulirati i nakon 90 sati (England, 2010.).

Optimalno vrijeme parenja se u praksi određuje pomoću više metoda. Jedna od njih je mjerenje koncentracije progesterona u krvi. Mjerenje se počinje provoditi kada kuja uđe u estrus, te se ponavlja svakih 48 sati sve dok ne prijeđe granicu od 15 ng/ml. Također je vrlo pouzdana i vaginalna citologija pa u estrusu, kada je koncentracija estrogena na vrhuncu, u sluznici vagine prevladavaju superficijalne stranice (> 80 posto) te nema eritrocita (Folnožić i sur., 2009.).

Tablica 1. Prikaz ovulacije s obzirom na koncentraciju progesterona (Izvor: Chapwanya i sur., 2008.).

| KONCENTRACIJA<br>PROGESTERONA (ng/ml) | KLINIČKI           |
|---------------------------------------|--------------------|
| >0.2                                  | Nije u estrusu     |
| 0.2-2.9                               | Kontrola za 4 dana |
| 3-8.9                                 | Kontrola za 2 dana |
| 9-13.9                                | Kontrola za 1 dan  |
| >19                                   | Osjemenjivanje     |

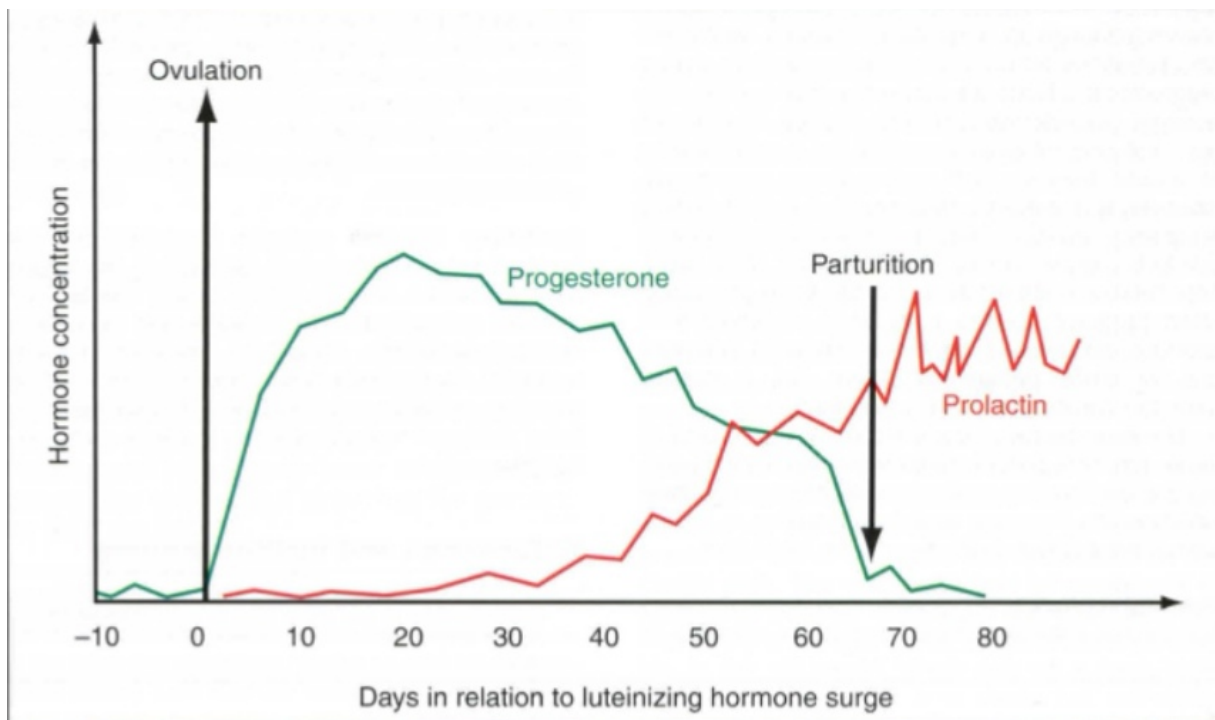
## 2.2. Lutealna faza

### 2.2.1. Diestrus

Lutealna faza je stadij koji slijedi nakon estrusa, odnosno nakon ovulacije, a sastoji se od diestrusa. Diestrus je faza spolnog ciklusa koja traje oko 60 dana pri čemu dolazi do stvaranja žutog tijela i pojačanog izlučivanja progesterona. Nakon pucanja stigme pod utjecajem prostaglandina dolazi do stvaranja *corpusa haemorrhagicum* (crvenog tijela) kojeg nalazimo 1 do 3 dana nakon ovulacije. Prostaglandini, remodelacijom *corpusa haemorrhagicum*, stvaraju *corpus luteum* (žuto tijelo) koji čine velike i male lutealne stanice koje imaju sposobnost lučenja progesterona koji će kasnije održavati graviditet te negativnom povratnom spregom sprječavati pojavu novog estrusa (Woad i Robinson, 2016.).

Diestrus je faza dominacije žutog tijela i progesterona. Pod utjecajem progesterona zatvara se cerviks, sprječava se ulazak spermija, a maternica se priprema za prihvata ploda. Tijekom diestrusa je povećana koncentracija prolaktina i LH koji potiču izlučivanje

progesterona, a njihovom se inhibicijom može izazvati pobačaj. Koncentracija prolaktina je povećana sve do kraja graviditeta kada uslijedi nagli pad, a njegova koncentracija ponovo raste nakon poroda i ostaje visoka kroz cijelu laktaciju (Hunter i sur., 2004.).



Slika 3. Koncentracije hormona u lutealnoj fazi spolnog ciklusa kuje (Preuzeto: England, 2010.).

Prilikom dijagnoze diestrusa je bitno da dolazi do promjena u vaginalnoj citologiji gdje će obrisak sadržavati 60 % intermedijalnih stanica uz prisustvo velikog broja neutrofila. Također, stidnica neće više biti edematozna (Folnožić i sur., 2009.).

### 2.2.2. Graviditet

Tijekom graviditeta dominantni hormon je progesteron kojeg izlučuje žuto tijelo, te se povećava proporcionalno stadiju gravidnosti. U drugoj polovici graviditeta, progesteron počinje padati, a prolaktin iz hipofize rasti. Prolaktin pokušava održati dovoljne koncentracije progesterona za održavanje graviditeta pa njegovom inhibicijom dolazi do abortusa. Specifično za kuje je prisustvo relaksina nakon ovulacije pa sve do poroda. Smatra se da njega proizvodi posteljica pa je samim time njegova koncentracija veća kod kuja koje imaju više plodova, a zaslužan je za omekšavanje vlaknastog vezivnog tkiva prije štenjenja. Određivanje koncentracije relaksina može poslužiti u dijagnostici graviditeta. Kod gravidne kuje raste i

ukupni estrogen, no još uvijek nije dovoljno istraženo kako bi se koristilo u dijagnostici graviditeta (Weems i sur., 2006.).

### 2.2.3. Luteoliza

Diestrus završava razgradnjom žutoga tijela (luteolizom) pomoću PGF2alfa kojeg sintetizira maternica. Za potpunu regresiju žutoga tijela potrebno je 5 do 8 epizoda otpuštanja PGF2alfa. Kod gravidnih kuja, lutealna faza traje 65 dana te završava porodom. Pred kraj graviditeta, dolazi do naglog pada koncentracije progesterona kao odgovor na povećanje PGF2alfa. Povećanje prostaglandina dolazi zbog sazrijevanja endokrinog sustava ploda. Kod negravidnih kuja, koncentracija progesterona sporije se snižava i zato lutealna faza traje 10 do 30 dana duže nego kod gravidnih kuja (Verstegen-Onclin, 2008.).

PGF2alfa se veže za receptore na velikim lutealnim stanicama na površini žutog tijela te aktivira protein kinazu, unutarstanični slobodni kalcij i tako izravno inhibira proizvodnju progesterona. Aktivacijom PGF2alfa prvotno dolazi do degeneracije krvnih žila koje podliježu degenerativnim promjenama. Navedene promjene dovode do nekroze žutog tijela čime završava ova faza ciklusa (Pate, 2018.).

Stoga, luteoliza predstavlja funkcionalnu promjenu kojom dolazi do prestanka proizvodnje steroida, ali i strukturnu gdje dolazi do raspada žutog tijela na čijem mjestu ostaje ožiljkasta struktura zvana *Corpus albicans* (Hughes i Pate, 2019.).

### 2.3. Anestrus

Anestrus je posljednja faza spolnog ciklusa koja traje od 3 do 5 mjeseci. Ukoliko je kuja bila gravidna, laktacija je dio anestrusa. U anestrusu reproduktivni organi se vraćaju u prvobitno stanje. Involucija maternice kod negravidnih životinja traje 70 dana, a kod gravidnih traje 90 dana nakon poroda (England, 2010.).

U vaginalnom obrisku nalazimo parabazalne i intermedijalne epitelne stanice, a vaginalna sluznica je suha, ružičaste boje, bez nabora, no vrlo tanka te izrazito osjetljiva na traumu (Folnožić i sur., 2009.).

Koncentracije progesterona i estrogena su na bazanim vrijednostima sve do prije početka proestrusa kada počinje pojačano lučenje GNRH, pa prema tome i FSH (England, 2010.).

### **3. Hormonalna regulacija testisa psa**

Ovisno o pasmini, pubertet se javlja od 5. mjeseca starosti kada sazrijevaju Leydigove stanice te počinje izlučivanje testosterona. Pas dostiže spolnu zrelost prosječno sa 10 do 12 mjeseci starosti, iako se smatra da manje pasmine pasa ranije pokazuju seksualno ponašanje od većih.

Muški reproduktivni sustav kod pasa ima četiri zadaće:

1. Proizvodnja i sazrijevanje sperme u testisima
2. Sazrijevanje, transport i skladištenje spermija u epididimisu
3. Proizvodnja i distribucija muških spolnih hormona
4. Polaganje sperme u ženskom reproduktivnom traktu (England, 2010.).

#### **3.1. Proizvodnja i sazrijevanje sperme u testisima**

Proizvodnja spermija odvija se procesom spermatogeneze u sjemenim kanalićima u testisima i započinje u pubertetu kada sjemeni kanalići spolno sazrijevaju. Prije puberteta oni su ispunjeni germinativnim i nediferenciranim stanicama, no tijekom puberteta germinativni epitel se mijenja i nastaje epitel specifičan za rasplodnjake. U sjemenim kanalićima ploda se nalaze gonociti i potporne stanice koje su osnova za nastanak spermatogonija. Postoje A, B i I spermatogonije koje su odgovorne za proizvodnju nekoliko milijuna spermija dnevno (Cergolj i Samardžija, 2006.).

Spermatogonije A su najmanje diferencirane stanice, nalaze se u bazalnoj zoni kanalića te predstavljaju rezervoar matičnih stanica za neprekidno odvijanje spermatogeneze. Spermatogonije B se nalaze u adluminalnoj zoni, udaljeni od bazalne membrane, te su povrgnute mitozima za nastanak spermatocita koji daljnjim mejozama prelaze u spermatide. U zadnjoj fazi spermatogeneze, u procesu metamorfoze, spermatide prolaze kroz mnogo funkcionalnih i morfoloških promjena da bi se na kraju razvili spermiji (Chen i Liu, 2015.).

### 3.2. Sazrijevanje, transport i skladištenje spermija u epididimisu

Spermiji su u sjemenim kanalićima nezreli, nepokretljivi te nesposobni za oplodnju, a njihovo konačno sazrijevanje se odvija tijekom transporta kroz epididimis. Epididimis je anatomski podijeljen na glavu (*caput*), tijelo (*corpus*) te rep (*cauda*). Funkcionalno se može podijeliti u proksimalnu regiju koja sudjeluje u sazrijevanju sperme te distalnu koja omogućuje skladištenje i transport spermija. Epididimis je ovisan o androgenu te ukoliko ga nema, njegova funkcija je trenutačno umanjena (Robinson i Noakes, 2019.).

Kretanje spermija kroz epididimis je pasivan proces te ne ovisi od pokretljivosti spermija već o aktivnosti epididimalnog tubula. Prolaskom kroz epididimis, spermiji podliježu različitim morfološkim i metaboličkim promjenama. Na površini membrane se formira lipoproteinska ovojnica koja čini spermije plodnima te ima zaštitnu ulogu. Ove promjene se javljaju kao odgovor na posebne tvari koje su proizvedene i nalaze se u epididimisu (Griswold, 2016.).

U repu epididimisa su optimalni uvjeti za preživljavanje spermija te se tu skladišti oko 70 posto ukupnog spermija koji ovdje ostaju do 2 mjeseca te su sposobni za oplodnju (Aspinall, 2004.).

### 3.3. Proizvodnja i distribucija muških spolnih hormona

Hormonalna regulacija je pod utjecajem različitih podražaja koji potiču hipotalamus na lučenje GnRH koji potom stimulira hipofizu na izlučivanje gonadotropina. FSH je hormon bitan za spermatogenezu čiji se receptori nalaze na Sertolijevim stanicama (England, 2010.).

Sertolijeve stanice se nalaze unutar tubula, cilindričnog su oblika sa velikim, varijabilnim jezgrama koje čine zametni epitel. One se dijele tijekom fetalnog i predpubertalnog života ovisno o koncentraciji FSH i aktivina te pružaju potporu, prehranu i zaštitu tijekom razvoja spermija. Djelovanjem FSH, Sertolijeve stanice luče *Androgen Binding Protein* (ABP) koji održava visoku koncentraciju androgena, zatim estrogen, laktat, inhibin, transferin te tekućinu iz tubula. Inhibin svojim prisustvom uzrokuje supresiju FSH negativnom povratnom spregom (Robinson i Noakes, 2019.).

LH, hormon stimulacije intersticijskog tkiva se izlučuje u epizodama te stimulira Leydigove stanice na izlučivanje muških spolnih hormona. Izlučeni testosteron se veže na ABP u Sertolijevim stanicama te se time održava visoka koncentracija androgena (Robinson i Noakes, 2019.). Testosteron je potreban za proizvodnju spermija, njihovo sazrijevanje u epididimisu,



normalnu funkciju akcesornih spolnih žlijezda i za polaganje spermija u ženske spolne organe. Neophodan je za razvoj muških sekundarnih spolnih karakteristika, jačinu libida te za izražavanje spolnih refleksa. Također je odgovoran za agresivno ponašanje i obilježavanje teritorija (Cergolj i Samardžija, 2006.).

Testosteron iz Leydigovih stanica je zaslužan za održavanje visoke koncentracije androgena te stimulira spermatogenezu, tako da normalno funkcioniranje Sertolijevih stanica ovisi o koncentraciji testosterona. Jednom kada se dosegne vrhunac u stvaranju spermatida, počinje lučenje inhibina koji negativnom povratnom spregom inhibira lučenje FSH. Ukoliko postoje smetnje u radu hipotalamusa, dolazi do smanjenja koncentracije GnRH, a samim time i FSH i LH. Ako je smanjen ili inhibiran rad hipofize, to će uzrokovati smanjenje koncentracije gonadotropina, ali ne i GnRH. Ukoliko je suprimiran rad gonada, koncentracije GnRH, LH i FSH su povećane, a androgena smanjene (England, 2010.).

## 4. Kontracepcija kuja

### 4.1. Analози progesterona (progestini)

Analози progesterona visokim koncentracijama oponašaju rad žutog tijela i uzrokuju negativan povratan učinak na hipotalamus i hipofizu. Blokadom hipotalamusa sprječava se izlučivanje GnRH te FSH i LH iz hipofize. Na taj način onemogućen je rast folikula i sprječava se ovulacija. Kada se prekine učinak egzogenog progesterona, nestaje inhibicija i uspostavlja se ciklička aktivnost (Beijerink i sur., 2007.).

Progestini su spojevi koji su prema strukturi slični progesteronu te oponašaju njegov biološki učinak. Mogu se koristiti kao privremena metoda kontracepcije neposredno prije proestrusa ili kao dugotrajnija metoda kada primjena započinje u anestrusu. Progestine za sprječavanje estrusa potrebno je aplicirati neposredno nakon početka proestrusa (England, 2010.). Odgovor na primjenu progestina je individualan te ovisi o dužini primjene i fazi spolnog ciklusa. Potrebna je osobita pažnja prilikom njihove upotrebe (Asa, 2018.).

*Medroksiprogesteron acetat* (MPA) je progestin koji se koristi za sprječavanje estrusa u kuja, ali i prevenciju različitih problema u ponašanju poput agresije kod pasa. MPA ima jaki antigonadotropni i gestageni učinak te nakon jedne primjene tijekom proestrusa sprječava se pojava tjeranja za 6 mjeseci (Asa, 2018.). Primjenjuje se injekcijskim pripravcima svakih 3 do 6 mjeseci čime se duže sprječava pojava estrusa. Preporuka je aplicirati pripravak subkutano u ingvinalnom području kako bi se izbjegla moguća pojava alopecija, atrofija ili depigmentacija kože (Max i sur., 2014.). Primjena MPA u kuja je povezana sa brojnim nuspojavama poput bolesti maternice, kože i dlake stoga se rijetko koristi u ove svrhe (Hapgood i sur., 2004.).

*Megestrol acetat* (MA) se koristi za odgađanje ili sprječavanje estrusa u kuja ali i za ublažavanje simptoma pseudogravidnosti. MA ima antiandrogeni i antiestrogeni učinak te je i agonist kortizola. MA ima kraći životni vijek i manje nuspojava od MPA i zbog toga se češće primjenjuje u kuja (Kutzler i Wood, 2006.). MA se koristi oralno u obliku tableta te ukoliko se želi postići dugotrajnija odgoda estrusa, treba ih početi primjenjivati u anestrusu. Kujama se daje 0,55 mg/kg MA kroz 32 dana. Primjenom ovog postupka nije moguće znati kada će se pojaviti sljedeći estrus, no u prosjeku je to nakon 3 mjeseca. Tablete se mogu koristiti i kao kratkotrajna metoda kojom se želi sprječiti estrus, ali primjena MA mora započeti tijekom proestrusa. Doza MA od maksimalno 2,2 mg/kg kroz 8 dana suzbiti će znakove proestrusa unutar 3 dana, a sljedeći estrus će se pojaviti 6 do 8 tjedana ranije nego u uobičajenom ciklusu (Papich, 2016.). MA se kod kuja najčešće primjenjuje zajedno sa deslorelinom. MA se

primjenjuje tjedan dana prije i tjedan dana nakon postavljanja deslorelin implatanta, a na taj način se sprječavaju nusučinci deslorelina (Briggs, 2013.).

*Proligeston* (PROL) je sintetski steroidni progestin koji supresijom LH sprječava ovulaciju, ali ima manji progestageni učinak od ostalih progestina (Asa, 2018.). PROL se primjenjuje za kontrolu estrusa (privremeno odgađanje tjeranja i suzbijanje estrusa kod pasa), liječenje lažnog graviditeta, te nimfomanije. Koristi se u injekcionom obliku, a aplikacija se ponavlja za 3 i 4 mjeseca pa svakih 6 mjeseci. Pripravak se koristi tijekom anestrusa, a sljedeći estrus se pojavljuje za 9 do 12 mjeseci (Kutzler i Wood, 2018.). PROL utječe na funkciju nadbubrežne žlijezde što predstavlja opasnost od nastanka imunosupresije (Asa, 2018.).

*Delmadinone acetate* (DMA) i *Chlormadinon acetat* (CMA) su sintetski progestini čije je djelovanje na reproduktivni i endokrini sustav slično kao i MPA. Njihova učinkovitost je dugotrajno odgađanje estrusa u kuja ako se apliciraju svaka 4 mjeseca. Reproductivna sposobnost je normalna nakon primjene navedenih pripravaka. Estrus se pojavljuje nakon prosječno 8 mjeseci od posljednje primjene DMA i do 2 godine od primjene CMA. Primjena ovog lijeka još nije dovoljno istražena (England, 2010.).

Tablica 2. Prikaz preporučenih doza progestina u svrhu kontracepcije (Preuzeto iz: England, 2010.).

| PREPARAT                          | DOZA                                                                                                                                                                                                                                    |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Medroksiprogesteron acetat</i> | Parenteralno: 2.5-3.0 mg/kg i.m. svakih 6 mjeseci                                                                                                                                                                                       |
| <i>Megestrol acetat</i>           | Oralno<br>U proestrusu: 2.0 mg/kg dnevno kroz 2 tjedna<br>U anestrusu: 0.5 mg/kg dnevno do maksimalno 40 dana<br><br>Za supresiju estrusa: 2.0 mg/kg dnevno kroz 8 dana<br>Za odgodu estrusa: 0.5 mg/kg dnevno u kasnom anestrusu       |
| <i>Delmadinon acetat</i>          | Oralno: <10kg t.m.: 1.5-2.0 mg/kg i.m., s.c. svakih 6mjeseci<br>10-20kg t.m.: 1.0-1.5 mg/kg i.m., s.c. svakih 6 mjeseci<br>>20kg t.m.: 1.0 mg/kg i.m., s.c. svakih 6 mjeseci<br>Parenteralno: 1.0-2.0 mg/kg i.m., s.c. svakih 6 mjeseci |
| <i>Proligeston</i>                | Parenteralno: 10-33 mg/kg s.c. , ponoviti za 3 i 4 mjeseca, pa svakih 6 mjeseci                                                                                                                                                         |

Upotreba progestina je povezana sa mnogim nuspojavama te je njihova primjena zbog toga kontroverzna (Max i Jurka, 2006.). Smatra se da ovi proizvodi uzrokuju cističnu hiperplaziju endometrija i nastanak cista (Kim i Kong, 2005.). Učinak na rast endometrija se povećava ako je maternica osjetljiva na estrogen, bilo endogeno tijekom proestrusa ili

egzogenom stimulacijom. Slijedom nevedenog, prije upotrebe progestina trebamo razmisliti u kojoj fazi spolnog ciklusa će se primjenjivati. Najmanje nuspojava zabilježeno je kada se primjenjuju tijekom anestrusa. PROL je često primarni izbor za primjenu zbog sniženog afiniteta prema progesteronskim receptorima te je i smanjen utjecaj na receptore progesterona u maternici (Asa, 2018.).

Progestini potiču lokalnu sekreciju hormona rasta što uzrokuje mnoge nuspojave poput tumora mliječne žlijezde, hipertrofije kože i ostalih mekih dijelova tijela, prekomjernog rasta kostiju i hrskavice te nenormalni rast glave, sapi i unutranjih organa (Yu i sur., 2016.). Imunosupresija se može javiti zbog suzbijanja imunološkog odgovora, a osobito kod primjene MPA i MA. Dijabetes mellitus je česta nuspojava osobito kod upotrebe PROL koji ima smanjeni afinitet prema receptorima u maternici, ali visoki prema glukokortikoidnim receptorima (Selman i sur., 1996.). Najčešća nuspojava nakon primjene progestina je povećani apetit što ima za posljedicu letargiju i povećanje tjelesne mase (Plumb, 2002.).

#### 4.2. Estrogeni

Estrogeni bi se u budućnosti trebali koristiti u svrhu kontracepcije jer sprječavaju izlučivanje LH čime je izravno blokirana ovulacija (Asa, 2018.). Estrogeni imaju brojne neugodne nuspojave poput aplastične anemije posljedično supresiji koštane srži, endometritisa, pijometre, pseudogravidnosti te nastanka folikularnih cisti (Špoljarić i sur., 2018.) što ih za sada čini neprikladnim kontracepcijskim sredstvima (Asa i Agnew, 2015.). Danas su pripravci estrogena za prevenciju nidacije zabranjeni u SAD-u, a u Europi se javljaju velike rezerve glede njihove uporabe, a zbog niza nepovoljnih djelovanja mnogi znanstvenici ih smatraju i kontraindiciranim (Špoljarić i sur., 2018.).

#### 4.3. Androgeni

Androgeni su prirodni ili sintetički steroidi koji kontroliraju i potiču muške spolne karakteristike. U svrhu sprječavanja estrusa koriste se testosteron i sintetički androgen *miboleron* (*dimethylnortestosterone*) koji svojim visokim koncentracijama putem negativnih povratnih informacija inhibira lučenje GnRH čime je blokirano lučenje FSH i LH (Romagnoli, 2009.).

Miboleron se koristi u obliku oralnog pripravka svakodnevnom primjenom. Smatra se da ima androgeno, anabolično i antigonadotropno djelovanje čime blokira vrhunac LH vala.

Njegova primjena treba se započeti 30 dana prije proestrusa, u suprotnom ovaj pripravak ne mora biti učinkovit. Proizvod se smije koristiti maksimalno 24 mjeseca zbog izrazite hepatotoksičnosti, što nije pogodno za vlasnike pasa koji žele dugotrajniju neplodnost. Nakon prekida liječenja, estrus se u prosjeku vrati za 1 do 7 mjeseci (Kutzler i Wood, 2006.).

Miboleron je zabranjeno koristiti kod životinja koji boluju od tumora u analnoj regiji, kod mačaka te kod bedlington terijera zbog česte pojave kroničnog hepatitisa. Nuspojave koje se pojavljuju kod kuja u predpubertetu su prerano zatvaranje epifiza, povećanje klitorisa te vaginitis. Kod starijih kuja može se pojaviti hipertrofija klitorisa, vulvoganitisi, promjene u ponašanju (agresija), inkontinencija, produbljivanje glasa, ali i promjene na jetri i bubrezima (Briggs, 2013). Zabranjeno ih je koristiti zajedno sa progestinima (Plumb, 2011.).

Primjena *testosteron proprionata* intramuskularno jednom tjedno ili oralno dva puta tjedno inhibira estrus, no upotreba još nije dovoljno istraжена (Blythe i sur., 2007.).

#### 4.4. GnRH agonisti

GnRH agonisti oponašaju native GnRH, no imaju duži polужivot te se ne izlučuju pulsatorno već sporo i kontinuirano. Ove dvije značajke omogućuju dugotrajno vezanje sintetičkih GnRH na receptore hipofize što dovodi do njene smanjene osjetljivosti, senzibilizacije receptora i posljedične supresije gonadotropina čime se koči lučenje FSH i LH i steroidnih hormona (Cathey i Memon, 2010.).

GnRH agonisti su registrirani za životinjsku i ljudsku primjenu u svrhu supresije izlučivanja testosterona u liječenju raka prostate, estrogena u liječenju endometriozе, ali i liječenju preuranjenih puberteta kod djece (Briggs, 2013.). U svrhu kontracepcije se koriste različiti proizvodi, no najpoznatiji te najčešće upotrebljavan je deslorelin koji je jednako učinkovit i kod kuja i kod psa (England, 2010.). Svi GnRH agonisti se upotrebljavaju u obliku injekcije ili subkutanog implatanta jer se prilikom oralne primjene probavljaju i postaju biološki neaktivni (Romagnoli, 2009.).

Agonisti imaju puno manje učinke na reproduktivno i opće zdravlje u usporedbi sa steroidima zbog toga što se njihovo djelovanje temelji na uklanjanju endogenih steroida iz opće cirkulacije. Time se smanjuje bilo kakav rizik od nastanka bolesti povezanih sa hormonima. Agonisti GnRH imaju snažan učinak na hipofizu koja na početku njihove upotrebe otpušta svoje rezerve gonadotropina. Zbog početne stimulacije hipofize dolazi do kratkotrajnog pojačanog lučenja FSH i LH koji stimulira jajnike, pojavljuju se klinični znaci estrusa, a smatra se da može

uzrokovati i strah u životinja (Herbst, 2003.). Ovaj oblik potaknutog estrusa ima sve znakove uobičajenog estrusa (iscjedak, estrusno ponašanje), ali traje kraće, a i plodnost je veća (Borges i sur., 2015.). Česta nuspojava je također i debljanje, pa prilikom njihove upotrebe treba obratiti pozornost na tjelesnu masu životinje (Asa, 2018.). Od ostalih nuspojava mogu se izdvojiti inducirana laktacija, promjene ponašanja, cistitis, povraćanje te alergijske reakcije (Kutzler i Wood, 2018.).

Deslorelin nije registriran u kuja, ali vrlo često se koristi za dugoročnu kontracepciju u obliku potkožnog implatanta sa usporenim oslobađanjem. Implanti od 4,7 mg ili 9,4 mg produljuju trajanje interestrusnog razdoblja te suprimiraju estrus do 27 mjeseci neovisno u kojem razdoblju su ugrađeni (England, 2010.). Primjenom deslorelina dolazi do početnog kratkotrajnog porasta rada jajnika koji može potaknuti estrus kod anestrusnih kuja u prva 2 tjedan korištenja. Iz tog razloga potrebno je ženku razdvojiti od mužjaka prvih 3 do 4 tjedana nakon aplikacije implatanta, a također je preporuka svakodnevna upotreba MA tjedan dana prije i tjedan dana poslije implantacije (Wright i sur., 2001.). Navedena nuspojava ovisi o vremenu aplikacije implatanta te je najjače izražena kod aplikacije tijekom anestrusa. Smatra se da je najpovoljnije vrijeme za aplikaciju u diestrusu kada je koncentracija progesterona  $>5\text{ng/ml}$  ili 60 dana nakon ovulacije (Trigg i sur., 2001.). Deslorelin se može učinkovito koristiti za dugotrajnu prevenciju estrusa implatiran u prosječnoj dobi od 4 mjeseca. Na genitalnim organima, grebenu i tjelesnoj težini se ne vide značajne promjene dok je zatvaranje epifize značajno zakašnjelo, ali bez kliničkog učinka (Kaya i sur., 2015.).

Često se koristi i nafarelin u obliku implatanta koji se aplicira u području pupka i uzrokuje supresiju izlučivanja gonadotropina. Može se koristiti kod kuja od 4 mjeseca do 6 godina starosti te sprječava plodnost do 12 mjeseci nakon implantacije. Može se koristiti maksimalno 2 godine. Njegova primjena je ograničena jer se postiže dugo i promjenjivo trajanje kontracepcije, a povratak reproduktivne sposobnosti je varijabilan (2 do 18 tjedana). Također se javljaju poremećaji spolne aktivnosti i ovulacije tijekom prvog razdoblja estrusa od prestanka liječenja kao i vaginitis u kuja pred pubertetom (Fontaine i Fontbonne, 2011.).

Agonisti GnRH predstavljaju prvi izbor za kontracepciju u pasa. Implanti se otpuštaju 6 do 24 mjeseci ovisno o dozi, ali to još uvijek nije zadovoljavajuće. Istražuju se različite mogućnosti putem implatanta ili čipa koji bi trajao više od 5 godina čime bi se omogućila doživotna sterilnost psa (Rhodes, 2016.).

#### 4.5. GnRH antagonisti

GnRH antagonisti kompetitivno blokiraju GnRH receptore čime inhibiraju sekreciju LH i FSH na nivou hipofize i njihovo inhibitorno djelovanje nastupa odmah (Ortman i sur., 2002.). Već unutar 2 sata od primjene dolazi do izrazitog pada koncentracije gonadotropina i steroida (Špoljarić i sur., 2018.).

Potrebne su visoke doze kako bi se inhibirao endogeni GnRH, a stupanj i trajanje supresije ovisi o primjenjenoj dozi. U te svrhe se koristi acilin koji se primjenjuje u ranom proestrusu (<3 dana) te potiskuje estrus tijekom 3 tjedna (Valiente i sur., 2009.). Ako se primjenjuje kod kuja u anestrusu kroz prvih 48 sati od aplikacije može doći do stimulacije jajnika i posljedične ovulacije (Hermo i sur., 2006). Iako je njegova primjena idealna bez nuspojava, ovaj lijek nije registriran za upotrebu zbog potrebnih visokih doza što financijski neprihvatljivo (Gobello, 2012.).

#### 4.6. Imunokontracepcija

Glavna zamisao imunokontracepcije je stvaranje antitijela na određeni antigen koji je važan za reproduktivnu funkciju te čiji će imunološki odgovor sprječavati plodnost (Munks, 2012.). Reproductivno važni antigeni su spolni hormoni poput GnRH, LH, FSH te proteini zone pelucide. Ako se imunološkim odgovorom potisne GnRH, to će rezultirati kočenjem svih ostalih spolnih hormona, uključujući LH, FSH, estradiola i testosterona (Rhodes, 2016.). Kako bi se stvorila protutijela na ove antigene potrebni su različiti adjuvansi i konjugati jer spolni hormoni sami po sebi ne mogu uzrokovati imunološki odgovor. Upravo zbog toga se tkiva koja nisu imunogena konjugiraju sa antigenim proteinima koji će ga prezentirati i time potaknuti snažan imunološki odgovor (Root i sur., 2018.). Primarni problem ove metode je nedostatak antigenih tkiva specifičnih za reprodukciju, ali i strah da će blokirati funkciju tih proteina u netretiranim tkivima. Osim toga, postoji mogućnost produžene upalne reakcije koja može oštetiti okolna tkiva (Briggs, 2013.).

Antigeni mogu biti usmjereni protiv zone pelucide (ZP), glikoproteinske membrane jajne stanice i zametka do kasnog stadija blastociste. ZP štiti jajnu stanicu i zametak tijekom razvoja te omogućava komunikaciju jajne stanice i spermija tokom oplodnje. Sastavljena je od tri glikoproteina pod imenom ZP1, ZP2 i ZP3 (Gorman i sur., 2002.). Spermiji se posebno vežu za ZP3 gdje se podvrgavaju akrosomskoj reakciji što rezultira oslobađanjem enzima koji

omogućuju ulazak sperme i spajanje s oocitom. Ako bi antitijela blokirala ove receptore, jaje bi postalo nepropusno za spermu (Kutzler i Wood, 2006.). Ovime će se postići neplodnost i to bez utjecaja na hormonalnu aktivnost. Cjepivo koje sprječava prodiranje sperme u ZP uspješno se koristi za suzbijanje plodnosti u divljih kopitara, no kod domaćih životinja još nije u potpunosti razjašnjeno (Rhodes, 2016.). Takvo cjepivo je sastavljeno od antigena svinjske zone pellucide što predstavlja problem jer se svinjska ZP razlikuje od pseće dovoljno da bude neučinkovita kod pasa (Purswell i Kolster, 2006.). Ova metoda se ne koristi u svakodnevnoj praksi zbog nesigurne učinkovitosti, a ustanovljeno je da adjuvans u cjepivu može uzrokovati granulomatoznu upalnu reakciju kod pasa na mjestu aplikacije (Root i sur., 2018.).

Antitijela mogu biti usmjerena i protiv GnRH čime se postiže neplodnost tijekom godina. Ova metoda se uspješno koristi u kontroli populacije jelena i divljih kanida u SAD-u te u svrhu kontracepcije mačaka (Bender i sur., 2009.). Problem kod korištenja vakcina protiv GnRH je što je hipofiza bitna za mnogo hormona u tijelu pa postoji mogućnost blokade ostalih bitnih hormona. Također, utvrđeno je da dugotrajna primjena uzrokuje ciste na jajnicima te prestanak rada jajnika (Asa i Agnew, 2015.). U budućnosti se očekuje cjepivo za pse koje bi se koristilo zajedno sa cjepivom protiv bjesnoće, ali za kuje se njegovo korištenje tek istražuje (Bender i sur., 2009.).

U posljednje vrijeme se istražuje upotreba antitijela koja se vežu na LH receptore, što sprječava biološku aktivnost luteinizirajućeg hormona i inhibira fiziološku aktivnost jajnika. Kod kuja se koristi goveđi LH što dovodi do koćenja estrusa tijekom 11 mjeseci s povratkom u normalno stanje nakon pada titra protutijela (Saxena i Perkins, 2002.). Neučinkovit je kod mužjaka te se mora koristiti dodatni antigen koji bi potaknuo imunološki odgovor. Također je upotreba vrlo individualna te ovisi o tome kako će pojedina jedinka reagirati na antigen (Briggs, 2013).

Iako se imunokontracepcija koristi, potrebne su česte *booster* doze što metodu čini nepristupačnom i skupljom. Trenutno se radi na tome da se jednom aplikacijom pripravka titar protutijela održava godinama (Rhodes, 2016.). Istražuju se različite metode kako bi se to postiglo, primjerice korištenje biomaterijala koji bi pulsatorno otpuštao antigen i tako održavao dovoljan titar protutijela ili antigena koji bi se predstavio uz pomoć DNA vakcine. DNA vakcina bi sadržavala gen koji kodira reproduktivni antigen čime bi se dobio snažan imunološki odgovor na duže vrijeme (Samoylova i sur., 2010.).



## 4.7. Kontracepcija u budućnosti

### 4.7.1. Toksini

U svrhu kontracepcije istražuje se mogućnost upotrebe toksina koji bi uništavali ciljne stanice, vrlo slično kemoterapiji. Oni bi se vezali na specifične stanice koje su povezane s reproduktivnom funkcijom. Pročišćeni toksin mora biti vezan za neku transportnu molekulu kako bi mogao doći do ciljne stanice, a ta se transportna stanica mora vezati samo na stanicu koju želimo. Primjerice, povezivanje određenog fragmenta toksina *Pseudomonas aruginosa* koji se veže na FSH receptor, tako da se uništavaju stanice koje imaju FSH receptore, a to su Sertolijeve stanice i granulosa stanice jajnika. Problem je selekcija, odnosno, uništavanje samo ciljnih stanica, ne i drugih tkiva. Nerijetko se receptori za FSH nalaze i u mokraćnom sustavu kod kuja, a samim time može doći do velikih problema u korištenju ove metode (Root, 2012.).

### 4.7.2. Genska terapija

Metoda koja se još istražuje te bi se mogla u budućnosti koristiti za kontracepciju. Temelji se na postojanju male molekule RNA koja bi imala mogućnost vezanja na specifične gene i inhibirala njihovu ekspresiju (Soutschek i sur., 2004.). Kako bi ta molekula uopće imala mogućnost doći do svog cilja, potrebno je koristiti virusni vektor koji cilja peptid koji je potreban za izlučivanje GnRH ( Albers-Wolthers i sur., 2014.). Ova metoda se koristi u humanoj medicini, a u veterinarskoj medicini je poznata terapija za hemofiliju u pasa čime se vraća normalna funkcija zgrušavanja krvi (Niemeyer i sur., 2009.).

## 5. Kontracepcija pasa

GnRH je glavni reproduktivni hormon koji stimulira hipofizu na oslobađanje LH i FSH. Kod pasa LH regulira sintezu testosterona i androgena dok FSH regulira spermatogenezu u sjemenim kanalićima. Testosteron je potreban za spermatogenezu i razvoj sekundarnih spolnih obilježja i karakterističnog ponašanja mužjaka (označavanje teritorija, naskakivanje i agresivnost) (Cergolj i Samardžija, 2006.).

### 5.1. Progestini

Spermatogenezu reguliraju i kontroliraju FSH i LH. Egzogeni progestageni negativnom povratnom spregom inhibiraju otpuštanje GnRH i time ometaju spermatogenezu (England, 2010.). Progestini se u pasa koriste za suzbijanje agresivnog ponašanja koje je uzrokovano testosteronom. Učinak progestina je bolji ukoliko se započnu koristiti prije puberteta. Iako su vrlo djelotvorni u suzbijanju takvog ponašanja, nisu dovoljno učinkoviti u suzbijanju spermatogeneze koja bi spriječila plodnost. Visoke doze MPA omogućuju smanjenje pokretljivosti i broj spermija, ali ne uzrokuju potpunu neplodnost. MA je proizvod registriran za liječenje hiperseksualnosti kod muških pasa, ali ne i u svrhu kontracepcije (Asa, 2018.). Najčešće nuspojave ovih pripravaka su povećani apetit, letargija, nemir, promjene na dlaci u obliku alopecija, promjena boje dlake, te dijabetes mellitus (Knol i Egberink, 1989.).

Primjena MPA supkutano (20 mg/kg) kod pasa uzrokuje kroz 3 dana značajno smanjenje pokretljivosti spermija, utječe na morfologiju i volumen ejakulata. Primjena MPA kod pasa dovodi do adrenokortikalne supresije i kliničkih simptoma poput pojava alopecija, promjena u boji dlake, stanjenja kože i mobilizacije potkožnog masnog tkiva.

### 5.2. Androgeni

Iako progestini nisu učinkoviti u suzbijanju plodnosti, primjenom androgena može se postići supresija LH čime se blokira spermatogeneza (Romagnoli, 2009.). Supkutana primjena testosteron proprionata (0.6 mg/kg) ili testosteron fenilproprionata (1.2 mg/kg) uzrokuje značajni pad pokretljivosti spermija unutar 3 tjedna od aplikacije i traje 90 dana. Svakodnevnom oralnom primjenom metiltestosterona tijekom 90 dana dolazi do smanjenja motiliteta spermija. Proces je reverzibilan i plodnost se vraća unutar 60 dana od završetka liječenja (Shafik, 1994.). Iako se primjena čini bezopasnim, postoji mogućnost od tumora prostate i povećanog libida (Asa i Agnew, 2015.).

### 5.3. Prolaktin

Kod pasa, povećana koncentracija prolaktina kao posljedica adenoma hipofize uzrokuje smanjenje broja spermija (oligospermija) ili potpuni nedostatak spermija (azoospermija) što se može iskoristiti kod kontracepcije. Intramuskularna primjena egzogenog prolaktina (600 mg/kg jednom tjedno kroz 6 mjeseci) uzrokuje ozbiljnu asthenozoospermiju, teratozoospermiju i oligospermiju ili azospermiju unutar 6 tjedana tretmana. Broj spermija se vraća na normalne vrijednosti kroz 3 mjeseca nakon prestanka liječenja. Koncentracije LH, FSH i testosterona ne mijenjaju se značajno nakon primjene prolaktina. Prolaktin nema utjecaja na koncentraciju hormona negativnom povratnom spregom već djeluje izravno na testise (England, 2010.).

### 5.4. GnRH agonisti

Deslorelin djeluje kao i kod kuja, odnosno svojim visokim koncentracijama uzrokuje desenzibilizaciju receptora hipofize na GnRH te Leydigovih stanica na LH (Junaidi i sur., 2007.). Registriran je za upotrebu kod pasa i namijenjen sprječavanju plodnosti i suzbijanju libida. Dostupan je kao 6-mjesečni ( 4,7 mg) ili 12-mjesečni ( 9,4 mg) potkožni implantant (Briggs, 2013.). Koristi se u zdravih, spolno zrelih mužjaka čime se zaustavlja proizvodnja sperme, smanjuje sjemeni tekućina, libido te seksualno ponašanje. Implantant se aplicira subkutano u kožni nabor leđa između donjeg dijela vrata i lumbalne regije gdje polagano i kontinuirano otpušta dozu deslorelina. Deslorelin snižava koncentraciju LH i testosterona u plazmi. Pas se ponaša kao da je kastriran čitavo vrijeme aktivnosti pripravka (Romagnoli, 2009.). Nakon implantacije potrebno je 2 do 3 tjedna da se upotpuni učinak implantata (Junaidi i sur., 2007.). Aplikacija se može ponoviti svakih 6 mjeseci ili kada dođe do povećanja testisa jer implantat više nije u funkciji (Heimendahl, 2010.). Povratak normalne spolne aktivnosti primjenom deslorelina od 4,7 mg se ne može točno odrediti, ali kod većine pasa plodnost se ponovo vrati 18 mjeseci od implantacije. Primjena implantata prije puberteta nije istražena te je preporuka aplicirati implantat nakon završetka puberteta (Trigg i sur., 2004.).

Deslorelin se koristi i kod pasa sa benignom hiperplazijom prostate jer uzrokuje značajno smanjenje prostate. Volumen prostate može se smanjiti 2 do 5 puta u 4 do 5 tjedana nakon početka liječenja i to bez obzira na korišteni agonist (Fontaine i Fontbonne, 2011.).

Na početku liječenja, dolazi do početne stimulacije steroida kojom dolazi do kratkotrajnog pojačanog lučenja testosterona, što kod ljudi uzrokuje pojačanu bol u kostima od metastatskog tumora i stimulira njegov rast (England, 2010.). Također, mogu se pojaviti promjene na dlaci u vidu alopecija, urinarna inkontinencija te smanjenje testisa. Moguća je i pojava pojačanog

seksualnog interesa te bol u testisima odmah nakon implantacije. Ovi simptomi prolaze bez terapije (Trigg i sur., 2001.). Na kraju, deslorelin je potpuno siguran za dugotrajnu primjenu i reverzibilnu kontrolu plodnosti u pasa (Junaidi i sur., 2003.).

Vickery (1985) navodi da nafarelin kod pasa u dozi od 2 ug/kg dnevno smanji razinu testosterona unutar 3 tjedna, a normalna plodnost se vrati unutar 8 tjedana, ali njegova primjena je još uvijek nedovoljno istražena.

Buserelin je novi GnRH agonist koji kod pasa implatantom od 3,3 mg uzrokuje supresiju testosterona i spermatogeneze na 6 do 12 mjeseci. U bliskoj budućnosti očekuje i njegova primjena u svakodnevnoj praksi (Root i sur., 2018.).

## 5.5. Antagonisti GnRH

GnRH antagonisti kompetitivno blokiraju GnRH receptore čime uzrokuju neplodnost, ali ne uzrokuju početno povećanje koncentracija steroida. Jednom potkožnom primjenom acilina se smanji kvaliteta spermija i poremeti spermatogeneza na 2 mjeseca bez hematoloških, biokemijskih, lokalih ili sistemskih nuspojava (Valiente i sur., 2007.). Ograničavajući čimbenik njihove upotrebe je vrlo kratki učinak te potreba za čestim tretmanima u visokim dozama pripravka (Gobello, 2012.).

Tablica 3. Prikaz pripravaka za kontracepciju i način njihove primjene (Preuzeto iz: England, 2010.).

| LIJEK                             | NAČIN PRIMJENE |
|-----------------------------------|----------------|
| <b>Progestini</b>                 |                |
| <i>Megestrole acetat</i>          | Oralno         |
| <i>Medroxyprogesterone acetat</i> | Oralno, i.m.   |
| <i>Melengestrol acetat</i>        | Implatant      |
| <b>GnRH analozi</b>               |                |
| <i>Deslorelin</i>                 | Implatant      |
| <i>Leuprolid acetat</i>           | i.m.           |
| <b>Kemijska sterilizacija</b>     |                |
| <i>Bisdiamin WIN</i>              | Oral           |

## 5.6. Imunokontracepcija

GnRH, LH i spermatozoidi su idealne ciljne stanice za imunokontracepciju. Titar protutijela protiv navedenih hormona omogućuje suzbijanje reproduktivnog ponašanja, sinteze i izlučivanja gonadotropina i steroidnih hormona. Protutijela usmjerena protiv LH omogućuju smanjenje koncentracije testosterona u serumu, a protutijela protiv spermija sprječavaju oplodnju. Kako bi to bilo moguće, mora se proizvesti proizvod koji je dostupan svima, učinkovit u visokom postotku te ima brzo djelovanje. Tijelo GnRH ne prepoznaje kao stranu česticu te se imunološki odgovor ne može pokrenuti. Zato se GnRH mora konjugirati sa antigenim proteinima sastavljenih od psećeg GnRH i pomoćne čestice koja potječe iz nekog virusa. To bi potaknulo jaku imunološku reakciju te rezultiralo gubitkom funkcije testisa (Ferro i Mordini, 2004.). Australaska kompanija je napravila cjepivo protiv GnRH koji potisne proizvodnju testosterona u svrhu liječenja benigne hipertrofije u pasa. Takvo cjepivo je utjecalo na smanjenje prostate u muških životinja te smanjilo plodnost životinje, ali nikada nije dobilo odobrenje za takvu upotrebu (Jung i sur., 2005.).

Spermiji su izvrsne ciljne stanice jer ih tijelo prepoznaje kao strane čestice tako da se postiže jaka imunološka reakcija. No, u cjepivu se ne može koristiti cijeli spermatozoid jer dijeli antigene sa još nekoliko somatskih stanica (Briggs, 2013). Cilj je pronaći proteine koji se nalaze samo u spermi i nigdje drugdje u tijelu. Iz sperme su izolirani laktat dehidrogenaza i akrosin kao dva glavna spermijska antigena, ali do danas imunizacija nije zadovoljavajuća (Naz, 2005.).

## 5.7. Genska terapija

Jednako kao i kod kuja, mora postojati mala RNA koja će inhibirati androgenu ekspresiju u testisima što će onemogućiti normalno funkcioniranje testisa. Na taj način će se inhibirati i proizvodnja sperme (Roesl i sur., 2016.).

## 5.8. Kemijska kastracija

Intratestikularna, intraepididimalna ili intravaskularna injekcija *ductusa deferensa* predstavljaju novi pristup muškoj kontracepciji. Kemijskom kastracijom se zadržava proizvodnja testosterona te se ne oštećuje tkivo testisa. Tehnika je vrlo jeftina, jednostavna i prikladna za veliku upotrebu u programima sterilizacije. Injekcija Freundovog adjuvansa ili bacila *Calmette Guerin* direktno u testise potiče lokalnu upalnu reakciju što uzrokuje

oligospermiju ili azospermiju bez stvaranja granuloma ili razvoja protutijela sperme. Neplodnost se javlja unutar 6 tjedana i traje nekoliko mjeseci. Ukoliko se FCA ili BCG apliciraju u visokom dozama, dolazi do teške granulomatozne reakcije. Intratestikularno se može primjeniti i deksametazon, niridazol, metopiron koji uzrokuju atrofiju testisa i epididimisa te azospermiju (Briggs, 2013.).

Za intratestikularnu injekciju upotrebljava se cink arginin koji se koristi samo kod pasa u predpubertetu (3 do 12 mjeseci starosti) sa testisima širine 10 do 27 mm (Anon, 2003.). Cink se aplicira u oba testisa, a nakon aplikacije u prvih par dana može doći do otekline i osjetljivosti testisa, ali i stvaranja ulkusa te fistula (Root i sur., 2014.). Iznimno je važna precizna aplikacija jer injekcija u ne ciljane tkiva mogu dovesti do teških oštećenja. Za aplikaciju lijeka potrebna je sedacija, lijek je skup tako da je njegova primjena ograničena (Tepsumethanon i sur., 2005.). Često se koristi i kalcijev klorid koji uzrokuje atrofiju tkiva testisa te nema opaženih štetnih učinaka osim povećanje testisa prva 24 sata koje se smanjuje u sljedeća 3 tjedna (Jana i Samanta, 2007.).

Cink arginin se koristi i za aplikaciju u epididimis gdje uzrokuje azospermiju unutar 90 dana od aplikacije. Može se aplicirati i 3,5% otopina formalina zajedno sa fiziološkom otopinom puferiranom sa fosfatima ili klorheksidinom što također uzrokuje azospermiju sa sekundarnom atrofijom testisa. Ukoliko se aplicira samo klorheksidin, postiže se azospermija od 90 dana. Ovaj tretman ne uzrokuje bol nakon aplikacije, no može doći do povećanja testisa unutar prvih 24 sata te trajati 7 do 15 dana. Također je moguća pojave ulceracija, dermatitisa, povraćanja, proljeva te anoreksije (Fahim i sur., 1993.).

U *ductus deferens* se mogu aplicirati kemijska sredstva, primjerice srebrov nitrat, kalijev permanganat, etanol ili formaldehid koji imaju jednaki učinak kao i intraepididimalna aplikacija (England, 2010.).

## 5.9. Reproductivni toksini

Budućnost predstavlja upotreba reproduktivnih toksina koji moraju biti usmjereni samo na ciljane stanice (spermatozoide). Kako bi to bilo moguće toksin mora biti povezan za transportnu molekulu koja će ga dovesti do cilja. Mora postojati receptor za koji će se vezati, te sigurnost da će se vezati samo na receptore koji trebaju biti napadnuti, dok druge stanice i tkiva moraju ostati netaknuti (Rhodes, 2010.). Nakon injekcije toksina dolazi do smanjenja testosterona i LH,

samim time i smanjenja testisa u narednih 5 do 6 mjeseci (Sabeur i sur., 2003.). U istraživanjima se razmatra više mogućnosti, a jedna od njih je primjena *Pseudomonas aeruginosa* egzotoksina koji se veže na FSH receptore čime se uništavaju stanice koje se vežu na FSH (Root, 2012.). Toksini koji se razmatraju za korištenje u kontracepciji pasa su ketokonazol, embelin i alfaklorhidrin. Ketokonazol djeluje spermatostatski i unutar 24 sata od primjene smanji pokretljivost spermija i koncentraciju testosterona. Primjenom visokih doza javljaju se problemi od strane gastrointestinalnog sustava, a ujedno je i hepatotoksičan. Slični učinci se dobivaju primjenom imidazola kod pasa, ali bez neugodnih nuspojava gastrointestinalnog sustava te nije hepatotoksičan (Root i sur., 2018.).

## 6. Zaključci

1. Progestini i androgeni najčešće se primjenjuju za privremenu sterilizaciju kuja, ali negativne karakteristike i nedostupnost proizvoda ograničavaju upotrebu;
2. Progestini su vrlo učinkoviti u kuja, ali se moraju koristiti tijekom anestrusa ;
3. Progestini se koriste kod pasa za sprječavanje agresivnog ponašanja, ali ne i u svrhu kontracepcije;
4. Agonisti GnRH predstavljaju prvi izbor za kontracepciju kuja i muških rasplodnjaka;
5. Budućnost kontracepcije kuja i pasa predstavlja upotreba toksina koji napadaju ciljne stanice reproduktivnog sustava i na taj način smanjuju plodnost.



## 7. Literatura

1. ALBERS-WOLTHERS, K. H., J. DE GIER, H. S. KOOISTRA, V. P. RUTTEN, P. J. VAN KOOTEN, J. J. DE GRAAF, A. C. SCHAEFERS-OKKENS (2014): Identification of a novel kisspeptin with high gonadotrophin stimulatory activity in the dog. *Neuroendocrinology* 99, 178–189.
2. ANON, (2003): FDA approves first injectable solution for dog sterilization. *FDA Consumer*, 3, 37.
3. ASA, C., M. AGNEW (2015): Contraception. *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine*, 8, 735–739.
4. ASA, C. S. (2018): Contraception in Dogs and Cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 48, 733–742.
5. ASPINALL, V. (2004): *Anatomy and Physiology of the Dog and Cat II. The Male Reproductive System*, 200-204.
6. BEIJERINK, N. J., S. F. BHATTI, A. C. OKKENS (2007): Adenohypophyseal function in bitches treated with medroxyprogesterone acetate. *Domest. Anim. Endocrinol.* 32, 63-78.
7. BENDER, S.C., D. L. BERGMAN, K. M. MILLER, D. SLATE, F. R. JACKSON, C. E. RUPPRECHT, (2009): No adverse effects of simultaneous vaccination with the immunocontraceptive GonaCon and a commercial rabies vaccine on rabies virus neutralizing anti body production in dogs. *Vacc.* 27, 7210–7213.
8. BLYTHE, L. L., J. R. GANNON, A. M. CRAIG (2007): *Endocrine glands, hormones and the reproductive system. U: Care of the racing and retired greyhound. Topeka, Kansas: Hall Commercial Printing* 73-161.
9. BORGES, P., E. FONTAINE, C. MAENHOUDT (2015): Fertility in adult bitches previously treated with a 4.7 mg subcutaneous deslorelin implant. *Reprod. Domest. Anim.* 50, 71-965.
10. BRIGGS, J. (2013): *Contraception and Fertility in Dogs and Cats. Odabrana poglavlja. Alliance for Contraception in Cats and Dogs, USA.* 17-19; 23-55.
11. CATHEY, M., M. A. MEMON (2010): Nonsurgical methods of contraception in dogs and cats: Where are we now? *Vet. Med.* 105, 12–17.
12. CERGOLJ, M., M. SAMARDŽIJA (2006): *Fiziologija reprodukcije rasplodnjaka. U: Veterinarska andrologija, Medicinska naklada, Zagreb*, 15-34.

13. CHAPWANYA, A., T. CLEGG, P. STANLEY, L. VAUGHAN (2008): Comparison of the Immulite and RIA assay methods for measuring peripheral blood progesterone levels in Greyhound bitches. *Theriogenology*, 70, 795-799.
14. CHEN, S. R., Y. X. LIU (2015): Regulation of spermatogonial stem cell self-renewal and spermatocyte meiosis by Sertoli cell signaling, *Reproduction* 149, 159-167.
15. CLARKE, I. J., L. ARBABI (2016): New concepts of the central control of reproduction, integrating influence of stress, metabolic state, and season. *Domest. Anim. Endocrinol.* 56, 165-179.
16. CONCANNON, P. W. (2011): Reproductive cycles of the domestic bitch, *Anim. Reprod. Sci.* 124, 200-210.
17. ENGLAND, G. W. (2010): The reproductive cycle. U: *BSAVA Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology II. Edition* (England, G. W., A. V. Heimendahl, eds.), UK, BSAVA, 1-44.
18. FAHIM, M. S., M. WANG, M. F. SUTCU (1993): Sterilization of dogs with intra-epididymal injection of zinc arginine. *Contraception* 47, 22-107.
19. FERRO, V. A., E. MORDINI (2004): Peptide vaccines in immunocontraception. *Curr. Opin. Mol. Ther. Feb.*, 6, 9-83.
20. FOLNOŽIĆ, I., T. KARADJOLE, G. BAČIĆ, N. MAĆEŠIĆ, M. KARADJOLE, M. SAMARDŽIJA, I. GETZ (2009): Vaginoskopija kuja. *Vet. stn.* 40, 27-36.
21. FONTAINE, E., A. FONTBONNE (2011): Clinical use of GnRH agonists in canine and feline species. *Reprod. Dom. Anim.* 46, 344–353.
22. GINTHER, O. J. (2016): The theory of follicle selection in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 57, 85-99.
23. GOBELLO, C. (2012): Effects of GnRH antagonists versus agonists in domestic carnivores. Paper presented at: 7th Quadrennial International Symposium on Canine and Feline Reproduction, Whistler, BC, Canada.
24. GORMAN, S. P., J. K. LEVY, A. L. HAMPTON, W. R. COLLANTE, A. L. HARRIS, R. G. BROWN (2002): Evaluation of a porcine zona pellucida vaccine for the immunocontraception of domestic kittens (*Felis catus*). *Theriogenology* 58, 135-149.
25. GRISWOLD, M. D. (2016): Spermatogenesis: The Commitment to Meiosis. *Physiol. Rev.*, Washington, 96, 1-17.
26. HAPGOOD, J. P., D. KOUBOVEC, A. LOUW (2004): Not all progestins are the same: implications for usage. *Trends. Pharmacol. Sci.* 25, 7-554.

27. HERBST, K. L., (2003): Gonadotropin-releasing hormone antagonist. *Curr. Opin. Pharmacol.* 3, 1-7.
28. HERMO, G., Y. CORRADA, D. ARIAS (2006): Failure of a single GnRH antagonist administration to prevent estrous induction by a GnRH agonist implant in anestrous bitches. *Proceedings of the World Small Animal Association (WSAVA)*. October, 11-14., Prague, Czech Republic, 22.
29. HUGHES, C. K., J. L. PATE (2019): Luteolysis and the Corpus Luteum of pregnancy. *The Ovary*, 269-292.
30. HUNTER, M. G., R. S. ROBINSON, G. E. MANN, R. WEBB (2004): Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83, 461-477.
31. JANA, K., P. K. SAMANTA (2007): Sterilization of male stray dogs with a single intratesticular injection of calcium chloride: a dose dependent study. *Contraception*, May, 75, 390-400.
32. JUNAIDI, A., P. E. WILLIAMSON, J. M. CUMMINS, G. B. MARTIN, M. A. BLACKBERRY, T. E. TRIGG (2003): Use of a new drug delivery formulation of the gonadotrophin-releasing hormone analogue Deslorelin for reversible long-term contraception in male dogs. *Reprod. Fertil. Dev.* 15, 317-322.
33. JUNAIDI, A., P. WILLIAMSON, G. MARTIN (2007): Pituitary and testicular endocrine responses to exogenous gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and luteinising hormone in male dogs treated with GnRH agonist implants. *Reprod. Fertil. Dev.* 19, 8-891.
34. JUNG, M. J., Y. C. MOON, I. H. CHO (2005): Induction of castration by immunization of male dogs with recombinant gonadotropin releasing hormone (GnRH)-canine distemper virus (CDV) T helper cell epitope P35. *J. Vet. Sci.* 6, 21-24.
35. KAYA, D., S. SCHAFER-SOMI, B. KURT, M. KURU, S. KAYA, C. KACAR, S. ASLAN (2015): Clinical use of deslorelin implants for the long-term contraception in prepubertal bitches: Effects on epiphyseal closure, body development, and time to puberty. *Theriogenology* 83, 1147–1153.
36. KIM, K. S., O. KIM (2005): Cystic endometrial hyperplasia and endometritis in a dog following prolonged treatment of medroxyprogesterone acetate. *J. Vet. Sci.* 6, 81–82.
37. KNOL, B. W., S. T. EGBERINK-ALINK (1989): Treatment of problem behavior in dogs and cats by castration and progestagen administration: a review. *Vet. Q.* 11, 7-102.
38. KUTZLER, M., A. WOOD (2006): Non-surgical methods of contraception and sterilization. *Theriogenology* 66, 514-525.

39. MAX, A., P. JURKA, A. DOBROZYNSKI (2014): Non-surgical contraception in female dogs and cats. *Acta. Sci. Pol. Zootechnica* 13, 3-18.
40. MAX, A., P. JURKA (2006): Skutki uboczne stosowania gestagenów u psów i kotów [Adverse effects after administration of gestagens in dogs and cats]. *Med. Weter.* 62, 508–511.
41. MUNKS M.W. (2012): Progress in development of immunocontraceptive vaccines for permanent non-surgical sterilization of cats and dogs. *Reprod. Dom. Anim.* 47, 223–227.
42. NAZ, R. K. (2005): Contraceptive vaccines. *Drugs*, 65, 593-603, Toledo, Ohio.
43. NIEMEYER, G. P., R. HERZOG, J. MOUNT (2009): Long term correction of inhibitor prone hemophilia B dogs treated with liver-directed AAV2 mediated factor IX gene therapy. *Blood* 113, 797–806.
44. ORTMANN, O., J. WEISS, K. DIEDRICH (2002): Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and GnRH agonists: mechanisms of action. *Reprod. BioMed. Online* 5, 1–7.
45. PAPICH, M. G. (2016): Megestrol Acetate. *Saunders Handbook of Veterinary Drugs*, 7, 23.
46. PATE, J.L. (2018): Lutelysis. U: *Encyclopedia of Reproduction* (Knobil, E., J. D. Neill, eds.), Academic Press, 106-113.
47. PURSWELL, B. J., K. A. KOLSTER (2006): Immunocontraception in companion animals. *Theriogenology* 66, 3-510.
48. PLUMB, D.C. (2011): *Plumb's Veterinary Drug handbook*. 7th ed. Stockholm, WI: PharmVet Inc.
49. PLUMB, D.C. (2002): *Veterinary drug handbook*, 4th edition. Ames (IA): Iowa State, University Press, 45-65.
50. RHODES, L. (2010): Targeted delivery of cytotoxins for sterilization of cats and dogs. *Proceedings of 4th International Symposium on Non-Surgical Methods of Pet Population Control*, Dallas, Texas. 56
51. RHODES, L. (2016): New approaches to non-surgical sterilization for dogs and cats: Opportunities and challenges. *Reprod. Dom. Anim.* 52, 327–331.
52. ROBINSON, B., D. E. NOAKES (2019): *Basic Physiology*. U: *Veterinary Reproduction and Obstetrics* (Noakes D., T. J. Parkinson, G. C. W. England, eds.), 10 th edition, Elsevier, England, 13-20.
53. ROESL, C., N. JEFFERY, S. E. SMITH (2016): Single injection sterility via lentiviral-mediated suppression of androgen receptors in Sertoli cells. *Proceedings of 8th*

- International Symposium on Canine and Feline Reproduction ISCFR-EVSSAR, June 22-25. 2016.Paris, France. 80.
54. ROMAGNOLI, S. (2009): Non-surgical contraception in dogs and cats. Proceeding of 34th Congress of the World Small Animal Veterinary Association, July 21-24, 2009. Sao Paulo, Brazil, 7.
  55. ROOT KUSTRITZ, M. V. (2012): Use of an impact score to guide client decision-making about timing of spay-castration of dogs and cats. *Clin. Ther.*, 4, 5-481.
  56. ROOT KUSTRITZ, M. V., J. BRAZZELL, J. SWANSON (2014): Histopathologic changes in testes three days after administration of zinc gluconate neutralized with arginine as an intratesticular injection for contraception. *Clin. Ther.*, 3, 9-473.
  57. ROOT KUSTRITZ, M. V. (2018): Population Control in Small Animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Anim. Pract.* 48, 721–732.
  58. SABEUR, K., B. A. BALL, T. M. NETT (2003): Effect of GnRH conjugated to pokeweed antiviral protein on reproductive function in adult male dogs. *Reproduction* 125, 6-801.
  59. SAMOYLOVA, T., A. COCHRAN, A. SAMOYLOV, N. COX (2010): Landscape phage-peptide constructs for low-cost immunocontraception. *Proceedings of the 4th International Symposium on Non-Surgical Methods of Pet Population Control*, April, 2010. Dallas, Texas. 48.
  60. SAXENA A., S. PERKINS (2002): Modulation of ovarian function in female dogs immunized with bovine luteinizing hormone receptor. *Reprod. Dom. Anim.* 37, 9–17.
  61. SELMAN, P. J., J. WOLFSWINKEL, J. A. MOL (1996): Binding specificity of medroxyprogesterone acetate and proligestone for the progesterone and glucocorticoid receptor in the dog. *Steroids* 61, 7-133.
  62. SHAFIK, A. (1994): Prolactin injection, a new contraceptive method: experimental study. *Contraception* 50, 191-199.
  63. SOUTSCHEK, J., A. AKINC, B. BRAMLAGE (2004): Therapeutic silencing of an endogenous gene by systemic administration of modified siRNAs. *Nature* 432, 173–178.
  64. ŠPOLJARIĆ, B., D. SVODOBA, S. VINCE, J. GRIZELJ, D. ŠPOLJARIĆ, I. STOLIĆ, , M. POPOVIĆ, I. FOLNOŽIĆ (2018): Farmakološke metode indukcije pobačaja u kuja. *Veterinarska stanica.* 49, 441-453.
  65. TEPSUMETHANON, V., H. WILDE, T. HEMACHUDHA (2005): Intratesticular injection of a balanced zinc solution for permanent sterilization of dogs. *J. Med. Assoc. Thai.* 88, 686–9.

66. TRIGG, T. E., P. J. WRIGHT, A. F. ARMOUR (2001): Use of a GnRH analogue implant to produce reversible long-term suppression of reproductive function in male and female domestic dogs. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 57, 61-255.
67. TRIGG, T. E., A. G. DOYLE, J. D. WALSH (2004): Advances in the use of the GnRH agonist deslorelin in control of reproduction. *Proceedings of the 5th international symposium on canine and feline reproduction*. August 4-6, 2004. Ambu das Artes, Brazil. 49-51.
68. VALIENTE, C., Y. CORRADA, P. E. DE LA SOTA, P. G. GEREZ, C. GOBELLO (2007): Effect of the GnRH antagonist, acyline, on canine testicular characteristics. *Theriogenology* 68, 687-692.
69. VALIENTE, C., J. DIAZ, D. ROSA (2009): Effect of a GnRH antagonist on GnRH agonist implanted anoestrous bitches. *Theriogenology* 71, 9-926.
70. VERSTEGEN-ONCLIN, K., J. VERSTEGEN (2008): Endocrinology of pregnancy in the dog: A review. *Theriogenology* 70, 291-299.
71. VICKERY, B. H. G. I. MCRAE, W. V. BRIONES (1985): Dose-response studies on male reproductive parameters in dogs with nafarelin acetate, a potent LHRH agonist. *Journal of Andrology*. 6, 53-60.
72. VON HEIMENDAHL, A. (2010): Clinical use of Suprelorin to control fertility in male dogs. *Proceedings of the 7th EVSSAR Congress-Symposium Deslorelin/Deslorelin in Practice*. May 14-15, 2010. Louvain-La-Neuve, Belgium. 6.
73. WEEMS, C. W., Y. S. WEEMS, R. D. RANDEL (2006): Prostaglandins and reproduction in female farm animals, *The Veterinary Journal*, 171 (2), 206-228.
74. WOAD, K. J., R. S. ROBINSON (2016): Luteal angiogenesis and its control, *Theriogenology*, 86, 221-228.
75. WRIGHT, P. J., J. P. VERSTEGEN, K. ONCLIN (2001): Suppression of the oestrous responses of bitches to the GnRH analogue deslorelin by progestin. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 57, 8-263.
76. YU, E.N., J. J. WINNICK, D. S. EDGERTON (2016): Hepatic and whole body insulin metabolism during proestrus and estrus in mongrel dogs. *Comp Med*, 66, 40-235.

## 8. Sažetak

Veterinari često preporučuju kiruršku kastraciju za kontrolu populacije kod pasa i mačaka. Međutim, postoje nekirurške metode za kontrolu reprodukcije. Farmakološke metode kontracepcije i kastracije su sigurne, pouzdane i reverzibilne. U tu svrhu primjenjuju se progestini i androgeni, koji djeluju da negativnom povratnom spregom sprječavaju izlučivanje GnRH, odnosno FSH i LH. Isto tako primjenjuju se GnRH agonisti i antagonisti koji se vežu na receptore hipofize i na taj način uzrokuju supresiju gonadotropina, odnosno kompetitivno blokiraju GnRH receptore čime inhibiraju sekreciju LH i FSH na nivou hipofize i njihovo inhibitorno djelovanje nastupa odmah. U primjeni je još i imunokontracepcija dok se značajna istraživanja provode na razvoju kontracepcije i kastracije primjenom reproduktivnih toksina te genske terapije.

Ključne riječi: kontracepcija, kastracija, kuja, pas,

## **9. Summary**

### **Contraception in bitch and dog**

Veterinarians often recommend surgical castration for population control in dogs and cats. However, there are non-surgical methods to control reproduction. Pharmacological methods for contraception and castration are safe, reliable and reversible. For this purpose, are used progestins and androgens, which inhibit the secretion of GnRH, that is, FSH and LH, by negative feedback. GnRH agonists and antagonists that bind to the pituitary receptors are also used, and that way causing suppression of gonadotropins, competitively blocking GnRH receptors, whereby inhibiting the secretion of LH and FSH at the pituitary level and their inhibitory action occurs immediately. Immunocontraception is also in use, while significant research is being conducted on the development of contraception and castration using reproductive toxins and gene therapy.

Keywords: contraception, castration, bitch, dog



## **10. Životopis**

Rođena sam 06. kolovoza 1994. u Zagrebu gdje sam završila "OŠ Medvedgrad". Obrazovanje sam nastavila u X. gimnaziji "Ivan Supek" koju sam završila 2013. godine, a iste te godine upisujem Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu čime ispunjujem svoju želju iz djetinjstva. Tijekom studija radila sam mnoge studentske poslove te sam volontirala u ambulanti za male životinje "Morna" gdje sam imala prilike učiti i istraživati područja veterinarske medicine koja su me najviše zanimala. Veterinarsku praksu odrađivala sam u ambulanti "Buba" gdje sam također stekla mnoga znanja. Tijekom studija su me najviše interesirala područja iz porodništva i reprodukcije životinja te sam time vođena izabrala ovaj diplomski rad.