



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Департман за ветеринарску
медицину



Софија Милић

дипломирани ветеринар

ЦИТОПАТОЛОШКИ НАЛАЗ БРИСА ЦЕРВИКСА И
ЕНДОМЕТРИЈУМА СТАРИЈИХ КАСАЧКИХ КОБИЛА

МАСТЕР РАД

Нови Сад, 2022.



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**

**Департман за ветеринарску
медицину**



Кандидат:

Софија Милић

Ментор:

проф. др Ивана Давидов

**ЦИТОПАТОЛОШКИ НАЛАЗ БРИСА ЦЕРВИКСА И
ЕНДОМЕТРИЈУМА СТАРИЈИХ КАСАЧКИХ КОБИЛА**

МАСТЕР РАД

Нови Сад, 2022.

КОМИСИЈА ЗА ОЦЕНУ И ОДБРАНУ

МАСТЕР РАДА

др Ивана Давидов, ван. проф.- ментор

за ужу научну област Патологија

Пољопривредни факултет, Нови Сад

Депарتمان за ветеринарску медицину

др Иван Станчић, ред. проф.- председник комисије

за ужу научну област Репродукција животиња

Пољопривредни факултет, Нови Сад

Депарتمان за ветеринарску медицину

др Михајло Ердељан, доцент- члан

за ужу научну област Болести животиња и хигијена анималних производа

Пољопривредни факултет, Нови Сад

Депарتمان за ветеринарску медицину

ЦИТОПАТОЛОШКИ НАЛАЗ БРИСА ЦЕРВИКСА И ЕНДОМЕТРИЈУМА СТАРИЈИХ КАСАЧКИХ КОБИЛА

Садржај:

1. Увод	1
2. Преглед литературе	2
2.1. Еволуција коња и историјат коњичког спорта	2
2.2. Анатомија и физиологија полних органа кобила	4
2.3. Хистологија репродуктивних органа	10
2.4. Ендокринологија репродукције	11
2.5. Репродукција коња	18
2.6. Запаљења ендометријума	20
2.7. Дијагностичке методе	21
3. Задатак и циљ рада	23
4. Материјал и метод рада	24
5. Резултати са дискусијом	27
6. Закључак	31
7. Литература	32

ЦИТОПАТОЛОШКИ НАЛАЗ БРИСА ЕНДОМЕТРИЈУМА И ЦЕРВИКСА СТАРИЈИХ КАСАЧКИХ КОБИЛА

Софија Милић

Резиме

Истраживање је спроведено у периоду еструса кобила тј. у фебруару месецу 2021. године. Кобилама је прво урађена трансректална палпација, а затим ултразвучни преглед репродуктивних органа, ради утврђивања постојања патолошких промена и присуства течност у материци. Ултразвучни преглед је урађен и због поређења ултразвучног налаза са цитопатолошким налазима бриса цервикса (n=30) и бриса ендометријума (n=30). Узорци брисева цервикса и ендометријума су бојени Diff Quick методом. Присуство полиморфонуклераних леукоцита у узорцима бриса цервикса и ендометријума кобила указује на степен промена у датом ткиву.

Кључне речи: цитопатологија, цервикс, ендометријум, старије кобиле

CYTOPATHOLOGICAL FINDING OF CERVICAL AND ENDOMETRIAL SWABS IN OLDER MAIDEN TROTTER BREED MARE

Sofija Milić

Summary

The research was conducted in the period of estrus of mares, ie. in February 2021. The mares were first given transrectal palpation, and then an ultrasound examination of the reproductive organs, in order to determine the existence of pathological changes and the presence of fluid in the uterus. Ultrasound examination was performed to compare the ultrasound findings with cytopathological findings of cervical swabs (n = 30) and endometrial swabs (n = 30). Samples of cervical and endometrial swabs were stained by Diff Quick method. The presence of polymorphonuclear leukocytes in cervical and endometrial swabs of mares indicates the degree of changes in a given tissue.

Key words: cytopathology, cervix, endometrium, old maiden mare

1. УВОД

Коњички спорт је скуп спортских дисциплина које су се развиле од давнина, када је дошло до повезивања људи и коња. Променом услова и начина савременог живота човека измењена је и употреба самих коња у савременом свету. Некада је он био главна радна снага у пољопривреди, а данас се коњ највише гаји ради спортских такмичења. У целом свету нагло се повећава број коња за рекреационо јахање или се они једноставно држе као љубимци.

Приплодна вредност кобиле мери се редовним ждребљењима и квалитетом ждребади коју производи. У ком узрасту ће спортске кобиле бити приплођене зависи у првом реду од распореда трка и спортских турнира, али не пре 4. или 5. године живота. Малу плодност условљава читав низ фактора као дуг еструс, грешке у припусту, разна патоморфолошка стања полних органа (афункција јајника, тихи еструс, оваријалне цисте, ендометритиси, тежак рад, старост, слаба и дефицитарна исхрана, ендопаразити, грешке у држању, недовољна хигијена и др). Пролазно запаљење материце након приплода, нормална је физиолошка реакција кобиле и верује се да је инфламаторни одговор неопходан за уклањање бактерија и вишка сперматозоида унетих у лумен материце. Потребно је 24-36 сати код репродуктивно здраве кобиле, за решавање упале изазване приплодом, док је субпопулација кобила подложна развоју трајне инфекције која може утицати на плодност. Неуспех механизма одбране материце да елиминишу антигене (бактерије и/или вишак сперматозоида) и запаљенске производе из материце доводи до перзистентног ендометритиса, који је главни узрок субфертилности код приплодних кобила.

Субклинички ендометритис настаје интеракцијом патогених узрочника и имунолошког одговора материце, а најчешћи патогени узрочници су аеробне бактерије. Међутим, изолација бактерија није увек показатељ ендометритиса и обрнуто, ако се не изолују бактерије не значи да не постоји субклинички ендометритис. Зато је циљ овог рада да се утврди учесталост промена у ендометријуму и цервиксу старијих касачких кобила и

да се утврди да ли постоји или не субклинички ендометритис који узрокује поремећаје у репродукцији кобила.

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

Коњи су племените животиње, које када се повежу са власником постају одани самом власнику и дозвољавају му да им приђе чак и у периоду када се кобила ождреби и док одгаја ждребе. Управо због њихове оданости и племенитости, људи сматрају да је коња Бог подарио да служи човеку. Арапи верују да је коња Бог створио тако што је узео прегршт ветра и удахнуо му живот. По Библији, коњ је дар човеку као одраз Божије милости. Наравно ово су народна предања, али као и што човек прође свој еволуциони развој тако је и коњ морао проћи много еволуционих периода како би постао оно што је данас.

2.1. ЕВОЛУЦИЈА КОЊА И ИСТОРИЈАТ КОЊИЧКОГ СПОРТА

Најстарији предак коња био је *Eohippus*, који је живио пре 75 милиона година, био је висок 35-37 цм и био је тежак око 5 кг. Имао је пет прстију и очи на средини главе. Пре 25 милиона година његовом еволуциом настао је *Mesohippus*, који је био висок око 45 цм, имао је снажно зубало и три прста, а његов начин живота условио је повећање његове телесне масе, што се одразило на његовом наследнику *Merihippus*-у. Пре 6 милиона година еволуциом настаје отац савременог коња *Pliohippus*, који је био идентичне грађе као и данашњи коњ, али знатно нижи (негде око 125 цм). Био је присутан на свим деловима Земље, сем у Аустралији. Коњ каквог данас познајемо *Equus caballus* се појавио 5 милиона година касније. Води порекло од европског дивљег коња *Equus Przewalskii Silvaticus* и евроазијског дивљег коња *Equus Przewalskii Poliakov*. У то време, људима су коњи били занимљиви али као храна, што је условило да се на појединим местима дивљи коњи истребе.

Први контакт коња и људи био је у виду ловца и ловине, јер су их људи ловили ради исхране. Временом људи су приметили да коње сем за храну могу да користе и у друге сврхе, што је условило еволуцијом самих људи. Постоје тврдње да су коње припитомили Амерички урођеници пре око 12-15 хиљада година, али се о овоме мало зна, мада се сматра да су прва припитомљавања настала при крају Неолита на поросторима Евро-Азије.

Коњи су се кроз историју користили највише у време ратова и освајања, а открићем точка и за превоз хране и других добара. Такође, користили су се првенствено у пољопривреди, а касније и у запрегама при превозу људи. Напредком пољопривреде коњи су се постепено замењивали тракторима, па је њихова употреба, а самим тим и број самих коња смањен. Данас се коњи користе искључиво у рекреационе сврхе у виду парада, олимпијада, разних трка, али и даље у неприступачним пределима користе се за вучу балвана, али у врло малом броју.

Коњички спортови су један вид испитивања радних способности коња. Коњи се међусобно такмиче зависно од расе и врсте спорта где учествују, а за приплод се користе само они са најбољим резултатима. Данас постоји око 110 чланова Међународне коњичке федерације (FEI).

Историја дресуре протеже се све до античке Грчке. Као највиши ниво тренинга коња, сматра се уметност јахачког спорта, која се користи као основа за све сталe дисциплине. Стари Грци су пре више од две хиљаде година приметили да неопходна потпуна хармонија међу јахача и коња, уколико желе да обоје преживе битку. Способност коња да се брзо креће са једне на другу страну, прелазак у галоп или нагла промена правца се сматрају најважнијим особинама коња. Са дресуром коња креће се још док је ждребе како би се привикао на власника, потом се уводи јахање, а касније се коњ учи многим покретима, нпр. прескакању препона или посебном облику кретања.

Трке коња се одржавају на хиподрумима на малим раздаљинама, где се разликују галопске трке и трке касача. Коњи који се најчешће користе за ову врсту трка су Енглески пунокрвњаци. Они трче у различитим категоријама: двогодци или трогодци, што зависи од старости. Галопске трке јашу цокеји који имају само један циљ да јашу само право и што брже. Трке касача су са посебним расама коња, који су природно

предиспонирани да иду касом што брже. Ове трке се састоје од тога што се коњ упреже на лагана колица у којима возач седи и управља коња.

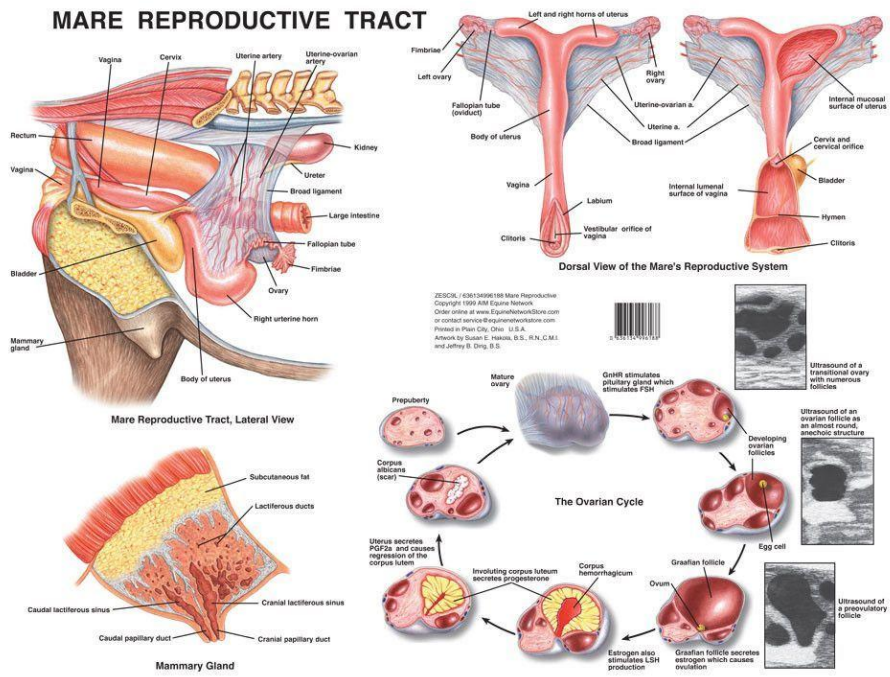
2.2. АНАТОМИЈА И ФИЗИОЛОГИЈА ПОЛНИХ ОРГАНА КОБИЛА

Кобиле су сезонски полиестричне животиње, а приплодна сезона на нашој географској ширини траје од фебруара до септембра. Еструсни циклус кобиле траје 18 до 28 дана, понекад и 40 дана. С обзиром на трајање еструсног циклуса, разликује се:

- а) нормални еструсни циклус од 22 дана са распасаношћу 5 до 7 дана,
- б) скраћени циклус од 18 дана и распасаношћу од 3 дана, и
- в) продужени циклус од 28 и више дана са распасаношћу од 10 дана (Станчић и Веселиновић, 2002).

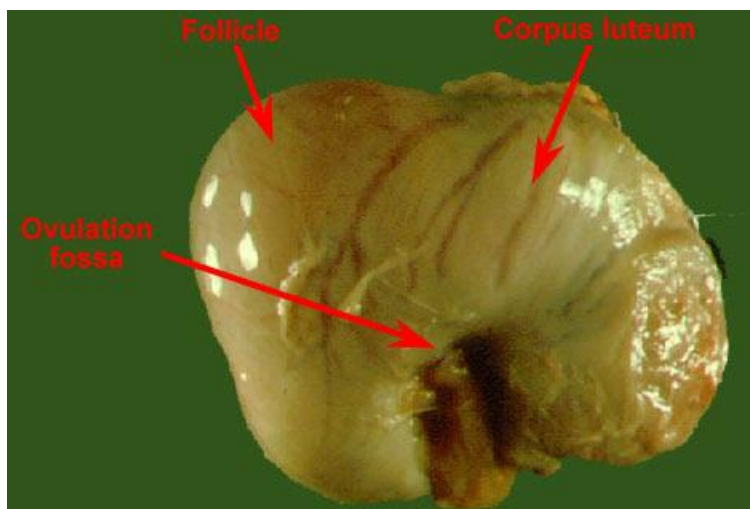
Женски репродуктивни систем кобиле (слика 1) састоји се од два јајника, два јајовода, материце, вагине и спољашњих гениталних органа. Функција му је да производи женске полне ћелије, гамете (овоците, јајне ћелије) и да одржи оплођену јајну ћелију за време њеног комплетног развоја од ембрионалне и феталне фазе до рођења.

Овај систем, такође продукује полне хормоне, који контролишу функцију органа репродуктивног система, а утичу и на друге органе у телу.



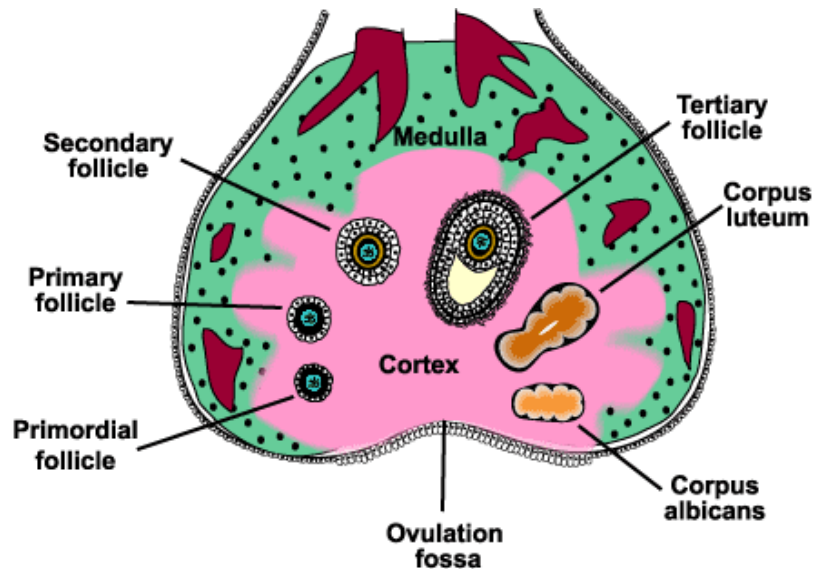
Слика 1. Репродуктивни систем кобиле

Јајници кобиле имају облик бубрега, зрна боба или пасуља, дужине су 4-8,5 цм, ширине 2,5-4 цм (слика 2). Тежина појединог јајника износи 40-80 грама, а њихов облик и величина се знатно мењају с обзиром на године живота и цикличне промене. Обично су величине кестена до кокошијег јајета. Леви јајник је по правилу нешто већи и тежи од десног.



Слика 2. Грађа јаника кобиле

Јајници су причвршћени са *lig. suspensorium* за лумбалну мускулатуру, а преко *lig. proprium* су повезани са јајоводом и материчним рогом. Јајници су покривени серозом, висцералним перитонеумом изузев *fossae ovulationis* коју покрива клицин епител. *Fossa ovulationis* је мало удубљење површине 0,5-2,0 cm^2 и у њој долази до овулације и изливања фоликуларне течности. Јајници кобиле се разликују од јајника других животиња грађом и распоредом ткивних слојева (слика 3). Паренхим јајника (*zona follicularis*) се налази централно у средини, око овулационе јамице, а не периферно као у краве и других женки, и у њему се налазе фоликули у различитој фази развића (Пејић, 2000).



Слика 3. Унутрашња грађа јајника кобиле

Јајници, женске полне жлезде имају двоструку репродуктивну улогу: циклусно ослобађају зреле јајне ћелије (*ovulae*) и излучују у крв женске полне хормоне естроген и прогестерон. Ова двојна улога јајника полно зреле женке је под контролом хипофизе која излучује гонадотропне хормоне FSH и LH који регулишу функцију јајника. Под утицајем FSH настаје раст и сазревање јајничког фоликула, а под утицајем LH настаје овулација и ослобађање зреле јајне ћелије. У фоликулу јајника (*theca interna*) ствара се и излучује у крв естроген (фоликулин) који изазива полни жар и припрему женке за парење. Овулација настаје на врхунцу полног жара, а на месту прснутог фоликула ствара се жуто тело (*corpus luteum*) које излучује у крв други женски хормон прогестерон, одговоран за припрему ендометријума, прихватање оплођене јајне ћелије (зигота) и одржавање гравидитета. У колико није дошло до гравидитета жуто тело регресира под утицајем простагландина из ендометријума и еструсни циклус се обнавља (Станчић и Веселиновић, 2002).

Јајоводи су дужине 25-30 цм, дебљине стабљике траве или пшенице, вијугавог су тока и леже у дупликутури серозе месосалпинксу који са *lig. ovarii proprium* образује *bursa ovarica*. Део јајовода према јајнику је ампуласто проширен и завршава левкастим проширењем – *infundibulum tubae uterinae* и отвором *ostium tubae abdominalis*, кроз који улази јајна ћелија после овулације, а део према материци је сужен (*isthmus*). На месту

уливања у врх материчног рога дистални врх јајовода има мало конусно узвишење – *papilla sa ostium tubae uterinae* баш испод четвртог лумбалног пршљена.

Материца кобиле је дворога (*uterus bicornis*), мекане конзистенције, телом лежи на дну карлице и рачва се у два матерична рога који су повијени као срп са испупчењем на доле и дивергирају у правцу јајника. Тело материце је дужине 10-12 цм и ширине 5 – 10 цм и лежи у висини *aperture pelvis cranialis*. Дужина материчних рогова износи 25 – 35 цм. Тело материце је спљоштено дорзо – вентрално и налаже на дорзални зид мокраћне бешике, а *cornua uteri* од места бифуркације дивергирају према јајницима и имају облик лука или српа са вентралним конвекситетом. Негравидна материца тежи 500 – 1.000 гр зависно од старости и расе, а облик, величина и положај јој зависе од степена гравидитета и садржаја. Врх материчног рога је заобљен и наставља се у јајовод. Материца не може да се помера лако као у краве, јер су матерични рогови кобиле причвршћени месоовариумом за бубреге. Слузокожа материце се знатно разликује од слузокоже материце преживара јер нема карункула, због чега је глатка и у гравидних кобила изгледа баршунаста као сомот. Покровни епител ендометријума састоји се из једног реда високих, призматичних и трепљастих ћелија. Материчне жлездице су бројне, цевасте и изувијане, а жлездане ћелије имају исти облик као и покровне ћелије епитела. У негравидних кобила *endometrium* лучи простагландин, ткивни хормон, који лизира периодична жута тела и индукује еструс, а у гравидних 40-120 дана серумски гонадотропин (СЖК – серум ждребних кобила) у тзв. ендометријалним чашицама.

Матерични грлић (*cervix*) дужине је 6-8 цм, дебљине 2-4 цм и проминира 3-5 цм у вагину као *potio vaginalis uteri* у облику кугле или чепа и овлаш је затворен. Ваљкастог је облика и знатно мекши него у краве, али затвара *uterus* према вагини. Цервикални канал је прав и може се лако отворити прстима, нарочито у гравидних кобила. Његова слузокожа прави уздужне наборе, али не и кружне тако да се катетером може увек ући у лумен материце. Његов *orificium uteri externum* је режњевитог изгледа (матерична уста) и чини радијарне наборе тзв. *plicae palmatae*. Цервикс није ригидан, у току гравидитета је затворен слузним гравидитетним чепом. Има централну позицију у *fornix vaginae*. Цервикс је веома важан орган, спонтано се отвара под дејством хормона за 2-3 прста у

време еструса и лучи естралну слуз, али знатно је више отборен у току абортуса или ждребљења.

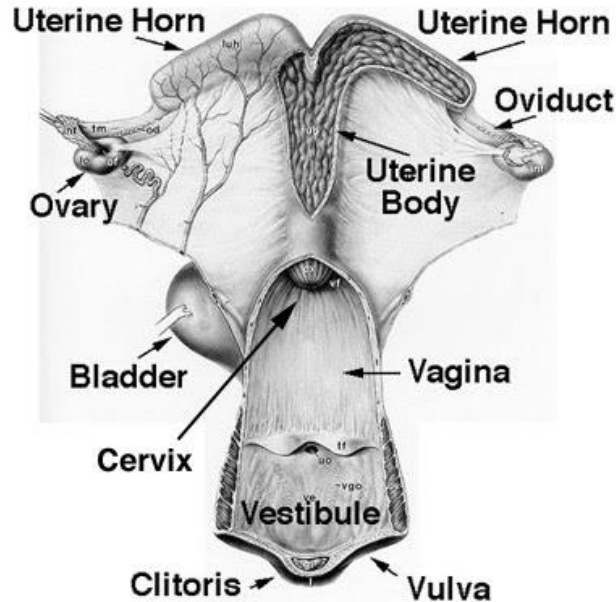
Вагина је дугачка 30–40 цм као цев спљоштена са стране, обложена је кутаном слузокожом и појачана мускуларним слојем и паравагиналним везивним ткивом. Кранијално је засвођена *fornix*-ом вагине и комуницира са утерусом преко цервикса. У средини *fornix*-а изнад и испод *portio vaginalis uteri* пружа се карактеристичан сагитално положен вагинални набор дужине 3–5 цм. Каудално вагина се сужава и наставља у вестибулум. Граница између вагине и вестибулума је изражена сужењем *intruitus* вагине. У женског ждребета полни отвор је у виду набора слузокоже вагине – *hymen*, а у младе кобиле, омице у виду полумесечастог набора. У старије кобиле *hymen* није приметан. Слузокожа вагине је наборана и испод ње се налазе бројни крвни судови, који су мање или више изражени зависно од фазе естралног циклуса. Отвор мокраћног изводника, *urethra* вентрално је на самој граници вагине и вестибулума, а *diverticulum suburhetralis* не постоји као у краве (Станчић и Веселиновић, 2002).

Vestibulum vaginae или предворје вагине, чини две петине укупне дужине копулаторног тракта кобиле, тј. 8-16 цм. Слузокожа *vestibulum*-а је богата крвним судовима, ружичасте је боје и наборана. На вентралном зиду налазе се обострано у два реда подељени изливни отвори малих вестибуларних жлезда (*gll. vestibulares minores*). Осам до десет отвора великих вестибуларних жлезда (Бартолиниеве жлезде) леже обострано на дорзалном зиду. Осим тога испод слузокоже вестибулума налазе се још два кавернозна тела дужине 6–8 цм који чине *clitoris* (дражица).

Vulva или полни отвор, полне усне је одвојена испод ануса *perineum*-ом и сачињена је од добро развијених *labia* са горњом и доњом комисуром (*comissurae labiae vulvae*). Горња комисура је сужена, а доња заобљена. Спољашња кожа *vulve* је пигментисана, поседује fine длачице, знојне и лојне жлезде, док унутрашња која прелази у слузокожу је танка и без жлездица. Полни отвор кобиле је вертикалан и дужине 6–8 цм. Копулаторни органи кобиле су: *vagina*, *vestibulum* и *vulva*.

Clitoris или дражица се састоји из 2 кавернозна тела дужине 6 -8 цм и дебљине око 2 цм. Његова површина је неравна, а слузокожа чини уздужно удубљење и округао набор. *Glans clitoridis*, слободни део покривен је слузокожом мраморираног изгледа, а у

средини се налази мало удубљење. *Glans klitoris* има добро изражено кавернозно тело на излазу из *vestibulum*-а у вентралној комисури (Станчић и Веселиновић, 2002).



Слика 4. Анатомска грађа репродуктивних органа кобиле

Полне органе кобиле снабдевају крвљу три парне артерије: *a. spermatica interna* која настаје из аорте у висини четвртог лумбалног пршљена и дели се на *ramus ovaricus* и *ramus uterinus (a. uterine cranialis)*, *a. uterina media* која обично настаје од *a. iliace externa* или *a. circumflexa ilium profunda* или *a. hypogastrica* и *a. uterina caudalis* која настаје из *a. haemorrhoidalis*. Све три обостране артерије међусобно анастомозирају и обилно доводе крв у гениталне органе кобиле. Искоришћену крв из полних органа одводе три парне истоимене вене, које су у току ждробности још више проширене него артерије нарочито у зиду *vaginae* и *vestibulum*-а.

Лимфни судови гениталних органа воде ка карличним и леђним лимфним чворовима. То су *lymphonodus sacrales* и *lymphonodi iliacaе mediales*, који се палпирају преко ректума.

Нерви полних органа кобиле потичу од *plexus spermaticus*-а и *plexus hypogastricus*-а. Копулаторни органи садрже такође и огранке *plexus sacralis*-а. У зиду материце постоје

и аутономна, вегетативна нервна средишта која се састоје од великих нервних ћелија и нервних влакана смештених испод ткива и између великих крвних судова, тако да је инервација полних органа веома разграната и богата (Станчић и Веселиновић, 2002).

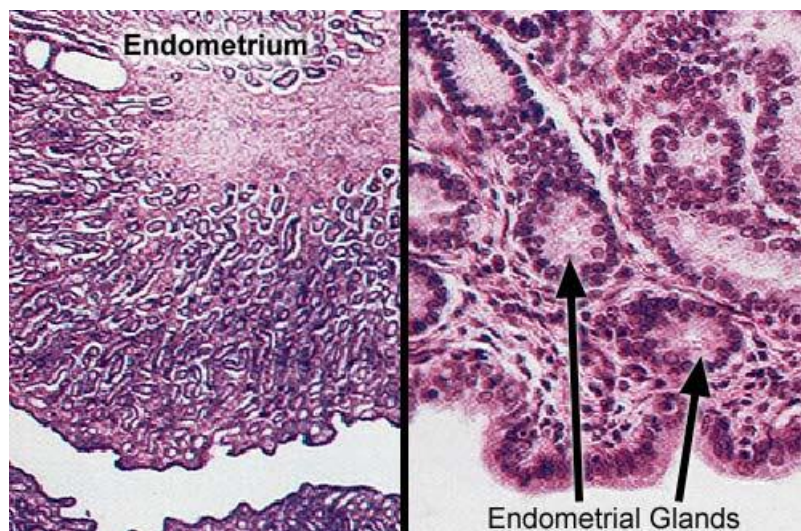
2.3. ХИСТОЛОГИЈА РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНА

Зид материце је релативно дебео и чине га три слоја. Зависно од дела материце, споља се налази или сероза (везивно ткиво и мезотел) или адвентициа (везивно ткиво). Остали слојеви материце су миометријум, дебели слој глатких мишићних ћелија и ендометријум, слузница материце.

Muometrium најдебљи слој материце, састављен је од снопова глатких мишићних ћелија одвојених везивним ткивом. Снопови глатких мишићних ћелија формирају четири неоштро ограничена слоја. У првом и четвртом слоју глатке мишићне ћелије усмерене су углавном лонгитудинално, тј. паралелно са дужом осом материце. Средњи слојеви садрже велике крвне судове. За време гравидитета, миометријум пролази кроз период интензивног раста који је резултат и хиперплазије (повећање броја глатких мишићних ћелија) и хипертрофије (повећање раста ћелије). За време гравидитета, многе глатке мишићне ћелије синтетишу колаген, па се његова количина у материци знатно повећава. После гравидитета, неке глатке мишићне ћелије пропадају, друге се смањују, а ензими разграђују колаген. Због тога се материца смањује скоро до величине коју је имала пре гравидитета.

Endometrium се састоји од епитела и ламине проприје која садржи просте тубуларне жлезде, које се понекад гранају у својим дугим деловима близу миометријума (слика 5). Његов епител је прост, цилиндричан и чине га ћелије са трепљама и секреторне ћелије. Епител жлезда материце сличан је површном епителу, али су трепљасте ћелије у њему ретке. Везивно ткиво ламине проприје богато је фибробластима и садржи велику количину основне супстанце. Везивна влакна су углавном састављена од колагена типа III. Ендометријум се може поделити у две зоне; (1) *stratum basale*, дубљи слој који се налази уз миометријум и садржи ламину проприју и доње делове жлезда материце, (2) *stratum functionale*, који садржи остале делове ламине проприје и жлезда, као и површни

епител. Док функционални подлеже дубоким променама за време менструационог циклуса, базални остаје углавном непромењен. Начин васкуларизације ендометријума има посебно значење за периодично одбацивање његовог највећег дела. *Arteriae arcuatae* теку на периферији средњих слојева миометријума. Од њих се одвајају две врсте артерија за васкуларизацију ендометријума: праве артерије које исхрањују *stratum basale* и спиралне артерије које доводе крв у *stratum functionalae*.



Слика 5. Хистолошка грађа ендометријума кобила

2.4. ЕНДОКРИНОЛОГИЈА РЕПРОДУКЦИЈЕ

Све репродуктивне функције животиња су контролисане деловањем сложених неуроендокриних механизма на осовини централни нервни систем – хипоталамус – хипофиза – гонаде (јајници или тестиси). Стимулуси из спољашње средине и унутрашњости организма се, преко централног нервног система, преносе до хипоталамуса и/или хипофизе и утичу на њихову секреторну активност. Како су хипоталамус и хипофиза централни ендокрини органи, то су и репродуктивне функције подвргнуте снажном утицају спољашњих фактора (светло, мирис, звук, стрес, исхрана, токсини, итд.).

Хипоталамус представља мождану масу дна и бочних страна треће мождане коморе. У њему се налазе неуросекреторни нуклеуси у којима се налазе неуросекреторне ћелије. Ове ћелије хипоталамуса синтетишу ослобађајуће и инхибирајуће хормоне за хормоне аденохипофизе. Ћелије паравентрикуларног нуклеуса синтетишу васопресин (адиуретин) и окситоцин, који се, путем неуросекреторних влакана ових ћелија, допремају до ћелија неурохипофизе, где се депонују и одакле се излучују у телесни крвоток. Неуросекреторне ћелије имају способност секреције, преношења секрета до хипофизе, као и способност примања и преношења нервних надражаја.

Хипофиза је централна ендокрина жлезда. Налази се на бази мозга, причвршћена за дно треће мождане коморе својом петељком (инфудибулум). Хипофиза је подељена на предњи (*adenohypophisa*), средњи (*pars intermedia*) и задњи режањ (*neurohypophisa*). Предњи режањ синтетише и излучује следеће хормоне: FSH (фоликулостимулирајући хормон), LH (лутеинизирајући хормон), LTH (лутеотропни хормон или пролактин), TSH (тиреостимулирајући хормон), СТН (соматотропни хормон) и АСТН (адренкортикотропни хормон). Средњи режањ синтетише хормон меланотропин. У неурохипофизи се само депонују и из ње излучују васопресин и окситоцин. Њихову синтезу врше неуросекреторне ћелије паравентрикуларног нуклеуса хипоталамуса.

Ослобађајући (*releasing*) хормони хипоталамуса (*Gn-Rh*) се, путем неуросекреторних влакана, из нуклеуса хипоталамуса, убацују у хипоталамо-хипофизарни портални крвоток, који директно комуницира са ћелијама аденохипофизе. Тако се избегава да се ови хормони убаце у велики крвоток, где би се разредили, него најближим путем, али преко крви, доспевају до ћелија аденохипофизе, где стимулишу ослобађање појединих хормона у телесну циркулацију. Једино за пролактин (LTH) постоји инхибирајући хормон (PIN) у супраоптичком нуклеусу хипоталамуса.

Хормони су специфичне биохемијске супстанце, које се синтетишу и директно у крв излучују из специјалних жлезда (ендокрине или жлезде са унутрашњим лучењем). Путем крви, хормони доспевају до одређених циљних (таргет) органа или ткива, чију функцију контролишу. Неке основне особине хормона су: излучују се у малим количинама, делују у кратком временском периоду, различите хемијске структуре, делују само на одређене органе или ткива, усмеравају и контролишу биохемијске

функције, без промене енергетског нивоа хемијске реакције, за разлику од фермената, на пример. Постоји неколико типова хормона, према месту где се синтетишу, хемијским својствима и реакцијама које изазивају.

Основне репродуктивне функције су: полно сазревање (постизање пубертета), еструсни циклус, осемењавање и оплодња (фертилизација), гравидност, партус, лактација, продукција сперме и полно понашање. Све ове функције су контролисане деловањем примарних хормона репродукције. У ову групу хормона спадају сви они хормони који директно регулишу полне функције, односно чији циљни (таргет) органи и ткива припадају женском или мушком репродуктивном тракту. Сви остали хормони се, са становишта репродукције, убрајају у групу секундарних хормона репродукције. Јер, ови хормони не регулишу директно репродуктивне функције, него, регулацијом функције других органа, стварају нормално физиолошко стање организма и, тиме, стварају опште предуслове за нормално одвијање репродуктивних функција.

У репродуктивној ендокринологији постоје три основна типа хормона:

1. *Gonadotropin releasing hormone* (GnRh). Пореклом су из хипоталамуса, а контролишу синтезу и/или ослобађање хормона из аденохипофизе (предњи режањ).
2. Гонадотропни хормони могу бити пореклом из аденохипофизе (хипофизарни гонадотропини) или из плаценте (плацентални гонадотропини). Они директно регулишу функцију полних жлезда (гонада), тј. јајника или тестиса. То значи да регулишу продукцију и сазревање полних ћелија (гамета), тј. ооцита или сперматозоида и секрецију женских (естрогени и прогестини) и мушких (андрогени) полних хормона.
3. Полне (стероидне) хормоне синтетишу их и излучују мушке или женске гонаде (тестис или овариум). Контролишу раст и развој репродуктивних органа, регулишу одвијање еструсног циклуса, оплодње, гравидности, партуса, сперматогенезе и манифестацију секундарних полних карактеристика и полног понашања.

Гонадотропни хормони или гонадотропини су хормони који регулишу функцију мушких и женских гонада, тј. полних жлезда (овариума и тестиса). Према месту синтезе, деле се на хипофизарне и плаценталне гонадотропине. Хипофизарни гонадотропини (FSH, LH и LTH или пролактин) се синтетише у ћелијама предњег режња хипофизе (аденохипофиза), а плаценталне гонадотропине синтетише плацента кобиле (eCG) или примата, укључујући и човека (hCG).

FSH (фоликостимулирајући хормон) је гликопротеин, кога синтетишу ћелије аденохипофизе, а под деловањем ослобађајућег хормона из хипоталамуса (FSH-Rh), излучује се у телесни крвоток. FSH контролише раст и развој антралних оваријалних фоликула и стимулише синтезу естрогена у ћелијама теке интерне зида ових фоликула. Код мушких животиња, FSH контролише процес сперматогенезе у семеним каналићима тестиса. Овај хормон не изазива овулацију, лутеинизацију нити стимулише интерстицијално ткиво јајника.

LH (лутеинизирајући хормон) је, такође, гликопротеин, кога синтетишу ћелије аденохипофизе, а под утицајем ослобађајућег хормона из хипоталамуса (LH-Rh), излучује се у телесни крвоток. Овулаторни (тонични) талас LH изазива: (1) коначно сазревање јајне ћелије у предовулаторном фоликулу (завршетак прве и наставак друге мејотичке деобе нуклеуса, до метафазе, у ком стадијуму јајна ћелија доспева у јајовод) и (2) покреће процесе синтезе протеолитичких фермената у ћелијама теке интерне зида фоликула, што доводи до аутодигестије фоликуларног зида и стварања отвора на фоликуларном зиду, на који начин јајна ћелија, са фоликуларном течношћу, излази из фоликула и доспева у јајовод. Овај процес се назива овулација. Код неких животиња (крава, крмача) стимулише лутеинизацију овулираних фоликула и синтезу прогестерона у лутеалним ћелијама жутог тела. Код мушких животиња, LH контролише синтезу андрогена (тестостерона) у Лајдиговим ћелијама тестиса.

LTH (лутеотропни хормон) или пролактин је протеин, доста дугачког ланца аминокиселина. Основна улога овог хормона је стимулација синтезе млека у секреторним ћелијама млечне алвеоле вимена, стимулација лутеалне функције код неких животиња (пацов, миш и, вероватно, овца), као и стимулација физиолошких активности вољке у птица. LTH се синтетише у ћелијама аденохипофизе, а његово

излучивање у телесну циркулацију контролише PИH (пролактин инхибирајући хормон) из хипоталамуса.

ECG (*equine chorionic gonadotropin*) или хорионски гонадотропин ждребне кобиле (по ранијој номенклатури, овај хормон се називао *pregnant mare serum gonadotropin* – PMSG), синтетишу специјалневоревине слузокоже гравидне материце (ендометријалне купе). У крви кобиле се јавља после 40. дана гестације, а максималну концентрацију достиже између 60. и 65. дана. После тога, концентрација eCG у крвном серуму почиње да опада, да би око 170. дана гестације, концентрација овог хормона била незнатна. ECG је протеин, доста дугачког ланца аминокиселина. Код кобиле, eCG стимулише раст и лутеинизацију фоликула. На тај начин се, на јајнику гравидне кобиле, формира неколико тзв. акцесорних (секундарних) жутих тела, која настављају са продукцијом прогестерона, пошто примарно жуто тело, настало после овулације у фертилном еструсу, регресира око 2 месеца после овулације, тј. оплодње.

HCG (*human chorionic gonadotropin*) или људски хорионски гонадотропин, се излучује из хориона жене и других врста примата, у врло раној гравидности. У мокраћи гравидне жене се може установити већ после 3. недеље гестације (због тога се детекција овог хормона, у мокраћи, користи за рану дијагнозу гравидности). По хемијском саставу је протеин, али скоро дупло мање молекулске тежине од eCG. Код примата има улогу одржавања функције гравидитетног жутог тела (синтеза прогестерона).

Полне хормоне синтетишу мушке (*testis*) и женске (*ovarium*) полне жлезде, као и плацента. Ови хормони су, по хемијској грађи, стероиди, јер језгро њихових молекула чини цикло-пентано-перхидро фенантрен, састављен од 3 повезана шесточлана и једног петочланог прстена. За ове прстенове су везани специфичне активне групе (тзв. радикали), по којима се разликују поједини полни хормони и од којих зависи њихово специфично физиолошко деловање. Због тога се ови хормони називају и полни стероиди. Сви полни хормони се налазе у организму оба пола, само што код мушких животиња преовлађује концентрација мушких полних хормона (андрогена), а код женских животиња преовлађује концентрација женских полних хормона (естрогена и прогестерона).

Мушки полни хормони (андрогени) се синтетишу у Leydig-овим ћелијама тестиса. Међу андрогенима су најактивнији тестостерон и андростерон. Ритам синтезе и инкреције андрогена је контролисан деловањем хипофизарног ЛН.

Основне физиолошке функције андрогена су: (1) стимулација процеса сперматогенезе, (2) одржавање нормалног трајања живота сперматозоида у епидидимису, (3) контрола, развој и секреторна активност аксесорних полних жлезда, (4) стимулација развоја и испољавања секундарних полних ознака мужјака, (5) стимулација испољавања специфичног полног понашања и либида мужјака и (6) регулација анаболичких процеса у организму.

Женски полни хормони су естроген и прогестерон. Синтетишу се у функционалним структурама јајника (антралним фоликулима и жутим телима).

Естрогени (естроген, естрадиол, естрон, естриол) се синтетишу у ћелијама *teke interne* зида терцијалног (антралног) фоликула јајника. Синтеза и инкреција естрогена је контролисана деловањем хипофизарних FSH и ЛН, али је и ослобађање ових гонадотропина из аденохипофизе, повратном везом, контролисано деловањем естрогена. Естрадиол испољава највећи степен физиолошке активности, која се огледа у следећем: (1) стимулише раст утеруса, што резултира увећањем масе ендометријума и миометријума, као резултат стимулације митотичких деоба ћелија, тј. повећањем њиховог броја (хиперплазија) и увећањем ћелија (хипертрофија), (2) поспешује развој епитела вагине, (3) стимулише развој мишићног слоја јајовода и контрактилну активност мишићних влакана, (4) стимулише раст и развој каналикуларног система млечне жлезде, (5) контролише морфолошке и физиолошке промене на полним органима, током еструсног циклуса, (6) стимулише развој и испољавање секундарних полних ознака женке и (7) доводи до испољавања специфичних промена понашања женке у еструсу (узнемиреност, рефлекс стајања итд.).

Прогестини (прогестагени) се синтетишу у лутеинским ћелијама жутог тела (*corpus luteum*). Прогестерон је најактивнији прогестин у организму. Синтетише га и плацента неких животиња (нпр. преживара). Синтеза овог хормона, или барем њен почетак, контролисан је хипофизарним ЛН. Код неких животиња (миш, пацов, овца), одржавање секреције прогестерона у жутом телу, контролише ЛТН (пролактин). Физиолошка

активност прогестерона је доста компликована, и увек је у садејству са естрогеном. Уопште се може рећи да је деловање естрогена пролиферативно, док прогестерон делује на морфолошку и функционалну (секреторну) активност појединих (таргетних) ткива. Основне физиолошке функције прогестерона су: (1) стимулише развој секреторног (жлезданог) дела ендометријума и контролише секреторну активност ових жлезда, које су, претходно, сензибилисане естрогеном, (2) инхибира контракције мишићних влакана миометријума, јер их десензибилише на дејство окситоцина, (3) стимулише раст и развој млечних алвеола вимена, (4) неопходан је за успостављање и одржавање нормалног тока гравидности и (5) код неких животиња (нпр, овца), прогестерон, у садејству са естрогеном, стимулише испољавање специфичних промена понашања у еструсу (рефлекс стајања).

Релаксин синтетишу лутеалне ћелије гравидитетног жутог тела (*corpus luteum graviditatis*), плацента и, вероватно, ткиво јајника неких животиња. Основне функције релаксина су: (1) размекшава и шири синфизу пелвис, код порођаја, (2) релаксира и шири грлић материце код порођаја, (3) заједно са естрогеном, стимулише раст утеруса и (4) поспешује развој млечне жлезде, у садејству са естрогеном и прогестероном.

Из ћелија неурохипофизе (задњи режањ хипофизе) се, у телесни крвоток, излучују два хормона: окситоцин и вазопресин (адиуретин). Оба хормона се синтетишу у неуросекреторним ћелијама паравентрикуларног нуклеуса хипоталамуса, а неуросекреторним влакнима ових ћелија се допремају у ћелије неурохипофизе, где се депонују и чувају до момента излучивања у крвоток. Сигнал за излучивање долази из спољашње или унутрашње средине организма, преко коре великог мозга, аферентним нервним влакнима, до неуросекреторних ћелија хипоталамуса. Овај нервни садржај се, неуросекреторним влакнима, преноси до ћелија неурохипофизе, које реагују излучивањем окситоцина или васопресина. За физиологију репродукције је важан окситоцин.

Окситоцин је октапептид (пептидни ланац састављен од 8 аминокиселина). Основне физиолошке функције окситоцина су: (1) стимулација контракција глаткомишићних влакана миометриума и (2) стимулација контракција глаткомишићних влакана (тзв. миоепителне или корпасте ћелије) у зиду млечне алвеоле. Важно је знати да су

мишићна влакна миометриума осетљива на окситоцин, само ако су, претходно, сензибилисана деловањем естрогена (Станчић, 2014).

2.5. РЕПРОДУКЦИЈА КОЊА

Када је у питању избор кобиле за приплод, потребно је обратити пажњу на изглед, педигре, старост, нарав и здравље кобиле. Мање здравствених проблема имаће кобиле које су старе 3-12 година.

Што се тиче изгледа, добра грађа скелета је од великог значаја. Кобила са добрим и снажним костима има већу шансу да ојдреби здраво ждребе способно да добро трчи. Брзина, издржљивост и физичка конституција су углавном наследне особине. Кобила мора поседовати грађу тела која је неопходна за добре и издашне ходове. Правилна грађа подразумева правилне ставове предњих и задњих ногу, одговарајућу дужину и мишићавост надколеница, дубоке, простране и мишићаве груди. Такође, величина и облик копита играју важну улогу јер они коњи са ужим и плићим копитама могу имати потешкоће у балансирању. Касачи обично бирају мање грациозне кобиле, са већом и тежом главом и дужим ушима јер су многе од таквих кобила дале изванредно брзе коње.

Педигре се сматра најреалнијим индикатором брзине и тркачких способности младог коња. Педигреи где су сви преци добро трчали и постигли велике брзине указују на природну склоност ка добрим и ефикасним ходовима, тј. на велику вероватноћу да ће и потомак, по брзини, бити негде у рангу предака.

Међутим, селекција тркачких коња је знатно више усмерена на такмичарске, а много мање на репродуктивне способности. Спортске кобиле почињу са репродуктивним животом доста касно, са просечно 7 година старости (Пејић, 2000).

Што се тиче нарави, мирна и интелигентна кобила је најцењенија, док нервозне и кобиле које се лако узбуђују могу да буду врло неугодне, па чак и опасне у време пред ждребљење.

Посебно битан фактор је здравље кобиле, јер болесна кобила захтева сталну ветеринарску негу, трошкове око лечења и врло тешко остаје жребна. С тога пре припуста кобиле, треба обавити преглед њене крви као и преглед општег здравственог стања. Пре самог чина припуштања пастува, кобила се мора детаљно прегледати да би се утврдило њено здравствено стање, као и релевантни подаци о репродукцији (последње ждребљење, број жребади...).

Откривање еструса је врло важан поступак у технологији репродукције коња. Само прецизно откривен почетак еструса, обезбеђује дефинисање оптималног времена осемењавања (природног или вештачког) и, с тим у вези, постизање високе вредности успешног зачећа. Откривање еструса се мора вршити пуним контактом са пастувом. За откривање еструса треба користити посебно изграђене боксеве, како не би дошло до међусобног повређивања кобиле и пастува, као и повређивања људи, који врше откривање еструса. Ректалним и вагиналним прегледом, се могу, доста сигурно, установити специфични знаци еструса (предовулаторни фоликул на јајнику, контрактилност рогова материце, отворен цервикс, хиперемија и едем слузокоже вагине, са доста слузавог садржаја). Овим прегледом се може, доста прецизно, установити моменат када ће доћи до овулације (Станчић, 2014).

Кобила релативно брзо успоставља нову цикличну оваријалну активност и манифестацију еструса после порођаја. Овај еструс се, обично, догађа око 9. дана после ждребљења. Код тркачких кобила, због календара такмичења, постоји потреба да што већи број грла буде успешно осемењен у првом еструсу после ждеребљења, који треба да се јави што пре на почетку сезоне парења. На тај начин се добијају новорођена ждребад рано на почетку следеће године. Таква ждребад су знатно развијенија и јача, од ждребади рођених касније у току године.

Стерилитет је стање неплодности и често је неизлечив. Постоје 2 типа стерилитета:

Привремени стерилитет, којег проузрокује неколико заједничких фактора:

- Недостатак физичке активности и прекомерна исхрана
- Потхрањеност и екстемно слаба кондиција
- Дефицит појединих хранљивих материја

- Различите инфекције
- Цисте на јајнику што ремети време јављања овулације

Сталан стерилитет, који представља већи проблем и тежи је за лечење. Узроци сталног стерилитета су:

- Старост
- Инфекције и обољења репродуктивног тракта
- Престанак функционисања гениталних органа кобиле
- Поремећаји у функцији ендокриног система (Станчић, 2014).

2.6. ЗАПАЉЕЊА ЕНДОМЕТРИЈУМА

Пролазно запаљење материце након приплода, нормална је физиолошка реакција кобиле и верује се да је инфламаторни одговор неопходан за уклањање бактерија и вишка сперматозоида унетих у лумен материце. Потребно је 24-36 сати код репродуктивно здраве кобиле, за решавање упале изазване приплодом, док је субпопулација кобила подложна развоју трајне инфекције која може утицати на плодност. Неуспех механизма одбране материце да елиминишу антигене (бактерије и/или вишак сперматозоида) и запаљенске производе из материце доводи до перзистентног ендометритиса, који је главни узрок субфертилности код приплодних кобила. Упала материце може бити узрокована бактеријском инфекцијом и перзистентним ендометритисом изазваним приплодом. Елиминација сперматозоида из материце кроз грлић материце започиње истовремено са транспортовањем сперме, што је иницирано честим контракцијама материце. Контракције материце су узроковане механичком манипулацијом вагине и грлића материце које посредују у неурогеном ослобађању окситоцина. Не уклањају се сви вишкови сперматозоида из лумена материце путем овог механизма. Урођени имунолошки одговор активираће се присуством антигена (сперматозоида и бактерија). У фино подешеном механизму који укључује фагоцитозу, механизме механичког чишћења и урођеног имунолошког одговора, упала материце узрокована приплодом решиће се у року од 24–36 сати након

излагања код већине кобила. Процес оставља материцу стерилном и неинфламаторном на време за долазак ембриона 5–6 дана након оплодње. Ако кобила не успе да уклони вишак сперматозоида или бактерије унете током приплода или услед растуће инфекције као резултат угрожених анатомских структура (вулве и грлића материце), може развити перзистентни или хронични ендометритис (Christoffersen, 2017.)

Обољења материчне слузокоже – *endometritis* су чест узрок повађања и стерилитета. Са изузетком гнојног обољења, све остале форме ендометрита протичу незапажено и једини знаци су повађање после парења и атипичне секреције из вагине. С тога кобиле остају дуго скривене и са закашњењем долазе на лечење. Главни узрок настајања су асцедентне инфекције из вагине и цервикса или последица пнеумовагине, прљавог акуширања, отежаног пуерперијума, абортуса или парења. Могућа је и хематогена инфекција чему доприноси и хормонална дисфункција. Узрок може бити и слабљење одбрамбене локалне микрофлоре вагине после антибиотске терапије. Хронични ендометрити су после оваријалних циста и дисфункција јајника најчешћи узроци неплодности кобила 20-25% (Станчић и Веселиновић, 2002).

Још давно су обољења материце кобила класирана у 5 типова хроничних ендометритиса: латентни, пурулентни, хипертрофични, атрофични и пиометра (Станчић, 2014).

2.7. ДИЈАГНОСТИЧКЕ МЕТОДЕ

При сумњи на стерилитет кобила, преглед треба почети прегледом вагине спекулумом, јер се том приликом може наћи задржан урин или присутан гној, влажна и хиперемичана вагинална слузокожа и релаксиран и инфициран цервикс. Не ретко се прескочи преглед цервикса и тада се превиде абнормалности које постоје на цервиксу, а које могу бити узрок хроничног стерилитета. Непотпуна дилатација цервикалног канала у току еструса резултат је присуства акумулираног флуида у утерусу. Често као последица порођаја долази до стварања лезија на цервиксу или фиброзе цервикса или стварање адхезија. Ова патолошка стања се лако дијагностикују приликом прегелда цервикса (LeBlanc, 2008).

Ендометритис представља водећи узрок стерилитета кобила (Kohne et al., 2020; Card, 2005; Defontis et al., 2011; LeBlanc and Causey, 2009; Liu and Troedsson, 2008), те је због тога дијагноза овог обољења веома битна у ветринарској пракси (Riddle et al, 2007). Методе које се најчешће користе за дијагнозу ендометритиса су општи клинички преглед кобиле, трансректална палпација репродуктивних органа, ултразвучни преглед, вагинални преглед уз помоћ спекулума, микробиолошка анализа, цитологија и биопсија ендометријума (Defontis et al., 2011; LeBlanc and Causey, 2009; Riddle et al, 2007; Pycock, 2006; Cocchia et al., 2012; Overbeck et al., 2011). Кобиле, са субклиничким ендометритисом углавном не показују типичне знаке који су везани за ендометритис, као што је акумулација течности у материци и зато су микробиолошка анализа, цитологија и биопсија матрице односно ендометријума веома захвалне методе у откривању субклиничког ендометритиса.

Субклинички ендометритис настаје интеракцијом патогених узрочника и имунолошког одговора материце (LeBlanc and Causey, 2009; Overbeck et al., 2011), а најчешћи патогени узрочници су аеробне бактерије (Riddle et al, 2007). Међутим, изолација бактерије није увек показатељ ендометритиса и обрнуто, ако се не изолују бактерије не значи да не постоји субклинички ендометритис (Riddle et al, 2007; Kenney, 1978; LeBlanc, 2010). Из тог разлога се сматра да комбинација цитологије и бактериолошке дијагностике омогућава прецизну и поуздану детекцију субклиничког ендометритиса (Riddle et al, 2007; Overbeck et al., 2011). Такође, предност цитологије је у брзини добијања резултата, који су готови тог истог дана када је узет узорак, за разлику од бактриологије, на чије резултате се чека 48-72 сата од момента пријема у лабораторију (Card, 2005; Riddle et al, 2007; Digby, 1978; Nielsen, 2005; Kozydrowski et al., 2013). Боурк и сар. (1997) су радили компарацију резултата добијених узимањем брисева помоћу штапића са памучним навојем и помоћу утерине четкице. Установили су да је метод узимања узорака помоћу утерусне четкице супериорнија метода. Такође, прецизнији бактериолошки резултати су добијени након узимања узорка из биопса ендометријума кобила (Nielsen, 2005).

Биопсија ендометријума кобила је корисна и безбедна метода дијагностике патолошких промена ендометријума, али није посебно практична метода. Поред тога,

патохистолошку анализу карактерише дуг временски период од две до три недеље, који је потребан да би се добили резултати (Kenney, 1978; Ricketts and Barrelet, 1997; Snider et al., 2011).

3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА

Основни циљ истраживања је да се на одабраном узорку старијих кобила са индивидуланих газдинстава, које су биле такмичарски касачи и које нису ниједном припуштане током такмичарске каријере, узму брисеви цервикса и ендометријума, уз ултразвучни преглед репродуктивних органа кобила. Очекивани резултати ће пружити информацију да ли постоје или не цитопатолошке промене цервикса и ендометријума кобила које су клинички здраве.

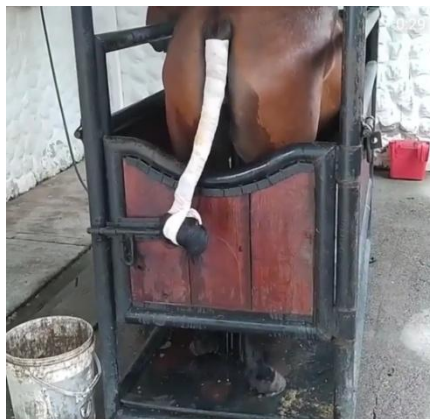
Задатак рада је да се након анализе цитолошких и ултразвучних резултата уз примену статистичких метода обраде података, донесу закључци о учесталости промена у ендометријуму и цервиксу старијих касачких кобила и да се утврди да ли постоји или не субклинички ендометритис који узрокује поремећаје у репродукцији кобила.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

У оквиру овог истраживања укупно је укључено тридесет касачких кобила са четири индивидуална газдинства на територији Палића, Вршца, Деспотова и Силбаша. Кобиле су старости од десет до двадесетчетири године, све су биле такмичарски касачки коњи и за време такмичарске каријере нису биле припуштане. Такође, кобиле које су укључене у ово истраживање су кобиле које након припуштања, нису изнеле гравидитет до краја или су рађале мртву ждребад или нису остале ждребне у протеклих годину дана. Неке од ових кобила су биле лечене интраутериним антибиотицима, али без обзира на успешну терапију нису остале ждребне.

Све кобиле су прегледане у периоду еструса тј. у фебруару месецу 2021. године. Кобилама је прво урађена трансректална палпација и ултразвучни преглед репродуктивних органа. Ултразвучни преглед је урађен и ради поређења са цитопатолошким налазима.

Пре узимања бриса цервикса и ендометријума, кобилама се реп завио чистим завојем (слика 6), а вулва и перинеум су пребрисани повидон јодидом. Када се повидон јодид осушио, узети су брисеви цервикса и ендометријума. Узорци бриса цервикса (n=30) и узорци бриса ендометријума (n=30) су узети тако што се прво кроз отворен цервикс увукао специјални штапић за узимање брисева са памучним навојем (слика 7), кроз до материце и кружним покретима се штапићем прешло преко зида материце. Након узимања бриса ендометријума, одмах је на исти начин, кружним покретима, узет брис цервикса штапићем са памучним навојем.



Слика 6. Завијен реп кобиле ради превенције контаминације цервикса и ендометријума приликом узимања брисева



Слика 7. Специјални штапић за узимање брисева са памучним навојем

Узорци брисева цервикса и ендометријума су одмах пренети на микроскопску плочицу и послати у Лабораторију за патологију, Департмана за ветеринарску медицину, Пољопривредног факултета у Новом Саду, где су узорци анализирани цитолошки, применом Diff Quick методе бојења (слика 8).



Слика 8. Примена Diff Quick методе бојења брисева цервикса и ендометријума кобила

Да би се утврдила релевантност цитопатолошког прегледа, врло је корисно поставити златан стандард којим се одеђује присуство односно одсуство промена у ендометријуму и цервиксу кобила. Многи аутори користе као златни стандард присуство неутрофилних гранулоцита у епителу ендометријума и цервикса кобила (Nielsen, 2005; Reiswig et al., 1993; LeBlanc et al., 2007; Rebordao et al., 2014). Из тог разлога, присуство полиморфонуклераних леукоцита указује на степен промена у узетим узорцима бриса цервикса и ендометријума кобила.

Сви добијени резултати су обрађени стандардним статистичким методама применом програма Microsoft Office Excel 2016.

5. РЕЗУЛТАТИ СА ДИСКУСИЈОМ

Након спроведеног истраживања са четири индивидуална газдинства на територији Палића, Вршца, Деспотова и Силбаша и укупно ултразвучно прегледаних репродуктивних органа тридесет касачких кобила, ниједна кобила у моменту прегледа није имала присутну течност у материци нити присутне патоморфолошке промене. Ултразвучни налаз ендометријума кобила у оквиру овог истраживања је дат на слици 9.



Слика 9. Ултрасонографски налаз ендометријума кобила, без присуства течности и патоморфолошких промена

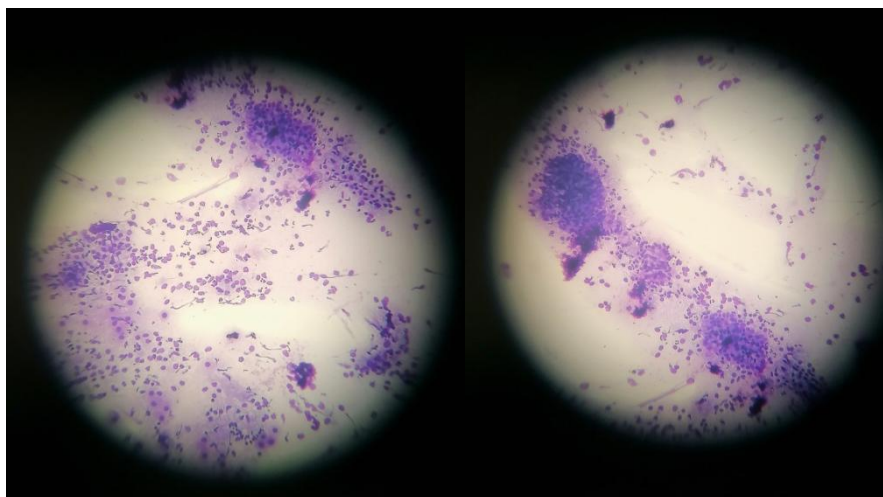
Ултразвучни преглед ендометријума кобила ($n=30$) је урађен и ради поређења са цитопатолошким налазима.

Од тридесет ($n=30$) прегледаних брисева цервикса кобила (слика 10) уочена је здрава цервикална слузокожа са типичним ћелијама за дат орган. Исте цитопатолошке резултате бриса цервикса кобила су добили Witte и сар. (2012), али су ови аутори након негативног налаза цервикалног бриса урадили биопсију цервикса и ендометријума. Резултати биопсије цервикса су указали хипоплазију код неких кобила, а резултати биопсије ендометријума постојање неутрофилних и еозинофилних гранулоцита, бројни лимфоцити и периваскулитис.



Слика 10. Цитопатолошки налаз бриса цервикса кобила без патолошких ћелија и без ћелија запаљења (Diff Quick 10x)

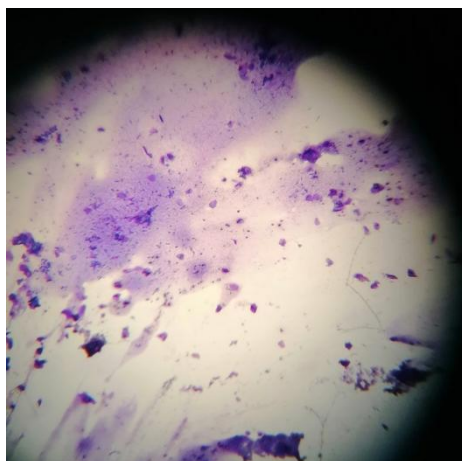
Од тридесет прегледаних брисева ендометријума кобила, код 8/30 (26,67%) кобила нису уочене полиморфонуларни леукоцити, који су одговорни за запаљенску реакцију. На основу цитопатолошког налаза, код 22/30 (73,33%) кобила је дијагностикован субклинички ендометритис (слика 11).



Слика 11. Цитопатолошки налаз полиморфонуларни ћелија у брису ендометријума кобила (Diff Quick 4x)

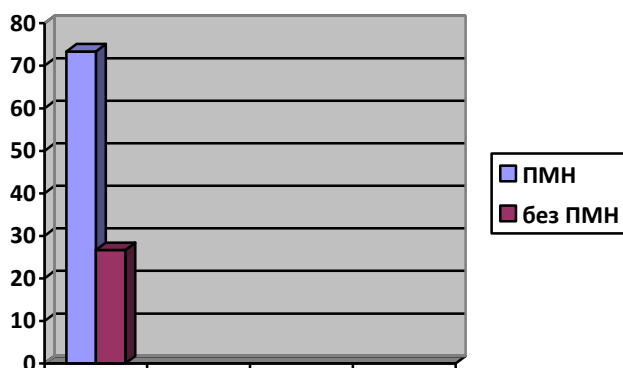
Сличне резултате су добили Buczkowska и сар. (2014), који су код 56/82 односно 68,3% брисева ендометријума кобила имали позитиван налаз полиморфонулеарних леукоцита, што значи да присутни полиморфонуклеарни леукоцити у ткиву ендометријума кобила указују на сензитивност цитопатолошке анализе. Цитопатолошки налази такође указују на саму прецизност у постављању брзе, тачне и поуздане дијагнозе инфламаторних процеса у ендометријуму кобила. Овог мишљења су и Riddle и сар. (2007), који наглашавају да је цитопатолошка дијагностичка сигурно најпоузданија метода дијагностике инфламаторних процеса у ендометријуму. Међутим, Ferris и сар. (2015) под утицајем Wingfield Digby и Ricketts (1982) сматрају да за постављање тачне дијагнозе ендометритиса, није довољан цитопатолошки налаз већ га је неопходно допунити са бактериолошким налазом. На основу добијених резултата бактеријске културе ендометријума се не могу идентификовати све кобиле са бактеријским ендометритисом. Nielsen (2005) је доказао да је сензитивност бриса ендометријума при изолацији аеробних микроорганизама из утеруса само 0,44% у поређењу са изолацијом микроорганизама из биопса ендометријума. Према истом аутору, разлика у налазима између цитопатологије и бактериологије има везе са неадекватним узимањем бриса, самом техником узимања бриса, изолацијом неинфективних бактерија тј. бактерија које не изазивају ендометритис, због присуства анаеробних бактерија или због присуства секрета бактеријског порекла.

Кобилама у оквиру овог истраживања којима је на основу цитопатолошке анализе дијагностикован ендометритис, интраутерино су апликовани антибиотици. Након спроведене терапије урађен је контролни брис, који је био негативан (слика 12).



Слика 12. Негативан цитопатолошки налаз бриса ендометријума кобила (Diff Quick 10x)

На графикону 1 су приказани односи цитопатолошког налаза ендометријума кобила са и без присуства полиморфонуклеарних леукоцита (ПМН).



Графикон 1. Приказ односа цитопатолошког налаза полиморфонуклеарних леукоцита ендометријума кобила

На основу цитолошког прегледа, Nemborg и сар. (2005) су код 38,5% кобила дијагностиковали ендометритис, с тим да је тенденција појаве ендометритиса на страни старијих кобила. Код младих кобила и кобила које се нису ниједном припуштале налаз полиморфонуклеарних леукоцита је био много мањи него код старијих кобила. На основу ових података, тачније на основу чињенице да кобиле које нису ниједном припуштане имају врло малу вероватноћу за инфекцијом ендометријума и цервикса, онда би кобиле, такмичарски касачи, требале да имају очуван и спреман ендометријум за концепцију, али добијени резултати у оквиру овог истраживања показују супротно.

6. ЗАКЉУЧАК

На основу добијених резултата у оквиру истраживања цитопатолошког налаза цервикса и ендометријума старијих касачких кобила, може се закључити да:

1. је узимање брисева за цитопатолошку анализу неинвазивна и врло поуздана метода;
2. се цитопатолошким анализом добијају најпоузданији резултати, односно да се откривају субклиничке промене ендометријума и цервикса код клинички здравих кобила;
3. се цитопатолошким прегледом брисева ендометријума клинички здравих кобила откривају субклиничке промене које се не региструју ултразвучним прегледом;
4. је цитопатолошка анализа поузданија од ултразвучног прегледа, јер омогућава дијагнозу субклиничког ендометритиса кобила;
5. је степен субклиничког ендометритиса врло висок и да износи 73,33%;
6. пре сваког припуштања кобила треба узети брис ендометријума и цервикса за цитопатолошку анализу.

7. ЛІТЕРАТУРА

1. Bourke M., Mills J.N., Barnes A.L. Collection of endometrial cells in the mare. *Aust. Vet. J.* 1997; 75:755-8.
2. Buczkowska J., Kozdrowski R., Nowak M., Ras A., Staroniewicz Z. Comparison of the biopsy and cytobrush techniques for diagnosis of subclinical endometritis in mares. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 2014; 12:27-33.
3. Card C. Post-breeding inflammation and endometrial cytology in mares. *Theriogenology.* 2005; 64:580-8.
4. Christoffersen M., Troedsson M.H.T. Inflammation and fertility in the mare. *Reprod. Domest. Anim.* 2017; 52(3):14-20.
5. Cocchia N., Paciello O., Auletta I., Ucello V., Silvestro I., Mallardo K., Paraggio G., Pasolini M.P. Comparison of the cytobrush, cottonswab and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology.* 2012; 77:89-98.
6. Defontis M., Vaillancourt D., Grand F.X. Comparison of three methods of sampling for endometrial cytology in the mare. *Tierarztl Prax.* 2011; 39:171-5.
7. Digby N.J.W. The technique and clinical application of endometrial cytology in mares. *Equine Vet. J.* 1978; 10:167-170.
8. Ferris R.A., Bohn A., McCue P.M. Equine endometrial cytology: Collection techniques and interpretation. *Equine Vet. Educ.* 2015; 27(6):316-22.
9. Hemberg E., Lundeheim N., Einarsson S. Retrospective study on vulvar conformation in relation to endometrial cytology and fertility in Thoroughbred mares. *J. Vet. Med.* 2005; 52:474-7.

10. Kenney R.M. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1978; 172:241-262.
11. Kohne M., Tonissen A., Unruh C., Prus D., Sieme H. Occurrence of intrauterine purulent concretions in a maiden mare- a case report. *J. Equine Vet. Sci.* 2020; 95:103278(1-5).
12. Kozdrowski R., Gumienna J., Sikora M., Andrzejewski K., Nowak M. Comparison of the cytology brush and cotton swab in the cytological evaluation of the endometrium in mares with regard to fertility. *J. Equine Vet. Sci.* 2013; 33:1008-11.
13. LeBlanc M.M. Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. *Reprod. Domest. Anim.* 2010; 45:21-7.
14. LeBlanc M.M. When to refer an infertile mare to a theriogenologist. *Theriogenology.* 2008; 70:421-9.
15. LeBlanc M.M., Causey R.C. Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reprod. Domest. Anim.* 2009; 44:10-22.
16. LeBlanc M.M., Magsig J., Stromberg J. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mare. *Theriogenology.* 2007; 68:403-12.
17. Liu I.K.M., Troedsson M.H.T. Diagnosis and treatment of endometritis in the mare: yesterday and today. *Theriogenology.* 2008; 70:415-420.
18. Nielsen J.M. Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing culture from swab and biopsy. *Theriogenology.* 2005; 64:510-8.
19. Nielsen J.M., Troedsson M.H., Pedersen M.R., Lehen-Jensen H. Diagnosis of endometritis in the mare based on bacteriological and cytological examination of the endometrium. Comparison of results obtained by swabs and biopsies. *J. Equine Vet. Sci.* 2010; 30:27-30.

20. Overbeck W., Witte T.S., Heuwieser W. Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. *Theriogenology*. 2011; 75:1311-8.
21. Pejić N. Reproductivni ciklus kobile. *Letopis naučnih radova*. 2000; 24(1-2):63-76.
22. Pycock J.F. How to maximize the chances of breeding successfully from the older maiden mare. *AAEP Proceedings*. 2006; 52:245-9.
23. Rebordao M.R., Galvao A., Szostek A., Amaral A., Mateus I., Skarzynski D.J., Ferreira-Dias G. Physiopathologic mechanisms involved in mare endometritis. *Reprod. Dom. Anim.* 2014; 49(Suppl. 4):82-7.
24. Reiswig J.D., Threifall W.R., Rosol T.J. A comparison of endometrial biopsy, culture and cytology during oestrus and dioestrus in the horse. *Equine Vet. J.* 1993; 25:240-1.
25. Ricketts S.W., Barrelet A. A retrospective review of the histopathological features seen in series of 4241 endometrial biopsy samples collected from UK Thoroughbred mares over a 25 year period. *Pferdeheilkunde*. 1997; 13:525-30.
26. Riddle W.T., LeBlanc M.M., Stromberg A.J. Relationship between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology*. 2007; 68:395-402.
27. Snider T.A., Sepoy C., Holyoak G.R. Equine endometrial biopsy reviewed: observation, interpretation and application of histopathological data. *Theriogenology*. 2011; 13:525-30.
28. Stančić B.I. Reprodukcijska domaćih životinja. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad. 2014.
29. Stančić B., Veselinović S. Reprodukcijska domaćih životinja. Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet Novi Sad. 2002.
30. Walter J., Neuberger K.P., Failing K., Wehrend A. Cytological diagnosis of endometritis in the mare: investigations of sampling techniques and relation to bacterial results. *Anim. Reprod. Sci.* 2012; 132:178-86.

31. Wingfield Digby N.J., Ricketts S.W. Results of concurrent bacteriological and cytological examination of the endometrium of mares in routine stud farm practice. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1982; 32:181-5.
32. Witte T.S., Nover M., Overbeck W., Hecht W., Heuwieser W. Incompetent cervix and pneumouterus in a maiden mare. *Equine Vet. Educ.* 2012; 24(7):343-6.