

UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKE MEDICINE

Dušan T. Janković

ANALIZA KONCENTRACIJE IZABRANIH
HEMATOLOŠKIH PARAMETARA C-
REAKTIVNOG PROTEINA I ANTI MILEROVOG
HORMONA KUJA SA PIOMETROM

doktorska disertacija

Beograd, 2023

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Dušan T. Janković

ANALYSIS OF THE CONCENTRATIONS OF
SOME HAEMATOLOGICAL
PARAMETERS C-REACTIVE PROTEIN AND
ANTI MÜLLERIAN HORMONE IN
BITCHES AFFECTED BY PYOMETRA

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2023

Mentor:

dr Slobodanka Vakanjac, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

Članovi komisije:

dr Jugoslav Vasić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

dr Danilo Vojvodić, redovni profesor, Vojno medicinska akademija, Beograd

dr Julijana Trifković, docent, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Istočnom Sarajevu, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

Datum odbrane doktorske disertacije: _____

Analiza koncentracije izabranih hematoloških parametara, C-reaktivnog proteina i Anti Milerovog hormona kuja sa piometrom

Kartak sadržaj

Analiza koncentracije izabranih hematoloških parametara, C-reaktivnog proteina i Anti-Milerovog hormona (AMH) kod kuja sa piometrom i kontrolne grupe, ispitivana je kod jedinki različite rase, starosne kategorije, različitog habitualnog statusa, načina ishrane i fertilnog perioda. Cilj rada bio je da se ispituju klinički status, hematološki, biohemijski parametri, koncentracije proteina akutne faze (CRP, albumi), koncentracije progesterona (PG) i antimilerovog hormona (AMH) kod kuja sa piometrom u poređenju sa zdravim kujama. Takođe, cilj rada je bio da se ispita mogućnost primene nekog od ispitivanih parametara kao mogućeg biomarkera u dijagnostici piometre i praćenju postoperativnog toka. U ogled je bilo uključeno 40 kuja različitih rasa i približne starosti (3-6 godina), koje su podeljene u dve grupe: kontrolnu (C, n = 20) i oglednu grupu, kuje kod kojih je dijagnostikovana piometra (P, n = 20). Uzorci krvi za analizu su uzimani preoperativno (0. dan), 12h, 24h, 48h i 72h nakon hirurške intervencije, osim AMH i PG čije su koncentracije određivane samo 0. dana. Nakon kliničkog pregleda utvrđene su značajno više vrednosti broja udisaja u minuti kod kuja sa piometrom u poređenju sa zdravim kujama u svim ispitivanim vremenima, ubrzan puls 0h i 12h, kao i povišena temperatura 0h, 12h, 48h i 72h ($p < 0.01$).

Značajno više koncentracije CRP ($p < 0,01$) i snižene vrednosti albumina utvrđene su kod kuja sa piometrom u poređenju sa zdravim kujama u svim ispitivanim vremenima. Analizom koncentracije AMH neposredno pred operativni zahvat utvrđene su značajno više koncentracije ovog hormona kod kuja sa piometrom u poređenju sa zdravim kujama ($p < 0.01$). Inflamatorna reakcija zapaljenja endometrijuma dovodi do značajnog povećanja koncentracije AMH, dok se povišene koncentracije CRP i snižene vrednosti albumina u toku ispitivanog vremena ukazuju na dijagnostičku specifičnost i mogućnost upotrebe kao biomarkera prozapaljenske aktivnosti, odnosno odgovora akutne faze. Naši rezultati pokazuju da klinički i laboratorijski nalazi, kao i analiza inflamatornih faktora mogu biti korisni za procenu zdravstvenog stanja kuja sa piometrom kao i za procenu i prognozu mogućih komplikacija zdravstvenih stanja nakon hirurškog zahvata i/ili sterilisanja kuja sa piometrom.

Ključne reči: kuja, piometra, hematološki parametri, C-reaktivni protein, AMH

Naučna oblast: Veterinarska medicina

Uža naučna oblast: Ginekologija sa andrologijom

UDK broj: 636.7.09:618-074(043.3)

Analysis of the concentration of the selected hematological parameters, C-reactive protein and Anti Mullerian hormone in bitches with pyometra.

Abstract

Analysis of the concentration of hematological parameters, C-reactive protein and Anti-Mullerian hormone (AMH) in bitches with pyometra and control group, was investigated in individuals of different breeds, age categories, different habit status, diet and fertile period. The aim of the work was to investigate clinical status, hematological, biochemical parameters, concentrations of acute phase proteins (CRP, albumins), concentrations of progesterone (PG) and Anti-Mullerian hormone (AMH) in bitches with pyometra compares to healthy bitches.. The goal of the work was also to investigate the possibility of applying some of the investigated parameters as possible biomarkers in the diagnosis of pyometra and monitoring the postoperative course. 40 bitches of different breeds and approximate age (3-6 years) were included in the experiment, which were divided into two groups: control (C, n = 20). Blood samples for analysis were taken preoperatively (day 0), 12 hours, 24 hours, 48 hours, and 72 hours after surgery, except for AMH and PG, whose concentrations were determined only on day 0. After the clinical examination, significantly higher values of the number of breaths per minute in bitches with pyometra compared to healthy bitches at all examined times, increased pulse at 0h and 12 h, and elevated temperature at 0h, 12h, 48h and 72h ($p < 0.01$). Significantly higher concentrations of CRP ($p < 0.01$) and decreased albumin values were found in bitches with pyometra compared to healthy bitches at all time points examined. Analysis of the AMH concentration immediately before surgery showed significantly higher concentrations of this hormone in bitches with pyometra compared to healthy bitches ($p < 0.01$). Inflammatory reaction of endometrial inflammation leads to a significant increase in AMH concentration, while elevated CRP concentrations and decreased albumin values during the investigated period indicate diagnostic specificity and the possibility of use as a biomarker of pro-inflammatory activity, i.e. acute phase response. Our results show that clinical and laboratory findings, as well as analysis of inflammatory factors can be useful for assessing the health status of bitches with pyometra, as well as for the assessment and prognosis of possible complications of health status after surgery and/or spaying of bitches with pyometra.

Key words: bitch, pyometra, hematological parameters, C-reactive protein, AMH

Scientific field: Veterinary medicine

Scientific subfield: Gynecology and andrology

UDK broj: 636.7.09:618-074(043.3)

Sadržaj

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	3
2.1. Piometra pasa	3
2.2. Patogeneza-patofiziologija piometre.....	6
2.3. Klinička manifestacija bolesti	8
2.4. Hematološki i biohemijski parametri	12
2.5. Dijagnoza i lečenje piometre.....	16
2.6. Biomarkeri	18
2.7. Biomarkeri sepse kod kuja sa piometrom	19
3. CILJEVI I ZADACI TEZE	29
4. MATERIJALI I METODE	30
4.1. Opšti klinički i specijalistički pregled.....	30
4.2. Hematološke analize krvi i krvnog seruma.....	30
4.3. Biohemijske analize seruma.....	30
4.4. Patohistološka analiza uzoraka	31
4.5. Mikrobiološke analize uzoraka	31
4.6. Preoperativni protokol, protokol analgezije, anestezije i postoperativni protokol	32
4.7. Statistička analiza rezultata	32
5. REZULTATI	33
5.1. Rezultati kliničkog pregleda	33
5.3. Rezultati hematoloških analiza	39
5.3. Rezultati biohemijskih analiza	55
5.4. Rezultati proteina akutne faze.....	65
5.5. Rezultati hormonskih analiza.....	68
5.6. Rezultati bakteriološki analiza	70
5.7. Rezultati patohistoloških analiza	72
6. DISKUSIJA	73
7. ZAKLJUČCI	77
8. LITERATURA	78

Skraćenice

AMH Anti Milerov hormon
ALP Alkalna fosfataza
ALT Alaninska aminotransferaza
AMH Anti Milerov hormon
AP Alkalna fosfataza
ASAT Aspartat aminotransferaze
BUN Urea u krvi
BW Telesna masa
CEH Cistična endometrijska hiperplazija
CgA Hromogranin A
CK Kreatin-kinaze
CRP C-reaktivni protein
CRT Kapilarno vreme punjenja
cTnI Troponin I
DIC Diseminirana intravaskularna koagulacija
DM Dijabetes mellitus
ET Endotoksin
FSH Folikulostimulirajući hormon
GnRH Gonadotropni rilizing hormon
Hb Hemoglobin
Hct Hematokrit
IL -1 Interleukin -1
IL 6 Interleukin - 6
LDH Laktat dehidrogenaza
Le Leukociti
ET Liposaharidni endotoksin
LH Lutejnizirajući hormon
MODS Sindrom išestrukih disfunkcija organa
OHE Ovario-histeroktomija
PCT Prokalcitonin
PG Progesteron
PRL Prolaktin
SAA Serum amiloid A
SIRS Sindrom sistemskog zapaljenskog odgovora
TNF α Factor nekroze tumora
WBC Ukupan broj belih krvnih zrnaca

1. UVOD

Piometra kuja predstavlja gnojnu infekciju materice sa posledičnim promenama opšteg stanja, čija etiologija još uvek potpuno nije razjašnjena (Hagman i sar. 2011). Na razvoj piometre utiču hormonske promene tokom estralnog ciklusa, oportunistički patogeni mikroorganizmi koji se mogu izolovati iz genitalnog trakta kuja (Dabrowski i sar. 2013), kao i sama genetska predispozicija pojedinih rasa pasa (Hagman i sar. 2011; Jitpean i sar. 2012). Domaća kuja je tipično monoestralna i nesezonska (Concannon, 2011) i ima jedan ili dva esteralna ciklusa godišnje (England i von Heimendahl, 2010). Ciklus je podeljen na proestrus, koji traje 3 dana do 3 nedelje, estrus oko 1 nedelju, dva meseca metestrusa, a zatim neaktivan anestrus (Concannon, 2011). Piometra se definiše kao jaka gnojna infekcija materice sa posledičnim promenama opšteg zdravstvenog stanja, sa simptomima sistemskog oboljenja, najčešće se javlja kod kuja srednjih i starijih godina (Hagman i sar. 2011). Bolest se obično dijagnostikuje u metestrusu kada je velik uticaj progesterona i manje koncentracije estradiola (Smith, 2006). Estradiol dovodi do zadebljanja endometrijuma, odnosno hipertrofije i priprema ga za potencijalni graviditet, a visoke koncentracije progesterona rezultiraju povećanom sekrecijom iz žlezda materice i inhibiraju kontrakcije miometrijuma (Sjaastad i sar. 2010; Smith, 2006), što mikroorganizmima daje mogućnost adhezije na zid uterusa (Nelson i Couto, 2014). Prema Smith (2006) piometra se karakteriše zapaljenjem edometrijuma koje je izazvano bakterijskom infekcijom i ima za posledicu stvaranje gnoja. Najčešći klinički simptomi piometre su sa sledećim redosledom: poliurija, polidipsija, febra, apatija, bol u stomaku, dehidracija i anoreksija. Od ostalih simptoma mogu se javiti i povraćanje, proliv, ubrzano disanje i ubrzan rad srca. Piometra kuja može da potencira često razvoj sindroma sistemskog inflamatornog odgovora (*eng. Systemic Inflammatory Response Syndrom - SIRS*) (Fransson i sar. 2007; Hagman i sar. 2007), koji predstavlja opšti zapaljenski odgovor, koji može biti uzrokovan infektivnim i neinfektivnim agensima, pri čemu zapaljenski procesi stimulišu kaskadno oslobađanje drugih medijatora, pri čemu njihova povišena koncentracija može biti štetna za jedinku (Muckart i Bhagwanjee, 1997). Pacijenti sa kliničkom manifestacijom SIRS su izloženi riziku od razvoja sindroma višestrukih disfunkcija organa (*eng. Multiple organ disfunction syndrome - MODS*) (Lopez i sar. 2008), koji nosi visoku stopu smrtnosti i pored napredovanja intenzivne nege pacijenata poslednjih godina (Deitch i Goodman, 1999; Brady i Otto, 2001).

Materica je sa izrazitom inflamacijom, uvećana je i značajno sekretolitički aktivna. Kao prirodni stanovnik vaginalne sluzokože, *E. coli* može da se nađe u materici tokom proestrusa i estrusa, kada je cerviks otvoren, mada, kod zdravih pasa, odbrambeni mehanizmi endometrijuma eliminišu bakterije (Watts i sar. 1996). Piometra je zapaljenski proces koji obično indukuje sistemske efekte (Sjaastad i sar. 2010) koji se mogu meriti analizom proteina akutne faze: C-reaktivnog proteina (CRP) koji proizvodi jetra tokom sistemskog zapaljenja (Hillstrom i sar. 2015). Kod kuja je ustanovljeno da je koncentracije Anti Milerovog hormona (AMH) u porastu 8-9 dana pre luteinizirajućeg hormona, do tri puta više koncentracije od normalne serumske koncentracije za AMH, a zatim se smanjuju do fizioloških vrednosti oko 4. dana pre talasa lutejnizirajućeg hormona (LH). Pretpostavlja se da je ovo usled rasta folikula i varijacije u sekreciji AMH između različitih faza folikula i poklapa se sa

povećanjem i smanjenjem ranih antralnih faza folikula, opisanih od strane Englanda i saradnika (2009). Analiza koncentracije AMH takođe se koristi za kvantifikaciju rezervi jajnika kod žena i ženki domaćih životinja (Baldrighi i sar. 2014). Analiza AMH mogla bi potencijalno pomoći u razumevanju patogeneze kompleksne, uobičajene i opasne bolesti piometre kod kuja.

Veoma je bitna rana, precizna i potpuna dijagnoza oboljenja, a pravovremeni tretman piometre predstavlja suštinu povećanja šansi za preživljavanje kuje. Iz tih razloga neophodni su klinički markeri za pravovremenu i što potpuniju identifikaciju visoko rizičnih pacijenata i prognozu ishoda bolesti. Analiza faktora zapaljenja kod pasa sa različitim kliničkim slikama piometre je značajna u veterinarskoj medicine u postavljanju brze i tačne dijagnoze (Dabrowski i sar. 2013; Christensen i sar. 2014) Većina autora smatra da je najsigurniji tretman piometre hirurško uklanjanje jajnika i obolele materice, odnosno ovario-histerektomija (OHE). Cilj ove studije bio je upoređivanje koncentracije AMH kod kuja sa ili bez piometre u odgovarajućoj fazi ciklusa. Pretpostavili smo da bi kuje sa piometrom mogle imati dva puta veće koncentracije AMH nego zdravih kuja, zbog prisustva rastućih folikula i nakon ovulacije. Takvi folikuli mogu doprineti većoj koncentraciji estradiola, koji zajedno sa visokim koncentracijama progesterona može povećati rizik od piometre.

2. PREGLED LITERATURE

2. 1. Piometra pasa

Bakterijska infekcija materice - piometra (*pyometra*, grč.) se opisuje kao "najznačajnija bolest kuja". Najčešće se razvija kod intaktnih kuja (više od 50%) pre desete godine starosti (Egenvall i sar. 2000a). Oboljenje je hormonski indukovana bakterijska infekcija materice, koja dovodi do gnojnog zapaljenja i sistemske bolesti. Piometra, kao složeno oboljenje kuja u fertilnom periodu života, decenijama privlači pažnju velikog broja stručnjaka iz veterinarske reprodukcije. Kuje su jedinke koje polno sazrevaju u periodu između 6 i 12 meseci starosti, i imaju ciklične promene genitalnih organa ("teranje") na svakih 5 do 12 meseci (Concannon, 2011). Polni ciklus se sastoji od četiri stadijuma: proestrusa, estrusa, diestrusa i anestrusa. Uterus je po morfološkoj građi tubularni organ, na čijem se unutrašnjem delu nalazi endometrijum, koji se sastoji od epitelnih ćelija i žlezdanih kriпти. Sledeći sloj materice je miometrijum koji je sastavljen od uzdužnih (longitudinalnih) i poprečnih (cirkularnih) vlakana. Ciklus kod kuja odvija se pod dejstvom gonadotropnog rilizing hormona (GnRH), luteinizirajućeg (LH) i folikulostimulirajućeg hormona (FSH), estrogena i progesterona (PG). Progesteron ima ulogu u rastu i razvoju materice, zatvaranju cerviksa i blokiranju kontrakcija miometrijuma gravidnih kuja (Concannon, 2011). Značajnu ulogu u regulaciji polnog ciklusa, graviditeta i porođaja kuja imaju i prostaglandini (PGF2 α) kao i prolaktin (PRL). Prostaglandini se oslobađaju iz placente i miometrijuma u trenutku porođaja kuja i učestvuju u liziranju žutog tela, otvaranju cerviksa i stimulisanju kontrakcija miometrijuma (Feldman i Nelson, 2004). Prolaktin ima ulogu kao luteotrofni hormon, dovodi do stimulacije rasta žutog tela odnosno stimulaciju i rast mlečnih žlezda (Okkens i sar., 1990; Sjaastad i sar., 2010). Smith (2006) je utvrdio da se sa svakim ciklusom, hormonalni uticaj na uterus povećava i to objašnjava da prvenstveno oboljevaju starije jedinke, najčešće ne mlađe od deset godina. Uočeno je da progesteronski receptori tokom piometre postaju aktivniji, u poređenju sa onima kod zdravih kontrolnih grupa (Ververidis i sar., 2004). Prema Smith-u (2006) materica sa izrazitom inflamacijom, uvećana je i značajno sekretolitički aktivna. Kao prirodni stanovnik vaginalne flore, *E. coli* se može naći u materici tokom proestrusa i estrusa, kada je otvoren cerviks, mada kod zdravih pasa, odbrambeni mehanizmi endometrijuma eliminišu bakterije (Watts i sar. 1996). Dve različite klasifikacije koriste se u mnogim istraživanjima piometre (De Bosschere i sar. 2001; Dow, 1957). Na osnovu histoloških promena u materici, Dow (1975) je nazvao bolest "cistična endometrijalna hiperplazija (CEH) – piometra kompleks" i klasifikovao je u četiri podtipa:

- (1) cistična hiperplazija (CEH),
- (2) cistična hiperplazija sa akutnim endometritisom,
- (3) cistična hiperplazija sa infiltracijom ćelija plazme, i
- (4) hronični endometritis.

Druga klasifikacija je zasnovana na morfološkim i histološkim promenama materice zajedno sa prijavljenim kliničkim znacima, i deli bolest u dva entiteta, CEH-mukometra i endometritis-piometra (De Bosschere i sar. 2001). Verovalo se da je cistična endometrijala hiperplazija predispozicija za razvoj piometre, ali CEH generalno nije povezana sa kliničkim znacima i može biti prisutna i kod kuja srednjih godina ili starijih, bez znakova oboljenja (Dow, 1957; Arora, 2006). Kao rezultat toga, teško je znati koliko je uobičajena CEH u populaciji pasa i koliko će kuja sa CEH-om razviti piometru i koliko brzo. Verstegen i sar. (2008) su u radu opisali prisustvo *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* i *Proteus spp.* u materici kuja obolelih od piometre, a koje su najčešće obolevale u fazi diestrusa. Izuzev prisutnih bakterijskih vrsta, značajna uloga se pripisuje i progesteronu u toj fazi estralnog

ciklusa i većina kuja ima povećane vrednosti progesterona iznad bazalnih vrednosti (<0,5 ng/mL). Iako uzroci nastanka piometre nisu u potpunosti poznati, pretpostavlja se da su vezani za hormonske promene nakon estrusa, sekundarne oportunističke infekcije (Dabrowski i sar. 2013) i eventualno sa genetskom predispozicijom, jer je bolest česta kod određenih rasa kuja (England i von Heimendahl, 2010; Hagman i sar. 2011; Jitpean i sar. 2012).

Sindrom sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS) je klinička manifestacija inflamatornog procesa koji se javlja kao odgovor na infektivnu ili neinfektivnu povredu životinje (sepsa, opekotine, traume, toplotni udar, pankreatitis, imuno-posredovane bolesti) i neoplazije. Sepsa se definiše kao prisustvo SIRS prouzrokovano infekcijom (Levy i sar., 2003). Prema Egenvallu i sar. (2010b), stopa smrtnosti od piometre je relativno niska, oko 3-4% iako je sepsa čest pratilac ovog oboljenja. U težim slučajevima, kada dođe do šoka, stopa smrtnosti kod piometre se povećava za oko 35% (Conti-Patara i sar. 2012), odnosno može biti i 50% ako se stanje komplikuje pojavom peritonitisa (Oelzner i Munnich, 1997).

Da bi se povećala šansa za preživljavanje kuja sa piometrom, neophodni su klinički markeri za pravovremenu i što potpuniju identifikaciju visoko rizičnih pacijenata i prognozu ishoda bolesti. Veliki broj radova u humanoj i u veterinarskoj medicini ispitivao je različite markere za dijagnostikovanje i praćenje odgovora na tretman, kao i za prognozu ishoda kod različitih bolesti (Hogarth i sar. 1997; Claeys i sar. 2002; Ceron i sar. 2005; Kosuge i sar. 2007; Zhang i sar. 2008; Foushee i sar. 2012). Analiza zapaljenskih faktora kod pasa sa različitim kliničkim slikama je značajna u veterinarskoj medicini (Klenner i sar. 2010; Kjelgaard-Hansen i Jacobsen, 2011; Dabrowski i sar. 2013; Christensen i sar. 2014)

Prema mnogim autorima, najsigurniji i najefektivniji tretman piometre je hirurško uklanjanje jajnika i obolele materice, odnosno, hiruški zahvat poznatiji kao ovariohisterektomija (OHE). Ovariohisterektomija je isti hiruški zahvat koji se obično izvodi za selektivno sterilisanje ženki pasa, nakon čega se sprečava mogućnost razmnožavanja i nastanka piometre. U zemljama Evropske Unije, selektivna sterilizacija se vršila u početku samo kod malog broja pasa. Devedesetih godina prošlog veka, sterilisalo se samo 7% ženki svih starosnih kategorija (Egenvall i sar. 1999). Poslednjih nekoliko godina, procenat sterilisanih kuja se povećao na skoro 17% (Statistika, 2012). Sterilizacija se danas obično radi da bi se kontrolisala populacije pasa i dovelo do smanjenja broja neželjenih pasa lualica (Salman i sar. 1998; Trevejo i sar. 2011). Veliki je broj populacija kuja koje se nisu parile, što može da znači da većina kuja nosi sa sobom potencijalni rizik od razvoja oboljenja koja su povezana sa reproduktivnim traktom, pri čemu je najčešća dijagnoza oboljenja kuja, piometra (Bonnert & Egenvall, 2010). Piometra, a do određene mere i tumori mlečnih žlezda mogu se sprečiti sterilizacijom, mada je sam postupak OHE povezan sa nekim neželjenim dejstvima kao što su: urinarna inkontinencija, promene u kvalitetu dlake, promene u ponašanju, prekomerna težina i povećani rizik za maligne tumore, kao što su osteosarkom i hemangiosarkom (Thrusfield, 1985; Ru i sar. 1998; McGreevi i sar. 2005; Zink i sar. 2014; Smith, 2014).

Postoje razlike između rasa i starosne dobi u pojavljivanju piometre i malignih tumora, ali uticaj oba ova faktora za nastanak navedenih bolesti još uvek nije razjašnjen (Egenvall i sar., 2001; Egenvall i sar. 2005). Faktori rizika za nastanak piometre su multiparnost (odnosno kuje koje se nikad nisu kotile) i hormonska terapija (estrogen i progesteron) (Borresen, 1979; Niskanen i Thrusfield, 1998; Whitehead, 2008). Ververidis i sar. (2004) su takođe utvrdili veće koncentracije estradiola u krvi kuja sa piometrom nego kod jedinki kontrolnih grupa. Mogući faktori za ovakve koncentracije hormona još nisu poznati, ali aberantna folikularna dinamika može doprineti razvoju piometre. Kod starijih kuja, uobičajeno je otkrivanje makroskopskih promena u materici (kao što je cistična endometrijalna hiperplazija), a na jajnicima se mogu pronaći istovremeno i folikuli i žuta tela,

i to češće kod kuja sa piometrom nego kod zdravih (Strom Holst i sar. 2001). Folikularne ciste se mogu naći kod kuja sa piometrom (England i von Heimendahl, 2010).

Piometra indukuje sistemske efekte zapaljenja (Sjaastad i sar. 2010) koji se mogu izmeriti koncentracijom proteina akutne faze: C-reaktivnog proteina (CRP) koji proizvodi jetra tokom sistemskog zapaljenja (Hillstrom i sar. 2015). Istraživanja su pokazali da su koncentracije CRP značajno veće kod kuja sa oboljenjima materice nego kod zdravih (Dabrowski i sar. 2007 i 2013; Enginler i sar. 2014; Jitpean i sar. 2014b). Pored toga, nije neuobičajeno da se pronade povišeni broj belih krvnih zrnaca kao jedan od znakova zapaljenja (Jitpean i sar. 2014; Smith, 2006). Prisustvo tri ili više sledećih kliničkih znakova sugerise na SIRS kod pasa:

- tahipnoja (RF > 40 udaha u minuti ili parcijalni pritisak CO₂ u venskim krvnim sudovima; PaCO₂ < 30 mmHg),
- tahikardija (SF > 120 otkucaja u minuti),
- leukocitoza ili leukopenija (WBC > 18,000 / mL ili < 5,000 / mL ili opseg neutrofila > 16%),
- i groznica ili hipotermija (T > 39,22 ili > 38,1°C) (Randels, 2013).

Tabela 1. Kriterijumi za dijagnostikovanje SIRS-a (preuzeto i modifikovano prema Randels, 2013)

Parametri	Vrednosti
Temperatura (°C)	<38,1 ili >39,3
Broj otkucaja srca	>120
Broj respiracija	>40
Broj leukocita, neutrofila: segmentiranih i neselementiranih	<6 ili >16

Sepsa je uzrokovana patogenim mikroorganizmima (najčešće bakterije i virusi, protozoe i gljivice). Teška sepsa se odnosi na sepsu praćenu kombinacijom disfunkcije organa, hipoperfuzije ili hipotenzije (sistolni krvni pritisak <90 mmHg ili smanjenje >40mmHg od početnog stanja). Septički šok je definisan kao teška sepsa sa hipotenzijom koja je refraktarna za intravaskularnu koagulaciju tečnosti. Sindrom multifunkcionalne disfunkcije organa (MODS) odnosi se na poremećaj kardiovaskularne, plućne, gastrointestinalne i/ili funkcije jetre uzrokovanih SIRS-om (Randels, 2013).

Psi, kao i kopitari i ljudi pokazuju ranu, hiperdinamsku fazu sepse, koju karakteriše veliki srčani izliv, mali sistemski vaskularni otpor i normalan do povećani krvni pritisak. Ove promene su klinički prepoznate kao groznica, tahikardija, tahipneja, cigla crvene ili zamućene sluzokože, (CRP<2) ograničavajući pulsni kvalitet, te depresija (Randels, 2013).

Dijagnoza sepse bazira se na kliničkim i laboratorijskim nalazima, kao i na identifikaciji septičkog fokusa. Pacijente sa visokim rizikom treba tretirati empirijski ako postoji velika sumnja na sepsu (Randels, 2013). Definitivnu dijagnozu sepse kod pasa i mačaka je teško postaviti. Pozitivne krvne kulture mogu potvrditi bakteremiju, a merenje koncentracije endotoksina u serumu može dati potvrdu endotoksemije. Ovi testovi obično ne dozvoljavaju brzu dijagnozu, čineći kliničku sumnju posebno vrednom dok se čekaju laboratorijski i mikrobiološki rezultati. Uobičajena žarišta sepse uključuju peritonitis, pneumoniju, pitoraks i pielonefritis. Stoga je važno da životinje sa kliničkim znacima sepse dobiju potpunu dijagnostičku procenu, uključujući hroničnu skalu za procenu septičkog stanja pacijenta, biohemiju krvi, koagulacioni profil, pregled urina sa kulturom i antibiogramom, radiografiju grudi i/ili ultrazvuk abdomena, abdominalnu radiografiju i ehokardiografiju (Randels, 2013). Izvor infekcije, ukoliko je moguće, treba identifikovati što je moguće brže i izvršiti hiruršku

intervenciju uklanjanja žarišta sepse, obzirom da kod 20-30% pacijenata, izvor infekcije nije pronađen. Cilj terapije kod pasa i mačaka, koje su razvile sepsu, je da se pruži odgovarajuća terapija i održava odgovarajuća dostava kiseonika tkivima. Prevencija sindroma višestruke disfunkcije organa (eng. *Multiple organ disfunction syndrome - MODS*) je najvažniji jer stopa smrtnosti obično prelazi 50% (Randels, 2013).

2.2. Patogeneza – patofiziologija piometre

Hormonalna komponenta - Tradicionalne teorije sugerišu da hormonske promene dovode matericu u stanje da je podložna infekciji. Ovo mišljenje je izvorno zasnovano na radu Teunissena (1952) i Dowa (1957, 1959), koji su istraživali značaj estrogena i progesterona u razvoju endometritisa. Otkrili su da cistične i inflamatorne promene uterusa povezane sa endometritisom mogu biti izazvane aplikovanjem progesterona. Smatralo se da sam estrogen igra manju ulogu u patogenezi piometre, ali izgleda ipak povećava endometrijalnu reakciju na progesteron, a davanje estrogena u cilju prekida trudnoće, povećava rizik za piometru (Bowen i sar. 1985). Progesteron stimuliše endometrijsku glandularnu sekreciju i smanjuje kontrakcije materice, stvara okruženje unutar materice za rast mikroorganizama (Cox, 1970). Nekoliko autora je ranije istraživalo da li bi produžena ili prekomerna proizvodnja progesterona mogla biti odgovorna za razvoj piometre, ali nisu uspeli to da dokažu (Hadley, 1975; Chauffaux i Thibier, 1978; Austad i sar. 1979). Sama primena estrogena ne indukuje piometru kod pasa (Dow, 1959). Estrogen, međutim, poboljšava efekte progesterona, što zauzvrat može dovesti do razvoja bolesti (Teunissen, 1952; Lessei i sar. 1981). Ispitivana je mogućnost prekomernog endometrijskog odgovora na progesteron i/ili estrogen, ali nema konačnih dokaza o promenama receptora za ove hormone, kao i da su oni odgovorni za razvoj piometre (Dhaliwal i sar. 1998; De Bosschere i sar. 2002). Utvrđeno je da se pojava androgenih receptora u materici značajno smanjuje kod kuja sa piometrom u poređenju sa zdravim kujama (Sauerwein i sar. 1998). Interesantno je da su De Bosschere i saradnici (2001) utvrdili da se receptori estrogena i progesterona značajno razlikuju kod kuja sa cističnom endometrijalnom hiperplazijom (CEH) i kod kuja sa piometrom, pa su sugerisali da ove razlike ukazuju na različitu patogenezu ova dva stanja.

Progesteron igra važnu ulogu u stimulaciji proliferacije i sekrecije žlezda materice, smanjujući kontrakcije miometrijuma i umanjujući funkciju imunološkog odgovora (Teunissen, 1952; Dow, 1959). Endogeni ili egzogeni progesteron utiču na promene u materici, što je čini pogodnom za razvoj fetusa, ali takvo okruženje takođe olakšava intrauterino bakterijsko naseljavanje i rast, stvarajući optimalne uslove za razvoj infekcije sa posledičnim nastankom piometre (Dow, 1959; Teunissen, 1952). Piometra se može često nadovezati na cističnu endometrialnu hiperplaziju. Dow je još 1959. godine istakao da postoje patološke promene u materici koje predstavljaju CEH-piometra kompleks. Sa ovim zapažanjem složio se De Bosschere (2001) i istakao da se ovo stanje smatra prvim stepenom u nastanku piometre. Cistična endometrialna hiperplazija definiše se kao hipertrofija endometriuma sa izraženim uvećanjem žlezda i sekrecijom koja dovodi do ispunjenja lumena materice, a u zavisnosti kako izgleda sekret, na osnovu viskoziteta samog sekreta, može se govoriti o mukometri (*mucometra*) ili hidrometri (*hydrometra*) (De Bosschere, 2001). Kao značajnu razliku između sekreta CEH i piometre Verstegen (2008) je objavio u svom radu da je sekret CEH sterilan, dok sekret piometre nije. Kao posebne podgrupe, pojavljuju se termini hiperplastična i atrofična piometra. Osnovna karakteristika hiperplastinčne piometre je jaka zapaljenska reakcija zajedno sa CEH. Neutrofili, makrofagi, limfociti i plazma ćelije nalaze se u lumenu i endometrijumu, a endometrijum ima za posledicu fibrozu, nekroze, ulceracije, krvarenja i edeme oko blokiranih žlezda (De Bossere 2001).

Sa druge strane, za razliku od hipertrofične piometre, kod atrofične piometre izostaje CEH, a manifestna je atrofiya endometrijuma sa ulceracijama jakog stepena i zadebljanjem zidova materice (Vandeplassche, 1991). Atrofična piometra može se klasifikovati i kao hronični endometritis. Prema Dow (1959) kod ove atrofične piometre se radi o blažoj fazi koja bi, možda, mogla i spontano da se izleči.

Bakteriološka komponenta - Veliki broj radova ukazuje na dominaciju *Escherichia coli* (*E.coli*) u materici kuja sa piometrom (Vandesplasse, 1991; Dhaliwal i sar. 1998). Sandholm i saradnici (1975) su otkrili da se *E. coli* vezuje za receptore u endometrijumu koji je stimulisan progesteronom, što bi moglo biti jedno od objašnjenja za uočenu dominaciju ove bakterije. Grindlay i saradnici (1973) su otkrili da su određeni serotipovi *E. coli*, kao što su 02, 04, 06 i 075 najčešće povezani sa piometrom. Dhaliwal i saradnici (1998) su zaključili da *E. coli* serotipovi 032 i 04 najčešće bili izolovani kod infekcije uterusa. Pored toga, oni su otkrili da je citotoksin nekrotizujući faktor (CNF) utvrđen kod 7 od 16 kuja (44%) kod kojih je dijagnostikovana *E. coli* i koja je povezana sa piometrom.

Često se kod piometre javlja sindrom sistemskog inflamatornog odgovora kao odgovor organizma na sekundarnu bakterijsku infekciju izazvanu najčešće sa *E. coli* u 52,2% (Sant Anna 2014), odnosno 64,3% slučajeva (Enginler, 2014). Od ostalih mikroorganizama izolovana je *Klebsiella* spp. u 8,3% (Sant Anna, 2014) do 14,3% slučajeva (Enginler 2014), *Staphylococcus* spp. u 5,1% (Sant Anna, 2014) do 14,35% slučajeva (Enginler, 2014) i u manjem procentu *Pseudomonas* spp. (6,8%) i *Proteus* spp. (1,7%) (Sant Anna, 2014). Najčešće izolovani mikroorganizam kod piometre kuja jeste *E. coli* i koncentracija endotoksina u krvi pasa sa piometrom koji su uginuli iznosila je $74,2 \pm 18,3$ pg/mL što je statistički značajno veća nego kod pasa čiji je oporavak bio prognostički dobar ($9,5 \pm 18,3$ pg/mL) i koji su se brzo oporavili nakon intervencije (Okano, 1998). Promene endometrija izazvane progesteronom olakšavaju vezivanje *E. coli* na specifične receptore u endometrijumu, i verovatno doprinose razvoju bolesti (Sandholm i sar. 1975). U većini slučajeva piometre (70-90%), izolovana je *E. coli* (Hagman i Greko, 2005).

Rezultati bakteriološkog ispitivanja briseva materice 48 kuja sa piometrom pokazali su da je *E. coli* najčešći bakterijski izolat kod piometre. (Dhaliwal i sar. 1998) Ovo je u skladu sa rezultatima prethodnih studija (Sandholm i sar.1975; Kivisto i sar. 1977), koje su pokazale da je rast bakterija u materici prisutan u 98% slučajeva sa histopatološki potvrđenom dijagnozom piometre.

Načini infekcije materice sa *E. coli* mogu biti hematogeni, limfogeni, kao i vaginalni put (Dow, 1959b). Vaginalni način infekcije nije potvrđen istraživanjem Meyers-Wallen-a i saradnici (1986), koji su primetili da vrste bakterija izolovanih iz vagine ne predstavljaju ujedno uvek i bakterijske vrste izolovane iz materice sa piometrom. Sandholm i saradnici (1975) su ukazali da je zapaljenje bešike najčešće povezano sa piometrom i da su izolati *E. coli* izolovanih iz bešike i materice, bili slični. Pretpostavljeno je da urinarni trakt može služiti kao bakterijski rezervoar, a bakterije dospevaju uzlaznom putanjom u matericu tokom osetljive faze u estralnom ciklusu (Sandholm i sar. 1975). Iako je istraživanje problematike piometre kuja prilično dugo u naučnim radovima prisutno, patogeneza ove bolesti je još uvek nejasna. Razvoj je kompleksan i etiologija obuhvata kombinaciju efekata hormonske interakcije, virulencije uzročnih bakterijskih vrsta i suprotstavljanje odbrambenim mehanizmima (Millerliebl i sar. 1994; De Bosschere i sar. 2002). U jednoj velikoj studiji u Švedskoj, u proseku, skoro jedna petina svih kuja (19%) dobije dijagnozu piometre pre desete godine života (Jitpean i sar. 2012). Smith (2006) je izneo podatak da srednja vrednost starosti obolelih kuja je oko 7 godina i više i koje su imale više ciklusa. Ovi rezultati pokazuju da piometra postaje sve više uobičajena dijagnoza i da je ovo važna bolest fertilnih kuja (Egenvall i sar. 2001). Kod mnogih kuja sa manifestnom piometrom, klinički znaci su klasični

i dijagnoza je jasna i prilično brzo postavljena. Međutim, kod nekih pasa dijagnoza može biti otežana zbog difuznih kliničkih simptomima. Kod kuja sa zatvorenim grličem materice, tj. bez karakterističnog vaginalnog pražnjenja (vaginalnog iscedka), znaci su manje jasni. Najčešći prijavljeni klinički znaci iz istorije pacijenata, bili su vaginalno pražnjenje, anoreksija, depresija, polidipsija i poliurija. Ovi nalazi ilustruju lokalne i sistemske posledične bolesti (Dow, 1957; Borresen, 1979; Wheaton i sar. 1989; Hagman, 2012;). Veštačka infekcija uterusa 60 klinički zdravih kuja sa *E. coli* tokom estrusa i metestrusa, ukazala je da se kod svih kuja može izazvati piometra ograničeno na ranu fazu metestrusa (Tsumagari i sar. 2005).

Escherichia coli je izolovana iz uzoraka materica 79 kuja sa piometrom (79 izolata), iz uzoraka fekalija 10 pasa sa piometrom (ukupno 60 izolata) i iz mokraće kod 16 kuja (16 izolata) koje su istovremeno bolovale od piometre i infekcije urinarnog trakta (Wadas i sar. 1996). Pored toga, sakupljene su *E. coli* od 91 fekalnog izolata 91 zdravog psa, i 88 izolata iz urinarnog trakta pasa sa urinarnom infekcijom (Wadas i sar. 1996). Rezultati su pokazali da je nivo homogenosti izolata piometre *E. coli* veći (0,79) nego homogenost među epidemiološki nepovezanim fekalnim *E. coli* izolatima (0,69). Pretpostavljamo da je ovaj nalaz mogao biti rezultat određenih serotipova koji su preovladavali u skladu sa prethodnim studijama (Grindlay i sar. 1973, Dhaliwal i sar. 1998).

Bakteriološka istraživanja su takođe izvedena na fekalnim uzorcima 10 kuja sa piometrom i pokazali su da je najmanje jedan od 6 fekalnih izolata identičan ili veoma sličan izolatu *E. coli* uterusa, i na taj način bi se mogao objasniti uzlazni put infekcije iz fekalne flore u matericu (Fransson i sar. 1997). Uzlazni put infekcije prihvaćen je za druge urogenitalne bolesti, kao što su infekcije urinarnog trakta kod ljudi i pasa, gde su bakterije najčešće došle iz crevne flore (Stamey i sar. 1971). Sandholm i saradnici smatraju (1975) da urinarni trakt služi kao bakterijski rezervoar i inficira matericu tokom osetljive faze u estrus ciklusu. Za dokazivanje takve teorije bilo bi neophodno istraživanje. Verovatnije je da se urinarni trakt sekundarno inficira gnojnim vaginalnim pražnjenjem zbog piometre, s obzirom na anatomski zavisnu poziciju otvora materice kod kuja. Od ispitivanih 16 kuja sa piometrom koje su takođe imale infekcije urinarnog trakta, je identičan ili veoma sličan kod 14 od 16 slučajeva (88%). U preostala dva slučaja (12%) izolati su bili različiti. Ovo ukazuje na to da je isti soj *E. coli*, koji se nalazi u materici kuja sa piometrom, izazvao i urinarnu infekciju u većini slučajeva. Ovi rezultati su naknadno ponovljeni korišćenjem drugog metoda bakterijskog podtipovanja, tj. restriktivne enzimske digestije i elektroforeze gel pulsno polja (Hagman i Kühn, 2002).

2.3 Klinička manifestacija bolesti

Piometra se obično dijagnostikuje u fazi metestrusa ili diestrusa, prosečno u starosti od 6 do 9 godina (opseg između 9 meseci - 18 godina) (Dow, 1957; Wheaton i sar. 1989; Niskanen i Thrusfield, 1998). Klinički znaci zavise od cervikalne prohodnosti, ozbiljnosti sistemskog zapaljenja i funkcionisanja zahvaćenih organa. Kuje mogu imati piometru sa manifestnim iscetkom (otvorena) ili ne manifestnim iscetkom (zatvorena piometra), u zavisnosti da li je cerviks otvoren ili zatvoren. Vaginalno pražnjenje, koje je često vrlo neprijatnog mirisa i sa primesama krvi i gnoja, smatra se karakterističnim nalazom (Borresen, 1979). Međutim, vaginalno pražnjenje je prisutno samo u slučajevima piometre otvorenog grliće materice, tj. nema ga ukoliko je grlič materice zatvoren, što čini da se dijagnoza teže postavlja u ovim slučajevima. Drugi uobičajeni znaci piometre su nespecifičniji i uključuju letargiju, depresiju, nedostatak apetita, polidipsiju, poliuriju i povraćanje (Hagman i sar.,

2009). Često je prisutna hromost, ali generalno nestaje nakon tretmana piometre (Klainbart i sar. 2014).

Hagman (2012) je dao listu simptoma na koje treba obratiti pažnju pri dijagnostikovanju piometre i to sledećim redosledom: poliurija, polidipsija, temperatura, apatija, bol u stomaku, dehidracija i anoreksija. Od ostalih simptoma na koje treba obratiti pažnju su povraćanje i proliv, ubrzano disanje i ubrzan rad srca. Verstegen i saradnici (2008) su primetili u svom istraživanju da se gnojno-krvavi iscedak u maloj količini može primetiti i kod kuja sa zatvorenim cerviksom. Klinički znaci se razlikuju između pojedinačnih slučajeva, od samo suptilnih promena do teške depresije, groznice, anoreksije, povraćanja, poliurije i polidipsije (Dabrowski i sar. 2013; Nelson i Couto, 2014). Kod zatvorene piometre nema vaginalnog pražnjenja, za razliku od otvorene piometre cerviksa, kada gnoj akumuliran u uterusu curi kroz cerviks (Dabrowski i sar. 2007).

Piometra sa zatvorenim cerviksom se smatra hitnijim slučajem, jer gnoj može da izađe preko jajovoda u abdomen ili, čak, može doći do rupture zida materice i uzrokovati peritonitis (Jitpean i sar. 2014; Nelson i Couto, 2014). Kuja sa zatvorenom ili otvorenom piometrom može pokazivati znake dehidracije, groznice, kao i proširenu matericu na ultrasonografiji ili radiografiji (Dabrowski i sar. 2007 i 2013). Povećana materica može se često palpirati preko abdominalnog zida. Uobičajeni klinički znaci piometre nisu ograničeni na genitalni trakt, npr. vaginalno pražnjenje, već uključuju sistemske znakove kao što su povraćanje i/ili nedostatak apetita, poliuriju, polidipsiju i letargiju (Nelson i Feldman, 1986; Stone i sar. 1988). Uočeno je da su klinički znaci ozbiljniji u slučajevima kada je cervikalni kanal zatvoren (Borresen, 1975). Međutim, grlić materice može se spontano otvoriti ili zatvoriti tokom bolesti, uzrokujući povremeno vaginalno pražnjenje ili naglo pogoršanje kliničkog statusa kuje (Jitpean i sar. 2017). Asheim (1964) je uočio da je prisustvo bakterija u materici odgovorno za smanjenu sposobnost koncentracije urina. Nadalje, u svom radu je naveo da aplikacija toksina *E. coli* indukuje reverzibilno smanjenje sposobnosti bubrežnog koncentrisanja. Kasnije, isti autor uočava da je ovaj efekat prouzrokovao endotoksin. Suprotno ovom radu Stone i saradnici (1988) nisu našli promene u strukturi glomerula niti prisustvo bakterija u materici koji bi bili u vezi sa gubitkom sposobnosti urinarne koncentracije. Međutim, De Schepper i saradnici (1989) su našli dokaze o glomerularnom oštećenju kod 54 od 74 kuja (73%) sa piometrom, što se reflektuje proteinurijom, bilo samom ili u kombinaciji sa tubularnim lezijama, a na poslednje ukazuju povećani nivoi urinarne gama-glutamil transferaze (GGT). Novije istraživanje bubrežne disfunkcije kod kuja sa piometrom pokazalo je da je 13/55 pasa (24%) imalo povećanje GGT i/ili N-acetilbeta-glukozaminidaze, koji su enzimski markeri za oštećenje tubula. Povećanje urinarnih enzima je ponekad povezano sa smanjenom stopom glomerularne filtracije (Heinene, Moe i Molmen, 2001).

Razvoj piometre zavisi od nekoliko faktora, od kojih je rasa jedna od najvažnijih za predviđanje rizika za razvoj bolesti. Rizik za razvoj i piometre i tumora mlečne žlezde značajno varira između rasa pasa, te jer rizik od razvoja ovih bolesti visok kod nekoliko većih i velikih rasa pasa. Rizik se takođe povećavao sa starošću psa (Hagman, 2022; Hagman, 2011). Isti autori naveli su deset rasa pasa sa najvećim rizikom od razvoja piometre ili tumora mlečne žlezde, ili obe ove bolesti, do desete godine starosti. U ovu grupu spadaju: leonberger, irski vučji hrt, bernski planinski pas, danska dog, stafordski bul terijer, rotvajler, bul terijer, doberman, flandrijski govedarski pas i erdel terijer. Sa druge strane, rase sa najmanjim rizikom za razvoj piometre su: finski špic, norbotenski špic, tulearski pas, maltezer, gordon seter, samojed, persijski hrt, tibetanski terijer, lankaširski bul terijer i norvički terijer (Hagman, 2022; Holt i Thrusfield, 1993 i Arnold i sar. 1989). Holt i Thrusfield, (1993) opisuju da su rasa sa najvišim rizikom od razvoja piometre do 10. godine starosti zajedno sa povećanim rizikom od razvoja urinarne inkontinencije nakon sterilisanja su rase: bernski planinski pas, vajmarski ptičar, danska dog, doberman pinčer, leonberger,

engleski ovčar, rotvajler, irski vučji hrt, bokser, stafordski bul terijer, irski seter, nemački vučji špic, bul terijer, flandrijski govedar i njufaundlend.

Indikacije za sterilizaciju zdravih ženskih pasa uključuju preveliki broj kućnih ljubimaca, razlog je komfor vlasnika, pitanja vezana za ponašanje, kontracepciju i prevenciju bolesti (Blackshaw i Day, 1994; Rupperecht i sar. 2006; Reichler, 2009). Moguće zdravstvene prednosti kuja koje su sterilisane, su prevencija uobičajenih bolesti materice, kao što su cistična endometrijska hiperplazija i piometra, posebno kod visokorizičnih rasa. Osim toga, razlog za sterilizaciju mogu biti poremećaji estralnog ciklusa, kao što su teški hormonalni poremećaji i ciste jajnika (Krook i sar. 1960; Bishop, 1972; Patnaik i Greenlee, 1987; Gobelo i sar. 2001; Akihara i sar. 2007), rizik od drugih bolesti izazvanih proizvodnjom steroidnih hormona, kao što su neoplazija mlečnih žlezda i genitalnog trakta (Schneider i sar. 1969), dijabetesa tipa 2 indukovano progesteronom i višak hormona rasta, a koji je smanjen kod sterilisanih životinja (Eigenmann i sar. 1983; Fall i sar. 2007). Starosno doba u kom se vrši sterilizacija može pozitivno uticati na smanjenje rizika od piometre i tumora mlečnih žlezda, kao što pokazuje primer pasa sterilisanih u ranom dobu (pre prvog estrusa) koji imaju manji rizik od razvoja malignih tumora (0,5%), kada je sterilizacija izvršena posle drugog estrusa procenat se povećao na 8%, odnosno od 26% ako se sterilizacija radi u strijem dobu kuje (Schneider i sar. 1969). Sterilizacija kuja povezana je sa nekim negativnim neželjenim efektima kao što su urinarna inkontinencija, vaginitis, prekomerna težina (German, 2006), promenjena konzistencija vaginalne sluznice i promene ponašanja (Sorenmo i sar. 2000; Hart, 2001; Cooley i sar. 2002; Slauterbeck i sar. 2004; Belsito i sar. 2009). Urinarna inkontinencija može biti neizlečiva i pokazano je da sterilizacija dovodi do stečene urinarne inkontinencije u skoro 10% analiziranih kuja (Stocklin-Gautschi i sar. 2001). Pojava urinarne inkontinencije posle sterilizacije se takođe značajno razlikuje od rase do rase i češća je kod velikih rasa pasa sa masom preko 20 kg (Arnold i sar. 1989; Stocklin-Gautschi i sar. 2001).

Pored toga, u jednom radu autori opisuju da su bokseri imali visok rizik (65%) od razvoja urinarne inkontinencije nakon sterilizacije (Arnold i sar. 1989). Neke veće ili velike rase pasa koje imaju veliki rizik od razvoja piometre, imaju i povećan rizik za razvoj urinarne inkontinencije nakon sterilizacije. Međutim, pojavljivanje neželjenih efekata može se takođe razlikovati u zavisnosti od starosne dobi u kojoj se kuje sterilišu (Stocklin-Gautschi i sar. 2001). Sterilisani psi imaju veće šanse da postanu previše gojazni, a gojaznost može zauzvrat povećati rizik za bolesti kao što su dijabetes mellitus (DM) (Lund i sar. 2006.) (Lund i sar. 2006). Suprotno ovom radu jedna druga studija pokazala je da sterilizacija nije povezana sa povećanim rizikom od razvoja DM (Mattin i sar. 2014). Nekoliko faktora utiču na rizik od DM uključujući i rasu (Fall i sar. 2007), primenjene lekove ili hormone (npr. progesteron) (Krook i sar. 1960; Wilkinson, 1960). Sterilisani psi imaju veći rizik od razvoja neoplastičnih stanja poput osteosarkoma i hemangiosarkoma (Smith, 2014). Rizik od razvoja osteosarkoma se povećava skoro dva puta kod nesterilisanih pasa (Ru i sar. 1998). Takođe je naznačeno da sterilisane kuje žive duže od nesterilisanih kuja (Michell, 1999; Hoffman i sar. 2013). Zbog toga što su maligne bolesti kod starijih pasa česte, činjenica je da sterilisani psi žive duže od nesterilisanih (Hoffman i sar. 2013). Sterilizacija u mlađoj dobi (<4 godine života) dovela je do kraćeg životnog veka nego kada je sterilizacija izvršena nakon četiri godine života (Waters i sar. 2009). Estrogeni poboljšavaju imunološki odgovor (Cutolo i sar. 2004) i imaju antioksidativne osobine (Borras i sar. 2003), što je navedeno kao jedan od razloga zašto žene žive duže od muškaraca (Austad, 2006).

Endotoksin kod piometre - Dokazano je da su koncentracije endotoksina u krvi povezane sa težinom kliničkih znakova i mortaliteta kod kuja sa piometrom. Koncentracije endotoksina kod kuja koje su uginule od piometre bile su značajno veće nego kod onih sa dobrim ishodom ($74,2 \pm 18,3$ pg / mL nasuprot $9,5 \pm 18,3$ pg /mL) (Okano i sar. 1998). Borresen i Naess

(1977) nisu dijagnostikovali endotoksemiju kod kuja sa piometrom, dok su Wessels i Wells, (1989) utvrdili endotoksemiju sa srednjim koncentracijama endotoksina u plazmi od 438 pg/mL kod 15 kuja sa piometrom pre operacije.

Lipopolisaharidni endotoksin (LET) je komponenta ćelijskog zida *E. coli* i drugih gram-negativnih bakterija, koji se oslobađa usled smrti i poremećaja bakterijske ćelije, ili tokom brzog razmnožavanja bakterija (Crutchley i sar. 1967). Normalno, male količine LET iz crevne bakterijske flore apsorbuju se u portalnu krv i transportuju do jetre, gde se eliminišu u dva koraka (Fox i sar. 1990). Kupferove ćelije zarobljavaju endotoksin (ET) i modifikuju, kako bi se olakšalo preuzimanje od strane hepatocita. Hepatociti zatim delimično detoksifikuju i eliminišu modifikovani ET. Čišćenje ET iz portalne krvi je veoma brzo i odvija se za nekoliko minuta (Fox i sar. 1990). Delimično degradirani ET se polako izlučuje iz tela, uglavnom putem creva. Još jedan put izlučivanja ET, u normalnim okolnostima, a koji je manje značajan, jeste preko pluća, kada makrofagi koji nose ET migriraju do pluća i prolaze kroz alveolarni i bronhiolarni prostor (Freudenberg i Galanos, 1988).

Sistemske efekte ET se vide samo kada je prekoračen kapacitet jetre da očisti (efekat preliivanja) (Okano i sar. 1993). Kada ET dospe u cirkulaciju, može doći do širokog spektra bioloških efekata. Jedan od efekata je generalizovana stimulacija imunološkog sistema i baktericidnog efekta. S druge strane, masovno oslobađanje ET često uzrokuje nepovratan šok i smrt (Rietschel i Brade, 1992). Eksperimentalno je dokazano da doze ET, a koje su manje od smrtonosne, uzrokuju groznicu, letargiju i porast stope poremećaja srčanog ritma i disanja. Veće ET doze kod pasa dovele su do hemoragijske dijareje i povraćanja (Hardie i Kruse-Elliot, 1990). Početne hemodinamske promene dovode do portalne hipertenzije i smanjenja centralnog venskog krvnog pritiska i sistemskog krvnog pritiska. Isti autori navode da u endotoksičnom šoku, ove rane promene su tranzitorne i normalne vrednosti se vraćaju, ali ako se neadekvatno leči, stanje napreduje do refraktorne hipotenzije (Hardie i Kruse-Elliot, 1990). Infarkt miokarda i smrt obično su ishodi teškog endotoksičnog šoka. Histopatološki su zabeležene promene u jetri i bubrezima, hepatocelularne nekroze, blagog plućnog edema, kao i subendokardijalne, adrenalne i gastrointestinalne hemoragije (Hardie i Kruse-Elliot, 1990). Molekul ET nije direktno citotoksičan, već u kombinaciji sa inflamatornim ćelijama, uglavnom makrofagima, trombocitima i vaskularnim endotelom, što dovodi do oslobađanja zapaljenskih medijatora, kao što su citokini (faktor tumorske nekroze, interleukin-1,6,8), lipidni medijatori (tromboksan, prostaglandini, faktor aktivacije trombocita) i slobodni radikali kiseonika (Rietschel i Brade, 1992). Kao odgovor na ove primarne medijatore, oslobođeno je više sekundarnih posrednika i zajedno ovi posrednici indukuju zapaljenske promene i smrt ćelije (Hardie i Kruse-Elliot, 1990). Ozbiljnost kliničkih znakova takođe je povezana sa stepenom imunosupresije kod pasa sa piometrom. Imunosupresija se odražavala smanjenjem aktivno fagocitozirajućih neutrofila i monocita u perifernoj krvi i inhibicijom aktivnosti limfocita. Aktivnost inhibicije limfocita može se preneti serumom kuja sa malom limfocitnom aktivnošću na ćelijske kulture normalnih limfocita. Serum kuja sa piometrom pokazao je veći sadržaj imunoglobulina i cirkulišućih imunoloških kompleksa i lizozima (Faldyna i sar. 2001). Psi sa klinički teškom slikom, pokazali su najizraženije promene, klinički status je bio direktno proporcionalan stepenu leukocitoze i limfopenije (Faldyna i sar. 2001). Supresija limfocitne aktivnosti može biti indukovana endotoksemijom. Bakterijski proizvodi ili komponente mogu biti jedan od razloga za poremećaj imunološkog odgovora, a endotoksemija kod ljudi je povezana sa smanjenom produkcijom proinflamatornih citokina (Granowitz i sar. 1993).

Sindrom sistemske zapaljenske reakcije je klinička manifestacija odgovora na podsticajni stimulus koji je dovoljno jak da izazove sistemsko oslobađanje cirkulišućih inflamatornih medijatora (Purvis i Kirby, 1994; Brady i Otto, 2001). Svaka teška povreda ili infekcija može

potencijalno dovesti do SIRS, kao što je pankreatitis, toplotni udar, opekotine, višestruka trauma ili sistemska neoplazija (Purvis i Kirby, 1994). Rana dijagnostika SIRS je ključna zbog rizika za fatalne komplikacije nastale usled progresije ovog sindroma. Pacijenti sa kliničkom manifestacijom SIRS su izloženi riziku od razvoja sindroma višestrukih disfunkcija organa (MODS), koji nosi visoku stopu smrtnosti i pored napredovanja intenzivne nege pacijenata poslednjih godina (Deitch i Goodman, 1999; Brady i Otto, 2001). Čak i kod pacijenata sa manje ozbiljnom slikom SIRS-a rizik za MODS je veći ako dođe do reaktivacije zapaljenskog procesa. Često se kao primer navodi infekcija na mestu katetera, takozvana teorija "dva udara" (Saadia i Schein, 1999).

Neuravnotežen imunski odgovor na prozapaljenske citokine kao što su interleukin-1 (IL-1), IL-6 i faktor nekroze tumora (TNF α) smatrani su uzrokom napredovanja SIRS-a u višestruku disfunkciju organa (Deitch i Goodman, 1999; Brady i Otto, 2001). Kod ljudi su klinički kriterijumi utvrđeni kako bi se prepoznao SIRS (Bone i sar. 1992) i ovi kriterijumi su pokazali značajnu korelaciju sa mortalitetom i/ili morbiditetom, koji se ogledaju u fiziološkom propadanju i povećanoj disfunkciji organa (Muckart i Bhagwanjee, 1997; Sun i Aikawa, 1999; Bossink i sar. 1998; Weiss, 2015; Afessa i sar. 2001; Bochicchio i sar. 2002; Buter i sar. 2002; Pietrantonio i sar. 2003). Granice za kliničke kriterijume koje se koriste kod ljudi, uključujući groznicu ili hipotermiju, tahikardiju, hipokapneju ili tahipneju, povećanje ili smanjenje broja ćelija bele krvne loze i/ili povećane neutrofile, utvrđene su i za pse (Purvis i Kirby, 1994; Hardie, 1995; Hauptman, Walshaw i Olivier 1997). Više autora istraživalo je senzitivnost i specifičnost različitih graničnih vrednosti za otkrivanje sepse. Otkrili su da su ranije predložene granične vrednosti pokazale osjetljivost u detekciji sepse od samo 77-83% (Hauptman, Walshaw i Olivier, 1997). Uz dodatne modifikacije ograničenja za ove kriterijume, Hauptman je postigao senzitivnost od 97%, smanjivši rizik za ozbiljne posledice koje mogu nastati zbog neuspeha identifikacije sepse, tj. SIRS-a, pre početka disfunkcije organa. Međutim, sa definisanim ograničenjima radi povećanja osetljivosti, povećan je i broj lažnih pozitivnih rezultata u identifikaciji sepse (specifičnost 64%) (Hauptman, Walshaw i Olivier, 1997).

Objavljeni radovi iz humane medicine procenili su različitu sposobnost zapaljenskog medijatora da konkretnije deluje kao marker za sepsu/SIRS i prediktore ishoda (Bossink i sar. 1998; Brunkhotst i sar. 2000; Harbarth i sar. 2001, Whicher i sar. 2001; Reny i sar. 2002; Marik, 2002). U humanoj intenzivnoj nezi pokazalo se da se vrednost TNF α u plazmi povećava sa SIRS-om i MODS-om (Spielmann i sar. 2001), a uočena su i povećanja IL-6 i CRP kod inficiranih pacijenata sa SIRS-om (Gogos i sar. 2001).

2.4. Hematološki i biohemijski parametri

Sistemske efekte piometre odražavaju se u nekoliko laboratorijskih parametara i mogu se proceniti na osnovu promena leukograma sa izraženim povećanjem ukupnog broja belih krvnih zrnaca (*eng.* White blood cells - WBC) i obično regenerativno skretanje u levo, u diferenciranom WBC broju (Dow, 1957; Sandholm i sar. 1975; De Shepper i sar. 1986; Stone i sar. 1988; Wheaton i sar. 1989; Sevelius, 1990). Ostale abnormalnosti u krvi uključuju normocitnu, normohromnu anemiju, smanjena eritropoeza dovodi do anemija (anemija hronične bolesti) i gubitka eritrocita u lumenu uterusu (Shalm, 1973). Anemija hronične bolesti može biti uzrokovana raznim poremećajima uključujući hronično zapaljenje u kojoj reakcije laktoferina i drugih proteina akutne faze posreduju u sekvestraciji gvožđa unutar mieloidnih ćelija u koštanoj srži, povlačeći gvožđe iz normalne eritropoeze (Nelson i Couto, 1998). Uobičajene hematološke promene kod pasa sa piometrom uključuju leukocitozu,

neutrofiliju sa skretanjem “u levo” i blagu normocitnu, normohromnu i neregerativnu anemiju. Ovi simptomi nisu karakteristični za piometru i mogu se uočiti kod mnogih drugih bolesti (Bartoskova i sar. 2007; Hagman i sar. 2006a; Fransson i sar. 1997; De Schepper i sar. 1987a, Borresen, 1979). Leukopenija je ređe dijagnostikovana kod kuja sa piometrom (Borresen, 1980). Među analiziranim hematološkim varijablama, najčešći rezultati kod pasa sa piometrom i prisutni kod više od 50% pasa, bili su neutrofilija (55,3%), leukocitoza (54,3%) i monocitoza (50,7%) (Fransson i sar. 1997; De Schepper i sar. 1987b). Leukopenija je bio najvažniji parametar, povezana sa povećanim rizikom nastanka peritonitisa i povećanim rizikom za produženu postoperativnu hospitalizaciju. Groznica, ili hipotermija, bila je povezana sa povećanim rizikom nastanka peritonitisa. Psi sa umerenim i ozbiljnim poremećajem opšteg stanja imali su povećani rizik od produžene postoperativne hospitalizacije. Ovi rezultati pokazuju da najčešće istraživane kliničke varijable mogu biti korisne za prognozu i tok bolesti (Hagman i sar. 2006b;).

Hiperglobulinemija sa izraženom hipoalbuminemijom, bilirubinemijom, hiperholesterolemijom i povećanjem alkalne fosfataze (ALP), aspartat aminotransferaze (ASAT) i laktat dehidrogenaze (LDH) povezani su sa piometrom, dok serumska alanin aminotransferaza (ALAT) se obično značajno smanjuje (Borresen, 1980; De Schepper i sar. 1987a; Capiou i sar. 1987). Asheim (1964) je uočio da je uzrok hiperglobulinemije, uz istovremenu hipoalbuminemiju, posledica bubrežnog gubitka albumina, ali kasni radovi su pokazali samo blage do umerene gubitke proteina preko urina (Borresen, 1980; Sevelius i sar. 1990) i tumače se kao promene serumskih proteina kao deo reakcije akutne faze (Borresen, 1980).

Smatra se da su povišeni nivoi ALP, bilirubina i serumskog holesterola posledica intrahepatične holestaze (Borresen, 1980). Enzimi ASAT i LD, koji su obično prisutni u jetri, kao i u skeletnim i srčanim mišićima, često su povišeni u slučajevima piometre (Borresen, 1980). Borresen (1980) sugerišu da povišeni nivoi ASAT i LD verovatno pre proizilaze od miolize nego od hepatocelularnih promena. Ova konstatacija je zasnovana na opažanju povećanja aktivnosti mišićnog enzima kreatin-kinaze (CK) i smanjene aktivnosti ALAT (Borrese, 1980; De Schepper i sar. 1987), što ukazuje na to da nije došlo do hepatocelularnog oštećenja. Kasnije analize uzoraka biopsije jetre pokazali su infiltraciju masti i žučnih boja, u skladu sa holestazom, ali bez ozbiljne hepatocelularne nekroze (Borresen, 1980; Sevelius i sar. 1990). De Schepper i saradnici (1987) sugerišu da disfunkcija jetre, povezana sa endotoksinom, može biti odgovorna za uočeno povećanje ASAT i smanjenje koncentracije ALAT. Prema rezultatima istraživanja Holbruka i Udlsmana (1994), nakon dva sata od delovanja štetnog agensa, aminokiseline ulaze u jetru, te dolazi do menjanja aktivnosti enzima pod dejstvom gvožđa i cinka (glikotransferaze, tirozin aminotransferaze).

Azotemija kod kuja obolelih od piometre je uočena kod 15-31% slučajeva (povećan serumski kreatinin i/ili povišena koncentracija uree u krvi) (Borresen, 1980; De Schepper i sar. 1987a, De Schepper i sar. 1987b). Asheim (1964) je proučavao bubrežnu disfunkciju i zaključio je da su poremećaji u oslobađanju antidiuretičkog hormona iz hipotalamus-hipofize najverovatnije nisu razlog za poliuriju kod kuja sa piometrom. Podržavajući ovaj zaključak, dalja istraživanja otkrila su patološke promene u bubrezima, koje su imale iste morfološke osobine sa glomerulonefritisom kod ljudi i bile reverzibilne nakon ovariohisterektomije (Asheim, 1964). Funkcije organa mogu se izmeniti, uključujući funkciju bubrega i jetre, na što ukazuju povećanja koncentracije kreatinina, azota i uree u krvi, hipoalbuminemije i proteinurije (Maddens i sar. 2011; Fransson i sar. 1997; De Schepper i sar. 1987b; Borresen, 1979). Poremećena bubrežna funkcija može biti posledica zapaljenja ili glomerulonefritisa izazvanog sa imuno-kompleksom, što dovodi do glomerularne i tubularne disfunkcije (Asheim, 1964; Heiene i sar. 2007; Maddens i sar. 2011). Povećana aktivnost alkalne fosfataze, bilirubina i holesterola u serumu može ukazivati na intrahepatičnu holestazu, koja

se takođe smatra mogućom posledicom endotoksemije uzrokovane sa *E. coli* (Borresen i Skrede, 1980; Borresen, 1980; Sato i sar. 2002).

Utvrđeno je povećanje koncentracije proteina akutne faze, CRP, kod kuja sa piometrom i posledično nastalom sepsom. Iako nespecifičan, CRP bi stoga mogao biti potencijalni marker za identifikaciju težih stanja obolelih pasa (Borresen i Skrede, 1980). Pojedinačna studija o jednodnevnoj ili dugoročnoj varijaciji CRP takođe nije mogla da utvrdi bilo kakvu sistematičnu varijaciju u okviru jedinke, već je uočila razliku u homeostatskim željenim/ciljanim vrednostima CRP između pojedinaca/jedinki (Otabe i sar. 1998). Krajnji zanimljiv aspekt CRP kod zdravih pasa je utvrđenje povišene koncentracije CRP u fiziološkim stanjima. Najpre je Ulutas i saradnici (2009), utvrdio da se koncentracija CRP povećava u toku estrusa i da najveću koncentraciju dostiže 30-45 dana nakon ovulacije. Kod gravidnih pasa (rasa bigl) utvrđena je koncentracija od 77,5 mg/L (Eckersall i sar. 1993; Concannon i sar. 1996; Kuribayashi i sar. 2003). Kod skotnih kuja je primećeno značajno povećanje CRP-a u periodu od 21. do 55. dana nakon ovulacije, u poređenju sa kujama koje nisu gravidne, a u istoj fazi estralnog ciklusa (Concannon i sar. 1996). Povećanje CRP-a je bilo jednako onom u odgovoru akutne faze, ali poseban izvor stimulusa ostaje nejasan, iako je najverovatnije uzrok zapaljenska reakcija na embrionalnu implantaciju (Eckersall i sar. 1993). Velika dijagnostička osetljivost serumskog CRP-a je primećena kod otkrivanja sistemskog zapaljenja i definisane su značajnim brojem cirkulišućih neutrofila (Burton i sar. 1994). Velika dijagnostička osetljivost i specifičnost CRP-a u korelaciji sa brojem neutrofila, u razlikovanju piometre i endometrijske hiperplazije, uočena je u studiji Fransson i saradnika (2004). Eckersall i saradnici (1988) su ispitali koncentracije CRP kod 155 kuja i utvrdili su povećanu koncentraciju CRP-a kod 67 pasa, koji su svi imali prepoznatljivo zapaljensko žarište. Ovo ukazuje na dobru i značajnu kliničku vrednost ovog rezultata (Riley i Zontine, 1972; Kjelgraad Hansen i sar. 2013).

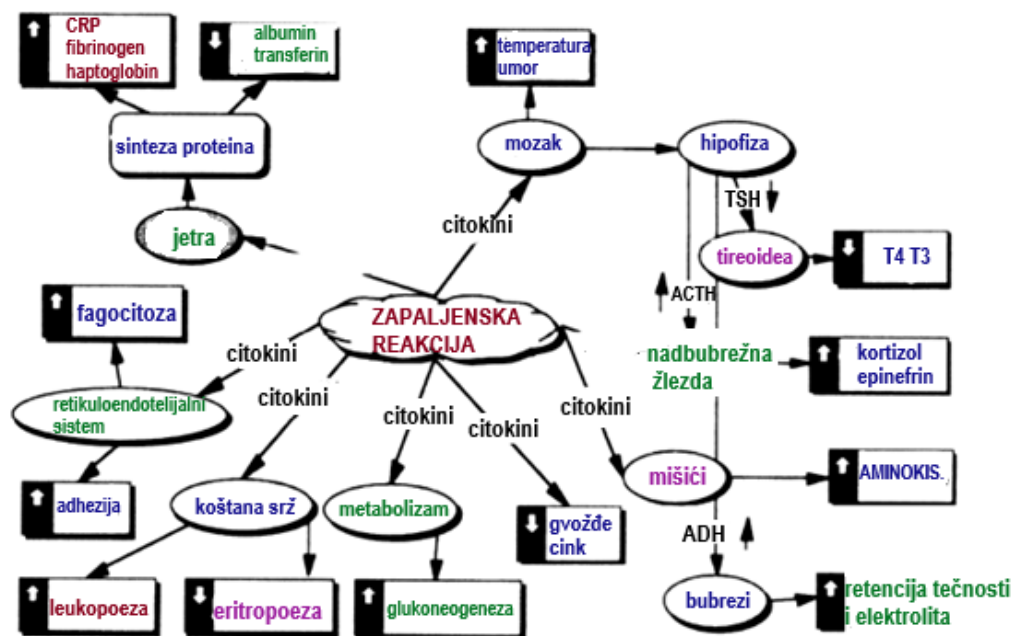
Dalje, jačina reakcije bila je u korelaciji sa određenim grupama uzroka, koju su autori protumačili kao sposobnost da stepenuju/označe zapaljensku aktivnost pomoću CRP merenja (Eckersall i sar. 1988), što je i zaključak dole navedenih istraživanja. Istraživanje o leišmaniozi kod pasa (*C. leishmaniasis*), potvrdilo je ispitane koncentracije CRP kao metodu za otkrivanje supkliničkih stanja bolesti (Martínez-Subiela i sar. 2002). Za razliku od leišmanioze CRP nije imao tu karakteristiku u otkrivanju supkliničke erlihije (Rikihisu i sar. 1994; Shimada i sar. 2002). Pa ipak, CRP odgovor je pronađen u hroničnoj fazi prirodno inficiranih pasa erlihijom u trenucima njene akutizacije bolesti (Rikihisu i sar. 1994). Izgleda da je relativna koncentracija CRP-a u korelaciji sa postojećom aktivnošću bolesti i ozbiljnošću ili prognozom obolelih pasa u nekoliko istraživanja: erozivni nasuprot neerozivnog artritisa (Caspí i sar. 1987), metastazna nasuprot lokalne neoplazije mlečne žlezde (Caspí i sar. 1987), komplikovana nasuprot nekomplikovane babesioze (Matijatko, 2002), edematozni nasuprot nekrotičnom pankreatitisu (Spillmann i sar. 2002), relativna aktivnost bolesti kod upalne bolesti creva, enteritisa (Jergens i sar. 2003), što odgovara kliničkom poboljšanju kod pasa sa različitim poremećajima (Yamamoto i sar. 1993).

Postoje i dva nezavisna istraživanja koja su takođe ocenila CRP kao krajnju tačku efikasnosti lečenja sa pozitivnim rezultatima (Jergens i sar. 2003; Martínez-Subiela i sar. 2003).

Pored dijagnostike zapaljenskih procesa, CRP se može koristiti i kao klinički parametar za procenu težine bolesti, kao i za merenje opsega nivoa zapaljenja. Ponavljana merenja CRP mogu biti korisna za praćenje rezultata lečenja antibioticima. Smanjenje koncentracije CRP, otkriveno u ponovljenim merenjima kod psa s nekom vrstom zapaljenja, nagoveštava da se intenzitet zapaljenja bolesti prirodno smanjuje, ili da medicinski tretman ima dobar rezultat za lečenu jedinku. Rano prepoznavanje SIRS-a kod pacijenata je važno zbog adekvatne i pravovremene terapije kao i nastavka praćenja ovih pacijenata. Pacijenti koji su klasifikovani

kao SIRS pozitivni treba da ispunjavaju dva od četiri kriterijuma, a koji obuhvataju frekvencu disanja od preko 40 respiracija u minuti, preko 120 otkucaja srca u minuti, telesnu temperaturu nižu od 38,1°C ili višu od 39,2 °C, i broj eritrocita ispod $6 \times 10^6/\text{mL}$ ili preko $16 \times 10^6/\text{mL}$ (Sant Anna, 2014. Liao, 2014.). Kod pacijenata sa piometrom uočeno je povećanje broja leukocita, kao i pomeranje bele krvne loze u levo (De Shepper, 1986, Sevelius, 1990), a javlja se i anemija zbog gubitka eritocita u lumen uterusu (Shalm, 1973), niska aktivnost serum alanin aminotransferaze (ALT) (Capiau, 1987) i povećana koncentracija vrednosti uree u krvi (De Scheper, 1987c). De Scheper i saradnici (1989) u svom radu su utvrdili u 73% slučajeva kuja sa piometrom oštećenje glomerula i proteinuriju, kao i povećanje aktivnosti gama glutamil transferaze kao markera oštećenja tubula.

C-reaktivni protein je glavni protein iz grupe proteina akutne faze i njegova koncentracija u krvi raste veoma brzo; već za 24-48h od 1mg/L može dostići vrednosti preko 100 mg/L kod infektivnih bolesti, dok je njegova koncentracija kod zdravih životinja veoma niska i iznosi ispod 1µg/L (Schmidt, 2015).



Slika 1. Zapaljenska reakcija (preuzeto i modifikovano prema Kjelgaard-Hansen i sar. 2003)

Dabrowski i saradnici (2008), ispitali su promene vrednosti CRP, serum amiloid A (SAA) i haptoglobina kod kuja posle ovariehisterektomije zdravih kuja i kuja sa piometrom i to pre operacije, odmah nakon intervencije, zatim 1. 3. 5. 10. i 17. dana posle hirurške intervencije. Rezultati rada pokazuju značajan pad CRP i SAA tokom ispitivanih dana dok koncentracija haptoglobina nije se značajno menjala. Dabrowski i saradnici (2015), ispitujući vrednosti CRP pre operacije, trećeg i desetog dana posle hirurške sanacije piometre, i grupe klinički zdravih kuja koje su sterilisane, ustanovili su pad vrednosti CRP u obe ispitivane grupe, pri čemu je grupa kuja sa piometrom pre operacije imale značajno više vrednosti ovog proteina. Isti autori smatraju da se CRP može koristiti kao marker postoperativnog toka. Vrednosti CRP su se značajno smanjile 48-72h posle operacije piometre i mogu ukazati na povoljnu prognozu ovog oboljenja. Smanjene koncentracije gvožđa najčešće se nalazi kod piometre. Pokazano je da je kod miševa, kojima je supkutano ubrizgano terpentinsko ulje, došlo do zapaljenskog odgovora i kasnije smanjenog cirkulišućeg gvožđa (Nicolas i sar. 2002). Slična studija

izvedena kod pasa kojima je aplikovano terpentinsko ulje i kultura stafilokoka i dovelo je do smanjenja koncentracije gvožđa i pre nego što je razvijena anemija (Gbeenberg i sar. 1947). Hipoglikemija, utvrđena u radu Alamgira i saradnika (2006) kod pacijenata kod kojih je dijagnostikovana sepsa, pokazuje da je nizak nivo glukoze u krvi povezan sa visokim rizikom smrtnosti od sepse izazvane *E. coli* (Slika 1).

Peritonitis je bio najčešća komplikacija kod kuja sa piometrom koje su podvrgnute hirurškom lečenju, prisutna je kod oko 13%, od kojih je jedna kuja uginula postoperativno. Pored toga, za 12 od 40 kuja sa peritonitisom koje su bile hirurški lečene bila je neophodna produžena postoperativna hospitalizacija (Rubio i sar. 2014). Kod piometre, peritonitis može biti posledica isticanja gnoja iz jajovoda (Rubio i sar. 2014) ili kod ruptуре uterusa. Septični peritonitis je povezan sa visokim rizikom od uginuća sa stopom smrtnosti od 30-70% kod pasa (Ludvig i sar. 1997; Lanz i sar. 2001; Mueller i sar. 2001). Smrtnost pasa sa peritonitisom u radu Oelzner i Munnich (1997), bila je niža od 1%, u odnosu na prethodni rad u kom je uginulo u proseku 40% pasa sa piometrom, a kojima je dijagnostikovao peritonitis. Leukopenija je prisutna u sedam hirurški lečenih pasa, a kod šest od ovih (85%) je postoperativna hospitalizacija bila produžena, što ukazuje na težinu bolesti. Kod kuja sa leukopenijom došlo je do 18 puta povećanog rizika od nastanka peritonitisa i 3,5 puta povećanog rizika od potrebe za produženom postoperativnom hospitalizacijom. Iako je nekoliko pasa (samo 8) imalo leukopeniju, ovi rezultati ukazuju da leukopenija treba da se uzima u obzir prilikom procene težine piometre (Mueller i sar. 2001). Smanjen broj leukocita povezan je težom kliničkom slikom piometre dok se kod ljudi sa sepsom dovodi u vezu sa povećanim rizikom od smrtnosti (Afessa i sar. 1995; Hook i sar. 1983).

2.5 Dijagnoza i lečenje piometre

Dijagnostička obrada psa sa sumnjom na piometru obično uključuje: prikupljanje podataka o bolesti i o opštoj istoriji (anamneza) od vlasnika psa, fizički pregled obolele jedinke, laboratorijske analize krvi, hematologije i biohemijskih parametara i dijagnostičko snimanje radiografijom i/ili ultrazvučno abdomena. Ultrazvučni pregled abdomena omogućava otkrivanje tečnog sadržaja materice, čak i manjih količina, a takođe mogu biti vidljivi CEH i promene na jajnicima. Ultrasonografija se smatra pouzdanim dijagnostičkom metodom za postavljanje dijagnoze bolesti materice povezane sa akumulacijom tečnosti; ali pošto pregled zavisi od opreme i veština ispitivača, nije uvek moguće otkriti manje endometrijalne ciste (Bigliardi i sar. 2004). Pored toga, akumulacija tečnosti u materici nije uvek posledica piometre: uzrok može biti mukometra, hidrometra ili hematometra, pa su bakterijska izolacija i histopatološki pregled neophodni za tačnu dijagnozu. Rana dijagnoza piometre i procena težine oboljenja je preduslov za optimalne odluke o lečenju, tj. o tome da li treba obaviti hitnu operaciju čim se opšte stanje pacijenta stabilizuje, ili se operacija može odložiti bez rizika za pacijenta. Postoji više načina lečenja ovog oboljenja. Osnovna podela je na radikalnu (hiruršku) i konzervativnu (medikamentozna) metodu.

Hirurško lečenje - Već nekoliko decenija se najefikasnijim lečenjem piometre smatra hirurško uklanjanje jajnika i materice (OHE) (Rootvelt-Andersen i Farstad, 2006), jer sprečava ponavljanje bolesti. Stabilizacija pre operacije, npr. primenom intravenskih tečnosti, regulaciju ravnoteže elektrolita i kiselo-bazne ravnoteže i antimikrobna terapija generalno se izvode u teškim slučajevima kako bi se povećao procenat preživljavanja i sprečile komplikacije povezane sa sepsom kao što su bakterijske embolije ili šok (Conti-Patara i sar. 2012). Ovariohisterektomija kao radikalni način lečenja, smatra se najsigurnijim i najefikasnijim metodom lečenja piometre (Hagman, 2012), kao i novi laparoskopski pristup hirurškog lečenja (Mayhew i Hunt, 2013). Prema Hagmanu (2012) pristupanje radikalnom

zahvatu treba da usledi nakon što se pacijentu stabilizuje opšte zdravstveno stanje. U jednoj velikoj studiji, u kojoj je analizirano 355 pasa, postoperativno je uginulo samo četiri hirurški lečenih psa, što je dovelo do smrtnosti od 1% (Hagman, 2012). Ovo je niže od smrtnosti koja je zabeležena u radovima drugih autora (Wheaton i sar. 1989; Hagman i sar. 2007; Kuplulu i sar. 2009). Rutinski, u toku prva tri dana nakon operativnog zahvata, rekonvalescenti se podvrgavaju permanentnom monitoringu (praćenje vitalnih parametara, biohemijske krvne analize, praćenje opšteg zdravstvenog stanja). Uprkos tome što je piometra vezana za relativno nisku smrtnost, neophodna postoperativna hospitalizacija primećena je u oko 20-40% slučajeva (Hilstrom, 2014).

Medikamentozna terapija - Ako se radi o vrednoj, reproduktivnoj jedinki, može se pokušati i sa konzervativnom terapijom. Medikamentozna terapija piometre je opcija u odabranim slučajevima, kao što je očuvanje plodnosti kod kuje sa blažim stanjem bolesti ili ako se operacija ili anestezija smatraju visokorizičnim za ozbiljne komplikacije ili smrt. Danas, u prvom redu, kod ovakve terapije, koriste se antiprogestageni preparati. Ovim preparatima, pokušava se izvršiti evakuacija sadržaja iz obolele materice. Protokoli lečenja uključuju antimikrobnu terapiju koja se primenjuje u kombinaciji sa lekovima koji izazivaju otvaranje i pražnjenje sadržaja materice i mogu uključiti antagonist progesterona, agoniste dopamina, prostaglandine, ili kombinaciju ovih lekova (Gobello i sar. 2003; Corrada i sar. 2006, Fieni, 2006). Prijavljena stopa recidiva kod ovog načina lečenja iznosi 19-48%, pošto obolela materica nije uklonjena, postoji rizik od endotoksemije, sepse i pratećih komplikacija (Corrada i sar. 2006; Ros i sar. 2014).

Prognoza nakon lečenja je povoljnija kod piometre bez CEH i cističnih jajnika (Arnold i sar. 1988; Träsch i sar. 2003), kao i kod mlađih kuja (Jurka i sar. 2010). Kombinacije antimikrobne terapije i intrauterine primene povidonjodida (De Cramer, 2010) ili prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) (Gabor i sar. 1999) ili intrauterinskih katetera (Funkkuist i sar. 1983) predložene su kao ostale nehirurške alternative za terapiju piometru. Međutim, antimikrobna sredstva se šire koriste u drugim zemljama van Švedske (Adamovich-Rippe i sar. 2013, Dabrowski i sar. 2013, Kum i sar. 2013). Hemodinamička nega prvenstveno obuhvata primenu intravenoznih terapija i po potrebi terapiju vazopresorima. Ako je životinja u šoku, treba primenjivati bolus izotoničnih kristaloida/sintetičkih koloida. Krvne proizvode (upakovane crvene krvne ćelije, sveže zamrznute plazme ili sveža cela krv) treba koristiti kada je neophodno održavanje hematokrita preko 24%, a kod životinja sa teškom hipoalbuminemijom (<1,5 g / dL) treba primeniti terapiju plazmom ili 25% humanim albuminom (Hagman 2012). Ishod lečenja se takođe može razlikovati u zavisnosti od različite rezistencije na antimikrobne lekove u različitim zemljama, tako da se nekoliko studija fokusira na izbor antimikrobnih lekova koji se koriste kao dodatni tretman piometre (Bassessar i sar. 2013; Hagman i sar. 2005).

Među 80 izolata *E. coli*, izolovanih iz uterusa kuja sa piometrom, rezistencije na ispitivane antimikrobne lekove koji se koriste u terapiji kuja bile su niske, rezistencija na ampicilin iznosila je 10%, enrofloksacin 4%, streptomycin 5%, sulfametoksazol 8%, tetraciklin 4% i trimetoprim 2%, dok na gentamicin nije bilo rezistencije (Hagman i sar. 2005). Mikrobiološki pregled vaginalnih briseva kod piometre kuja utvrdio je 9 izolata *Escherichia coli*, 4 izolata *Salmonella* spp., 2 izolata *Pseudomonas* spp., 3 izolata *Staphylococcus* spp. i 2 uzorka mešovite infekcije. Antibiogram 20 uzoraka briseva uzetih iz od kuja sa piometrom, pokazao je da su uzorci najosetljiviji na gentamicin (85%), zatim na enrofloksacin (65%). Međutim, na ciprofloksacin i amoksicilin izolovani mikroorganizmi su pokazali osetljivost od 55%. Izolati su bili najotporniji na oksitetraciklin (85%), tetraciklin (80%), ampicilin (80%), hloramfenikol (75%), kloksacilin (70%) i eritromicin (70%) (Bassessar i sar. 2013). Na izolate *Staphylococcus* spp. najefikasniji su bili enrofloksacin (100%), zatim gentamicin, eritromicin, amoksicilin i hloramfenikol (65%), respektivno

(Bassessar i sar. 2013). Roy i saradnici (2009), ispitali su 234 genitalnih briseva kuja sa piometrom gde je u 98 (41,8%) sojeva bila izolovana *Escherichia coli*. Ispitivani uzorci su bili 100% osetljivi na gentamicin, hloramfenikol, cefiksim, 90% na ciprofloksacin i na amikacin (95%), dok su tetraciklin i kanamicin bili ostljivi oko 80-82%, vankomicin, eritromicin i novobiocin (78-80%) u ispitivanju *in vitro*. Međutim, Murugavel i saradnici (2001), kao rezultat u svom radu, ističu da su bakterijski izolati iz piometre osetljivi samo na ciprofloksacin, dok su rezistentni na cefaleksin, gentamicin, kloksacilin i tetraciklin. Slično gore navedenom autoru Palinivel i saradnici (2005), i Anderson i saradnici (2006) su utvrdili visoku osetljivost serotipova *E. coli* na hloramfenikol, amikacin i enrofloksacin. Maity i saradnici (2009) su u svom radu utvrdili da je *Staphylococcus* spp. bio dominantan u 44,19% uzoraka od 43 slučaja piometre kuja pregledanih u veterinarskim ambulancama. Svi izolati su bili osetljivi na enrofloksacin, ciprofloksacin, gentamicin i ceftriakson, ali su bili rezistentni na linkomicin i oksitetraciklin. Silva i saradnici (2004), tokom studije ispitivanja uzročnika i efikasnosti terapije piometre kod pasa, otkrili su da je gentamicin najefikasniji *in vitro* antibiotik (97,83%), zatim hloramfenikol (75,51%) i streptomycin (65,79%), dok je cefalosporin (14,81%) bio najmanje efikasan lek. Niyas i saradnici (2020) su dobili vrlo slične rezultate kao Roy i saradnici (2009), gde je izolacijom mikroorganizama kod piometre kuja, dobijeno čak u 90% izolata bila *E. coli*, 40% *Staphylococcus* sp, 30% *Streptococcus* sp, 20% *Pseudomonas* sp i u 10% *Bacillus* sp. Oko 20% izolata bilo je osetljivo na ceftriakson-tazobaktam, a zatim na ceftriakson i amoksicilin (50% odnosno 40%). Izolati su bili rezistentni na enrofloksacin, ampicilin, gentamicin (100%), zatim hloramfenikol, kotrimoksazol i oksitetraciklin (90%, 90% i 80%) po redu navođenja (Niyas i sar. 2020).

2.6 Biomarkeri

Jedna od definicija "biomarkera" je da je to "karakteristika koja se objektivno meri i ocenjuje kao indikator normalnih bioloških procesa, patogenih procesa ili farmakoloških odgovora na terapijsku intervenciju (Atkinson i sar. 2001). Radovi o mogućim biomarkerima izazivaju sve veće interesovanje u okviru humane i veterinarske medicine za razna oboljenja i stanja, s ciljem pronalaženja odgovarajućih biomarkera za rano otkrivanje i dijagnozu. Nije garantovana samo brza promena nivoa biomarkera tokom bolesti, već i brza normalizacija tokom oporavka, kako bi se omogućila njegova korisnost prilikom praćenja efekata terapijske intervencije. Pored toga, uzimanje uzoraka bi trebalo da bude lako, biomarkeri relativno stabilni, analiza pouzdana, brza, ekonomična i praktična za obavljanje. Prediktivni biomarkeri su biomarkeri koji su vredni kao objektivni alati za prognozu, tj. za predviđanje ishoda i/ili odgovora na tretman, a takvi biomarkeri su identifikovani kod različitih bolesti ljudi i životinja (Ceron i sar. 2005; Kosuge i sar. 2007; Gebhardt i sar. 2009; Eckersall i Bell, 2010; Foushee i sar. 2012). Marker ili parametri, korisni za postavljanje prognoze, mogu se izvesti iz istorije slučaja ili parametara fizičkog pregleda, rezultata inflamatornog odgovora i raznih drugih laboratorijskih analiza ili čak drugih bioloških faktora.

Kao što je već navedeno, piometra može dovesti i do sepse (SIRS) kod više od 50% pasa kod kojih je dijagnostikovana (Fransson i sar. 2007; Hagman i sar. 2007; Hagman i sar. 2009), a SIRS zahteva produženu hospitalizaciju (Fransson i sar. 2007). Infekcija uterusu dovodi do teže bolesti, ali i bakterijski toksini kao što je endotoksin (ET), potencijalni indikator zapaljenja, i može dovesti do lošije prognoze. U jednom istraživanju kuja sa piometrom, veće koncentracije ET u krvi bile su u vezi sa lošom prognozom i mogućim uginućem pacijenta (Okano i sar. 1998). Hiperlaktatemija je u vezi sa povećanim rizikom od smrtnosti kod drugih pasa ozbiljno bolesnih od nekih drugih bolesti (Nel i sar. 2004; Stevenson i sar. 2007), tako da visoke vrednosti laktata ukazuju na ozbiljnost patoloških promena u organizmu kuja. S druge strane, kod kuja kod kojih je dijagnostikovana piometra, hiperlaktatemija je uopšteno blaga (Hagman i sar. 2009; Conti-Patara i sar. 2012). Tsutsui i saradnici (2007) su zaključili da

povećane vrednosti prolaktina i prerano smanjenje progesterona u kvnoj plazmi kuja može biti jedan od etioloških faktor otvorene piometre.

Diseminirana intravaskularna koagulacija (*eng. disseminated intravascular coagulation- DIC*) može se razviti kod pasa sa piometrom (Plavec i sar. 2006). Druge varijable, osim DIC-a, koje imaju vrednost za prognozu, uključuju vrednosti uree i kreatinina u krvi. Sa povećanim koncentracijama ovih parametara, povećava se i rizik od smrtnosti (Kuplulu i sar. 2009). Utvrđeno je da je srčani troponin I (*eng. cardiac troponin-I cTnI*), marker za oštećenje miokarda, blago do umereno povećan u skoro polovine populacije kuja sa dijagnozom piometre (Pelander i sar. 2008). Pored toga, u jednom prikazu slučaja koncentracija srčanog troponina I je povećana u postoperativnom toku kod kuje koja je uginula i koja je imala miokarditis (Hagman i sar. 2007).

U radu Conti-Patara i saradnika (2012), ispitivane su kuje sa sepsom ili septičkim šokom kao posledica piometre, i ustanovljena je viša zasićenost centralnog venskog kiseonika ($ScvO_2$) i niži bazni deficit i ovi rezultati su povezani su sa povoljnijom prognozom (nizak rizik od smrti).

2.7. Biomarkeri sepse kod kuja sa piometrom

Sepsa (lat. *sepsis*) po definiciji je posebno teško stanje koje je praćeno disfunkcijom jednog ili više organa. Sepsa je važan i čest uzrok smrti u jedinicama za intenzivnu negu ljudi i životinja (Kennei i sar. 2010; Weiss i sar. 2015). Pošto je napredovanje stanja od piometre do teške sepse potencijalno smrtonosno, rano prepoznavanje sepse i odgovarajući tretman je preduslov za uspeh i povoljan ishod. Dijagnostikovanje sepse je izazov, jer su klinički znaci i laboratorijske parametre uglavnom nespecifične i nedostaju pouzdani dijagnostički markeri (Borresen, 1979). Prisustvo bakterijske infekcije i SIRS-a, utvrđenih određenim kliničkim i laboratorijskim kriterijumima, koriste se za identifikaciju pacijenata sa sepsom, kako u humanoj tako i u veterinarskoj medicini (Hauptman i sar. 1997; Afessa i sar. 2001; Otto, 2007; Fransson i sar. 2007; Hagman i sar. 2009, Kamisoglu i sar. 2015). SIRS može inicirati nekoliko uzroka, kao što su virusna infekcija, mehanička trauma, hemijska sredstva, termičke povrede, zračenje, imunološki uzroci, ishemija i nekrotičko tkivo (Bone, 1992).

Konvencionalna dijagnoza sepse kultivacijom bakterija iz krvi može biti dugotrajna, a za dobijanje rezultata antimikrobne osetljivosti potrebno je i dodatno vreme. U studiji pacijenta sa sepsom utvrđeno je da se sa antimikrobnim lečenjem kreće u roku od 6 sati od dolaska pacijenta, i time je stopa preživljavanja smanjena za 7,6% za svaki sat za koji je tretman odložen (Kumar i sar. 2006). Druge studije su takođe pokazale da se stopa smrtnosti povećava ako dođe do odlaganja primene antimikrobnih terapija kod ljudi sa sepsom (Blanco i sar., 2008; Dickinson i Kollef, 2011; Hounsom i sar., 2011; Bloos i sar., 2014). Kod pasa, uprkos prednosti antimikrobnih lekova i postavljanje rane dijagnoze i blagovremeni početak lečenja sepse smatra se presudnim za preživljavanje (Keir i Dickinson, 2015).

Zbog svega navedenoga, za pravovremeno započinjanje terapije potrebni su biomarkeri, koji mogu biti od pomoći kada se odlučuje koje pacijente kako treba tretirati antimikrobnim lekovima, jer će nepotrebna ili neefikasna antimikrobna terapija dovesti do stvaranje rezistentncija bakterija i dugoročno povećanje sklonosti ka infekcijama koje ne mogu da se leče najčešće korišćenim lekovima (Alanis, 2005). Kod ljudi, koncentracije proteina u akutnoj fazi, C-reaktivni protein (CRP) i prokalcitonin (PCT) povećavaju tačnost dijagnostikovanja sepse i široko se koriste kao dodatni parametri za predviđanje morbiditeta i mortaliteta (Brunkhorst i sar. 2000). Ostali indikatori zapaljenskih reakcija uključuju citokine, kao što je interleukin-6 (IL-6), što je korisno za dijagnozu i prognozu kod dece sa sepsom (Kuster i sar. 1998). U poređenju sa citokinima, CRP je stabilniji i dugotrajniji u cirkulaciji. Upravo ova

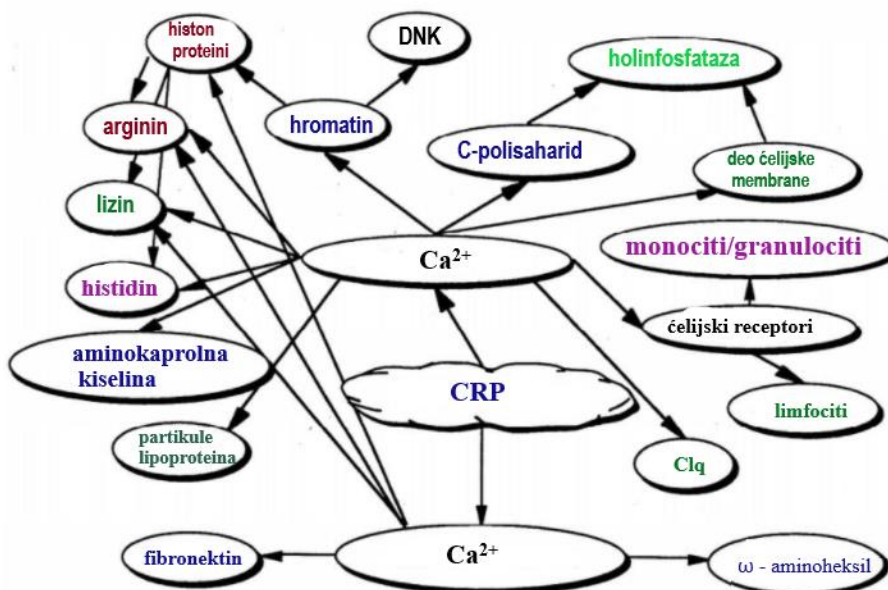
osobina CRP-a pogoduje njihovom analiziranju (Dandona i sar. 1994). Serumski amiloid A (SAA) i CRP su glavni protein akutne faze kod pasa (Ceron i sar. 2005) i istraživani su u dijagnostičke i prognostičke svrhe kod pasa sa SIRS-om i sepsom (Martinez-Subiela i Ceron, 2005; Fransson i sar. 2007; Chan i sar. 2009; Gebhardt i sar. 2009; Christensen i sar. 2013). Utvrđeno je da se koncentracije CRP u krvi povećavaju kod piometre, a vrednosti su još veće ako je prisutan SIRS (Fransson i sar. 2004; Fransson i sar. 2007). Ostali biomarkeri, kao što je kateholamin, proučavani su kod ljudi sa sepsom i pokazalo se da je aktivnost simpatikusa stimulirana u sepsi i prouzrokuje povećano oslobađanje kateholamina (Marchuk i sar. 1977). Među najčešće analiziranim hematološkim parametrima kuja sa piometrom, bili su leukocitoza sa neutofilijom. Ove promene se smatraju tipičnim za ovu bolest (De Schepper i sar. 1987a; Fransson i sar. 1997). Leukocitoza sa neutrofilijom javlja se uglavnom 24-36 sati nakon što se CRP znatno povećao u krvnom serumu obolelih kuja (Fransson i sar. 1997).

C-reaktivni protein (CRP) otkriven je u serumu akutne faze ljudi još 1930. godine (Tillet i Francis) i ispostavilo se da igra važnu ulogu u humanoj medicini. CRP je bio prisutan i sačuvan kroz evoluciju najmanje 500 miliona godina, pošto je takođe pronađen i u “živom fosilu” *Limulus polyphemus* (Robey i Liu, 1981).

Otkriće CRP zasnovano je na zapažanjima da serum akutne faze čoveka vezuje C polisaharide *Streptococcus pneumoniae* (svojstvo po kojem je CRP dobio naziv) (Tillet i Francis, 1930). Faktor aglutinacije/vezujući faktor identifikovan je kao protein 1941. godine (Abernethy i Avery, 1941), koja je i antiserum za prečišćavanje humanog CRP proizveden u zečevima (MacLeod i Avery, 1941). Ubrzo nakon toga kristalizovan je humani CRP (McCarty, 1947), a 1950. godine se pojavio prvi izveštaj medicinske primenljivosti CRP kod praćenja reumatske aktivnosti kod reumatskih pacijenata (Anderson i McCarty, 1950). Samo par godina kasnije, 1950. godine, kao rezultat praćenja reumatskih promena kod pacijenata sa reumatskim oboljenjima Anderson i McCarty (1950), objavljuju prvi izveštaj medicinske primenljivosti CRP-a.

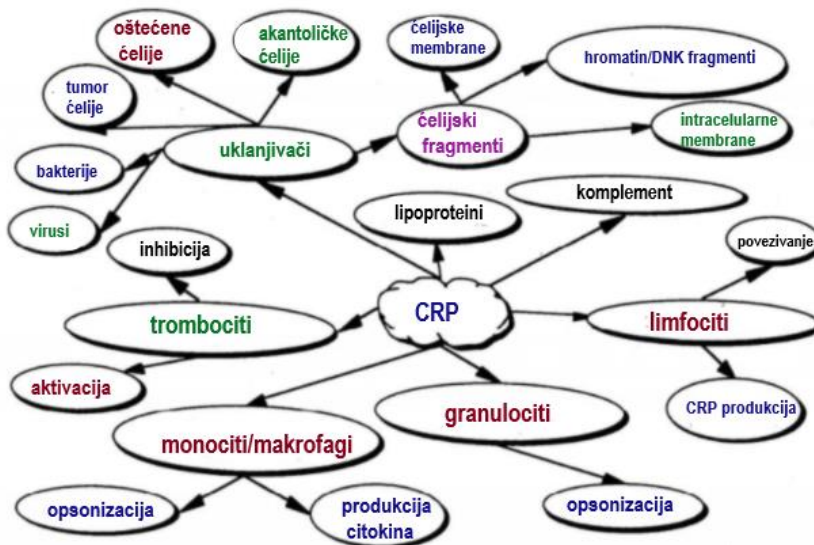
CRP izolovan iz krvi pasa sličan je humanom i istraživan je u serumu akutne faze pasa tokom 1960-tih godina (Dillman i Coles, 1966). CRP kod pasa je izolovan 1970. godine (Riley i Coleman, 1970), a kvantifikacija je omogućena 1972. godine korišćenjem specifičnih anti-psećih CRP antitela (Riley i Zontine, 1972). Međutim, do sredine osamdesetih i početka devedesetih godina prošlog veka, CRP poreklom od pasa, bio je nedovoljno proučavan. Ovo je proizaslo iz uočenih sličnosti između kinetike CRP poreklom od ljudi i pasa tokom akutne faze zapaljenja (Eckersall i Conner, 1988; Yamamoto i sar, 1993; Burton i sar. 1994), za šta se trenutno koriste (Kumagai i sar. 2004).

Biohemijska svojstva i fizičko-hemijske osobine CRP je član proteinske porodice pentraksina, koji filogenetski spada u staru grupu proteina koji se nalaze i kod kičmenjaka i kod beskičmenjaka (Robey i Liu, 1981; Baltz i sar. 1982) sa strukturom i funkcijom liganda zavisnom od kalcijuma. Svi pentraksini se sastoje od jedne vrste subjedinica. CRP se sastoji od pet identičnih, nekovalentno povezanih subjedinica raspoređenih u ravnomernu pentagonalnu prstenastu strukturu, koja se može videti putem elektronskog mikroskopa (Osmand i sar. 1977; Caspi i sar. 1984). Određena je i trodimenzionalna struktura CRP poreklom iz humanih uzoraka gde se mogu uočiti kanali za vezivanje kalcijuma i liganda (Shrive i sar. 1996).



Slika 2. Delovanje CRP (preuzeto i mofifikovano prema Ibraimi, 2018.)

Ca²⁺-zavisni i Ca²⁺-nezavisno privlačenje liganda C-reaktivnog proteina (CRP). C1q; Komplementarni faktor C1q. Molekularna masa cCRP je između 100-150kDa (Slika 2). Henson (1996) daje strukturu, šematski predstavlja, gde se vide Ca²⁺-zavisni i Ca²⁺-nezavisni kao i komplementarni faktor C1q u privlačenju liganda CRP.



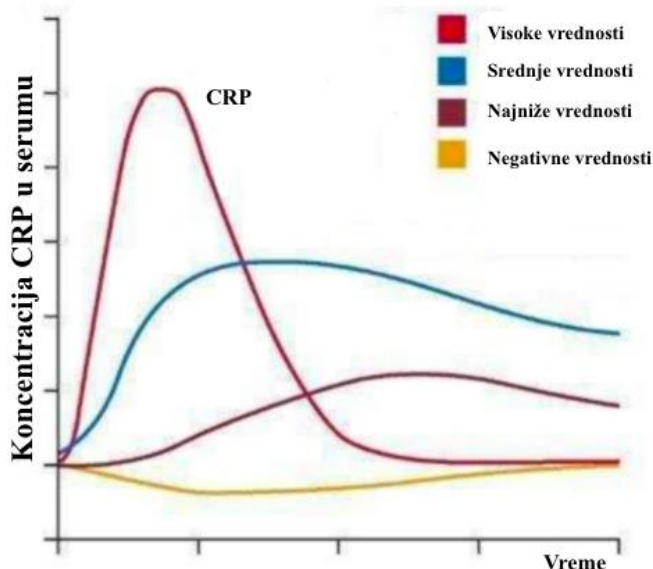
Slika 3. Uloga CRP-a u organizmu (preuzeto i modifikovano prema Kjelgaard-Hansen i sar., 2003)

C-reaktivni protein se uglavnom sintetise u jetri u sklopu reakcije akutne faze zapaljenja nakon stimulacije hepatocita sa proinflamatornim citokinima kao što su IL-6, IL-1 i transformacijski faktor rasta B (Rau i sar 2007; Strage i sar. 2014). Funkcija CRP-a nije u potpunosti shvaćena, ali ovaj protein pokazuje antiinflamatorna svojstva (Slika 3) (Zouki i sar. 1997). Istovremeno ili zajedno sa prokalcitoninom (Brunkhorst i sar. 2000), CRP se pokazao kao značajan marker za sepsu kod ozbiljno bolesnih osoba (Suprin i sar. 2000; Reny i sar. 2002). Pored toga, CRP se pokazao od velikog dijagnostičkog značaja kod aterosklerotičnih kardiovaskularnih bolesti, gde ima prediktivnu vrednost (Kereiakes, 2003,

Pepys i Hirschfeld, 2003). Kod pasa, nekoliko studija pokazalo je značajno povećanje CRP-a u odnosu na baznu vrednost kod eksperimentalno indukovane inflamacije (Yamashita i sar. 1994; Otabe i sar. 1998; Hayashi i sar. 2001; Krzyzanowski i sar. 2000) su u svom radu objavili povećane nivoe CRP-a kod kuja sa piometrom, a još jedan izveštaj je prikazao povećanje CRP-a kod pasa sa različitim poremećajima i hirurškim povredama (Yamamoto i sar. 1993). Kod ljudi, CRP je koristan za prognoziranje, tj. predviđanje stope preživljavanja i trajanja hospitalizacije i procenu odgovora na lečenje (Philip i Mills, 2000; Lobo i sar. 2003; Pierce i sar. 2009). Takođe sa većom koncentracijom CRP-a utvrđen je lošiji ishod, tj. duža hospitalizacija, veći rizik od smrti ili neodgovarajuće terapije (Hogarth i sar. 1997). U veterinarskoj medicini, povećane serumske koncentracije CRP prijavljene su kod različitih bolesti (Yamamoto i sar. 1993; Christensen i sar. 2014), uključujući i kuje koje boluju od piometre (Fransson i sar. 2007; Dabrovski i sar. 2013). Međutim, koncentracije CRP se povećavaju kod svih bolesti sa sistemskom inflamacijom (Fransson i sar. 2003), tj. povećanje nije specifično za piometru. Lokalni i opšti simptomi sa posledničnim metaboličkim efektima, koji su uzrokovani sistemskim zapaljenjem, uglavnom su posredovani putem prozapaljenskih citokina u prvom redu IL-1, IL-6 i faktora nekroze tumora, CRP (Hansson, 1996). Baumann i Gaudie (1994) definisali su glavnu osobinu reakcije akutne faze, kao grupu dramatičnih promena u strukturi krvnih proteina, poznatih kao proteini akutne faze. Ovi proteini su podeljeni u četiri grupe prema svojim kinetičkim osobinama koje nastaju tokom i nakon akutne faze kao odgovor na akutnu fazu.

Ove četiri grupe su:

1. glavne,
2. srednje,
3. manje i
4. negativne (Kjelgaard-Hansen i sar. 2003) (Slika 4)



Slika 4. Proteini akutne faze (preuzeto i modifikovano prema Ibraimi 2018.)

Indukcija, oslobađanje i regulacija CRP Kinetička svojstva CRP-a pasa tokom odgovora akutne faze karakteriše niska koncentracija kod normalne homeostaze (Yamamoto i sar. 1992; Yamamoto i sar. 1994; Otabe i sar. 1998), kratkotrajna faza nakon zapaljenskog stimulusa od

oko 4 sata (Caspi i sar. 1984; Conner i sar. 1988; Higgins i sar. 2003), a vrhunac koncentracije se dostiže posle otprilike 24 sata (Conner i sar. 1988; Yamamoto i sar. 1992), i brza normalizacija nakon završenog zapaljenskog stimulusa (Conner i sar. 1988; Yamamoto i sar. 1992; (Hayashi i sar. 2001). Prema tome, CRP pasa ima svojstva vremenski stvarnog markera zapaljenske aktivnosti tokom odgovora akutne faze (Plickert i sar. 2011). Indukcija i regulacija odgovora na akutnu fazu dosta je proučavana kod ljudi, ali je tako složena da mnogi aspekti nisu u potpunosti razjašnjeni (Kushner i sar. 1989; Suffredini i sar. 1999). Ipak, jetra je identifikovana kao glavno mesto za proizvodnju i oslobađanje proteina akutne faze (Hurlimann i sar. 1966; Kushner i sar. 1980), a IL-6 se smatra glavnim citokinom za indukovanje proizvodnje CRP-a od strane jetre (Koj, 1985; Kishimoto, 1989; Yamashita i sar. 1994). Interleukin-1 i TNF-alfa, koji se smatraju glavnim prozapaljenskim citokinima, izgleda ne mogu da indukuju hepatičnu sintezu CRP, sami ili u kombinaciji, ali ih i dalje treba smatrati glavnim saradničkim modulatorima (Koj, 1985; Kushner i sar. 1989; Dinarelo, 1997). Zapaljenske ćelije sa sposobnošću da proizvedu neke od prozapaljenskih citokina, kao što su Interleukin-6 (IL-6), IL-1 i faktor nekroze tumora (TNF- α) (Karlsson i sar. 2012), kao što su: monociti-makrofagi, granularni leukociti, B- i T-limfociti, endotelne ćelije, nervne ćelije, astrociti, sinovijalne ćelije, epitelne ćelije, mastociti i fibroblast (Tabela 2). Ovo možda ukazuje na činjenicu da CRP ne deluje samo kao sistemski zapaljenski faktor, već i kao deo lokalnog imunološkog odgovora. Dakle, pošto su hepatociti jedini značajan sistemski izvor CRP, ozbiljna bolest jetre u završnoj fazi može rezultirati smanjenim oslobađanja tokom odgovora akutne faze, kao što je primećeno za haptoglobin kod pasa (Anderson i sar. 1998).

Tabela 2. Uloga pojedinih vrsta ćelija (preuzeto i modifikovano prema Hillstrom i sar. 2016)

Tipovi ćelija	Modulacija
Monociti - makrofagi	Aktivacija sa opsonizacijom Hemotaksa Povećanje endotelne adhezije
Neutrofili	Inhibicija hemotakse Inhibicija degranulacije Inhibicija endotelne adhezije
Mast ćelije	Aktivacija
Trombociti	Aktivacija Inhibicija
Glatko-mišićne ćelije krvnih sudova	Aktivacija

CRP pasa kao klinički marker sistemskog zapaljenja - Koncentracija serumskog CRP-a se koristi za rutinske dijagnostičke, prognostičke i u svrhu skrininga u širokom spektru zapaljenskih bolesti u humanoj medicini, a istraživanja novih primena su u toku. Nedavna diskusija o tome da li je CRP rani marker ili možda čak i posrednik aterotromboze (Jialal i sar. 2004) i ateroskleroze (Manolov i sar. 2003), jedan su od glavnih razloga za značajno povećanje broja radova ispitivanja CRP kod ljudi u poslednjih nekoliko godina (Slika 3). U veterinarskoj medicini, rutinska upotreba merenja CRP nije rasprostranjena, uprkos prilično sveobuhvatnom znanju o značajnim sličnostima sa CRP-om ljudi u pogledu biohemijskih i fizioloških osobina, ali i kinetike tokom odgovora akutne faze. Ove sličnosti ukazuju na potencijal za kliničku primenljivost u veterinarskoj medicini sličnog obima kao i u humanoj

medicini (Hillstrom i sar. 2016). Kako je C-reaktivni protein stabilan protein, to u mnogome olakšava uzimanje materijala za analizu i manipulaciju njima (Hillstrom i sar. 2016).

CRP kod zdravih pasa - Vršena su veća istraživanja starosnog doba i pola na koncentracije CRP-a kod klinički zdravih pasa, i nije uočena povezanost vrednosti CRP, starosti i pola (Yamamoto i sar. 1994; Kuribayashi i sar. 2003). Pojedinačna studija o jednodnevnoj ili dugoročnoj varijaciji CRP takođe ne bi mogla da otkrije bilo kakvu sistematičnu varijaciju u okviru jedinke, već bi uočila razliku u homeostatičkim željenim/ciljanim vrednostima CRP između pojedinaca/jedinki (Otabe i sar. 1998).

Tabela 3. Vrednosti CRP kod pasa po različitim autorima

CRP (mg/L)	Broj pasa u ogledu	Metod analize	Reference
<5	20	ELISA	(Caspi, 1984)
<5 - 67	42	EIA	(Caspi, 1987)
0,2 - 0,8	20	ELISA	(Yamamoto, 1992)
2,4 - 30,0	66	ELISA	(Yamamoto, 1993)
0,6 - 13,2	84	ELISA	(Yamamoto, 1994)
5,9 - 28,7	44	ELISA	(Barton, 1994)
0 - 70	50	TIA	(Börngen, 1998)
0,8 - 16,4	10	ELISA	(Otabe, 1998)
1,5 - 18,9	144	ELISA	(Kuribayashi, 2003)
0,2 - 4,0	21	ELISA	(Martinez - Subiela, 2004)

Nekoliko studija je utvrdilo povišene koncentracije CRP tokom graviditeta kod kuja u period od 21. do 55. dana nakon ovulacije, u poređenju sa negravidnim kujama u istoj fazi estralnog ciklusa (Eckersall i sar. 1993; Concannon i sar. 1996; Kuribayashi i sar. 2003).

Povećanje CRP-a kod gravidnih kuja bilo je jednako kao u odgovoru akutne faze, ali poseban izvor stimulusa ostaje nejasan, iako je najverovatnije uzrok zapaljenska reakcija na embrionalnu implantaciju (Eckersall i sar. 1993). Velika dijagnostička osetljivost serumskog CRP je primećena kod otkrivanja sistemskog zapaljenja (Tabela 3). Ovo je definisano značajnim brojem cirkulišućih neutrofila (Burton i sar. 1994). Velika dijagnostička osetljivost i specifičnost CRP-a u kombinaciji sa brojem neutrofila u razlikovanju piometre i endometrijske hiperplazije uočena je u kontrolisanoj studiji (Fransson i sar. 2004). Eckersall i saradnici (1988) su pregledali 155 pasa i utvrdili su povećanu koncentraciju CRP-a kod 67 pasa, koji su imali prepoznatljivo zapaljenjsko žarište. Ovo ukazuje na dobru prediktivnu vrednost pozitivnog rezultata, odnosno potvrđuje dijagnostički značaj povećanih koncentracija CRP-a (Riley i Zontine, 1972; Galezowski i sar. 2010). Dalje, jačina reakcije je bila u korelaciji sa određenim uzorkom, koja je definisana kao sposobnost da stepenuju zapaljensku aktivnost pomoću CRP merenja (Eckersall i sar. 1988). Istraživanje o leišmaniozi

kod pasa, prepoznalo je CRP kao meru za otkrivanje subkliničkih stanja bolesti (Martínez-Subiela i sar. 2002). Međutim, izgleda da CRP nije imao tu karakteristiku u otkrivanju subkliničke erlihioze pasa (Rikihisa i sar. 1994; Shimada i sar. 2002). Istraživanje određenih autora, ocenila su CRP kao mogući marker u efikasnosti lečenja sa pozitivnim rezultatima (Jergens i sar. 2003; Martínez-Subiela i sar. 2003). Međutim, kod nekih oboljenja nije primećeno da je CRP klinički primenljiv kao prognostički marker ozbiljnosti bolesti, kao na primer kod glomerulonefritisa (Caspi i sar. 1987).

Serumski amiloid A (SAA) je još jedan veliki APP kod pasa, a njegovo stvaranje je indukovana pro-inflamatornim medijatorima (Ceron i sar. 2005). Autori su istraživali SAA u različitim bolestima, kod ljudi i životinja, uključujući i pse (Christensen i sar. 2014; Dabrovski i sar. 2013; Zhang i sar. 2012; Cho i sar. 2010), te ustanovili da koncentracije SAA u krvi mogu biti 800 puta povećane tokom zapaljenskog procesa (Yule i sar. 1997).

Albumin - Hipoalbuminemija je uobičajen nalaz kod pasa sa piometrom (Borresen i Skrede, 1980). Albumin se smatra negativnim proteinom akutne faze, proizvodnja se smanjuje tokom zapaljenja, kao mogući rezultat povećane hepatične proizvodnje pozitivnih APP i drugih inflamatornih komponenti (Liao i sar. 1986; Schreiber i sar. 1982). Koncentracije albumina pokazuju se kao prediktivni marker kod kritično bolesnih ljudi, a povezani su i sa neuhranjenošću (Owen i sar. 1993). Hipoalbuminemija može biti posledica smanjene proizvodnje albumina, ali takođe odražava povećanu vaskularnu propustljivost kao odgovor na zapaljenje ili infekcije (Deisine i Stein, 1980), ili gubitak putem bubreže filtracije (Levey i sar. 2003). Osim toga, kod ljudi sa bolestima bubrega i ljudi na hemodijalizi, hipoalbuminemija je bila povezana sa povećanim smrtnim ishodom (Vetmore i sar. 2008; Owen i sar. 1993).

Faktor rasta sličan insulinu-I (IGF-I) je anabolički peptid posredovan hormonom rasta koji ima mnoštvo uloga, uključujući i proliferaciju ćelija, ćelijsku diferencijaciju i antiapoptozu (Heemskerk i sar. 1999; Rodriguez-Tarduchy i sar. 1992). Nekoliko istraživanja kod ljudi pokazalo je smanjene koncentracije IGF-I u plazmi, kao odgovor na infekciju i zapaljenje (Heemskerk i sar. 1999; Timmins i sar. 1996). Kod endotoksemije i hroničnog zapaljenja, IGF-I je smanjen, što dovodi do smanjenja koncentracije IGF-I u cirkulaciji, usled čega je protumačeno da je IGF-I negativni zapaljenski marker kod pacova i pasa (Tvarijonavičute i sar. 2011; Priego i sar. 2003; Lang i sar. 2000; Lopez-Calderon i sar. 1999). Dabrovski i saradnici (2015) pokazali su da su koncentracije IGF-I smanjene kod kuja sa piometrom pre operacije i povećane nakon operacije, za razliku od CRP-a.

Koncentracije gvožđa u krvnoj plazmi regulisane su proteinom hepcidinom (Nemeth i sar. 2004). Proizvodnja hepcidina može biti indukovana citokinima, npr. IL-6 (Nemeth i sar. 2003) i bakterijskom infekcijom (Shike i sar. 2002). Radovi koji ispituju koncentraciju gvožđa u odgovoru na infekcije su retki kod pasa (Konitzer i sar. 1956).

Hromogranin A (CgA) je neuroendokrini sekretorna kiselina koji se rastvara u vodi, i pripada porodici granina (Taupenot i sar. 2003). CgA je jedan od tri "klasična" granina koji uključuje i hromogranin B i sekretogranin II (hromogranin C). Hromogranin A je prvi put izolovan od granulata hromafina u nadbubrežnoj žlezdi (Helle, 1966; Banks i Helle, 1966) i može se naći u neuroendokrinima i različitim ćelijama neurona (Wilson i Lloyd, 1984). CgA se oslobađa zajedno sa ketoholaminima iz hromafinskih ćelija u nadbubrežnoj pulpi ekgzcitozom (Oconnor i Bernstein, 1984), i prethodnik je nekoliko biološki aktivnih peptida. CgA ima različita mesta za odvajanje proteaze i peptidaze, a njegovi proizvodi razgradnje se imenuju na osnovu njihovih različitih bioloških aktivnosti, npr. catestatin (CST), vazostatin (VS; CgA17-38) i pankreastatin (Helle i sar. 2007; Bartolomucci i sar. 2011). Autokrin inhibitorni efekat na nikotinski receptor acetilholina u nadbubrežnoj žlezdi otežava sekreciju kateholamina (Mahata i sar. 2004). Pored toga, CST indukuje proliferaciju, migraciju i apoptozu u endotelnim ćelijama (Theurl i sar. 2010). Merenje CgA kod ljudi, se široko koristi

kao marker za dijagnostičke i prognostičke potrebe kod pacijenata koji boluju od neuroendokrinih tumora, što dovodi do povećanja koncentracije CgA (Korse i sar. 2012; Portela-Gomes i sar. 2010; Stridsberg i sar. 2004; Hsiao i sar. 1990). Pored toga, pokazalo se da je visoka CgA koncentracija klinički korisna za predviđanje ozbiljnosti i mortaliteta kod pacijenata koji boluju od hroničnih bolesti srca (Ceconi i sar. 2002; Biswas i sar. 2010; Mazza i sar. 2010; Angelone i sar. 2012). Kod teško bolesnih nehirurških pacijenata u jedinici intenzivne nege detektovane su veće koncentracije CgA u neuronima, u poređenju sa pacijentima koji su preživeli (Zhang i sar. 2008). Slično tome, pokazalo se da su koncentracije CgA veće kod pacijenata koji su umrli od sepse, u poređenju sa onima koji su preživeli (Rosjo i sar. 2012). Postoji nekoliko objavljenih radova o CgA kod pasa (Srithunyarat i sar. 2014; Akiyoshi i sar. 2005; Myers i sar. 1997) i mačaka (Stridsberg i sar. 2014). U jednom radu na psima sa akutnim stresom, rezultati su pokazali da su koncentracije CgA povećane u odgovoru na stres indukovanoj injekcijom insulina i zaključeno je da CgA može biti koristan marker za stres (Akiyoshi i sar. 2005). Pored toga, povećana koncentracija CgA u plazmi može biti indikator neuroendokrinih tumora na koje se sumnja, kao što je insulinom (Myers i sar. 1997).

Anti Milerov hormon (AMH) - ili Milerova inhibirajuća supstanca (MIS) dobila je naziv zbog svog efekta u razlikovanju polova tokom fetalne faze kod sisara. AMH je član porodice transformirajućeg faktora rasta-b (TGF-b) koji uključuje mnoge vrste faktora rasta i diferencijacije (Broer i sar. 2014; Strome Holst 2015). Njegova primarna uloga je da on inhibira razvoj Milerovog kanala. Pre nego će postati muški fenotip, Sertolijeve ćelije u abdominalnim testisima proizvode visoke koncentracije ovog hormona, sprečavajući da se Milerovi kanali razviju u jajovode, matericu i gornji deo vagine kao kod ženskog fenotipa (Broekmans i sar. 2008; Broer i sar. 2014). Ova sekrecija se ne vidi kod fetalnih ženskih gonada, što dovodi do razvoja unutrašnjih ženskih genitalija (Meyers-Wallen 2005). Kod kuja i kod drugih ženki sisara, AMH proizvode i izlučuju granulozne ćelije koje okružuju preantralne i rane antralne folikule (Broekmans i sar. 2008; Nagashima i sar. 2016; Themmen i sar. 2016). Tokom proestrusa, FSH koji izlazi iz anteriorne hipofize u manjim impulsima dovodi do povećane sekrecije estradiola iz folikula. Folikuli rastu od primordijalnih folikula u veće folikule predantralne i antralne faze (Concannon, 2011). Kada folikuli dostignu predantralnu fazu, otprilike 9 dana pre ovulacije, oni počinju da izlučuju AMH (Nagashima i sar. 2016; Reynaud i sar. 2012). Više preantralnih folikula dovodi do povećane proizvodnje AMH, sa maksimumom oko sedmog dana pre ovulacije (Nagashima i sar. 2016). Neposredno pre nego što započne estrus, impulsi FSH se javljaju češće i njihova se koncentracija povećava. Početak estrusa karakteriše vrhunac luteinizirajućeg hormona - (LH) koji indukuje ovulaciju preovulacionih folikula (Concannon, 2011). Neposredno pre ovulacije preovulatorna luteinizacija rezultira sekrecijom progesterona. Nakon ovulacije, ovuliranim oocitima je potrebno još 48-72 sata da sazru u jajovodu pre nego što budu spremni za oplodnju, a zatim ostanu plodni oko otprilike 2-3 dana (Concannon, 2011). U ovoj fazi formira se žuto telo koje rezultira većim koncentracijama progesterona. Metestrus je lutealna faza ciklusa u kojoj se povećava koncentracija progesterona kod svih kuja bile one gravidne ili ne. Na kraju faze metestrusa koncentracija progesterona opada i tokom anestrusa, reproduktivni sistem je relativno neaktivan do sledećeg proestrusa (Concannon, 2011). Klinički znaci lažnog graviditeta takođe se mogu videti u ranom anestrusu, a progesteron koji održava trudnoću, izlučuje se iz žutog tela (Concannon, 2011). Progesteron inhibira imunološki sistem u materici kako bi embrioni mogli da se zakače za zid materice (Nelson i Couto 2014). Metestrus, poznat i kao lutealna faza, karakteriše visoka koncentracija progesterona. Ove visoke koncentracije su prisutne kod svih kuja, bez obzira bile one skotne ili ne (Gultiken i sar. 2016). Na kraju metestrusa, koncentracija progesterona se smanjuje. Ako je kuja skotna, progesteron priprema kujeza porođaj, a ako nije skotna, smanjenje

koncentracije progesterona i povećanje koncentracije prolaktina koje sledi, mogu umesto toga dovesti do lažnog graviditeta (Concannon, 2011). Koncentracije AMH tokom lutealne faze i faze ranog anestrusa kod ženki pasa još nisu proučavane.

Kod kuja sa piometrom, na jajnicima se može utvrditi istovremeno prisustvo i folikula i žutog tela češće nego kod zdravih kuja. Analiza koncentracija AMH u lutealnoj fazi potencijalno mogla bi pomoći u razumevanju patogeneze piometre kuja. U literaturi nema dovoljno podataka o koncentraciji AMH kod piometre kuja. Visoke koncentracije AMH su ustanovljene kod tumora Sertolijevih ćelija testisa (Ano i sar. 2014; Strome Holst i Dreimanis 2015), remnant sindroma ili sindroma zaostalog jajnika (Turna Yilmaz i sar. 2015), i kao metod kojim se može utvrditi ovarijalna rezerva kuja kod *in vitro* tehnike oplodjenja (Nagashima i sar. 2016). Niske koncentracije ovog hormona se mogu utvrditi kod kastriranih pasa ili sterilisanih kuja (Place i sar. 2011) i kod kriptorhida (Gharagozlou i sar. 2014). Hollinshead i saradnici (2017) su ispitivali vrednosti AMH i veličine legla kuja. Ustanovili su da više koncentracije ovog hormona u serumu imaju kuje koje su imale veći broj štenadi u leglu. Pozitivna korelacija koncentracije AMH i veličine legla se može iskoristiti u predviđanju veličine legla u odgajivačkim programima. Koncentracija AMH ne zavisi od ugojenosti pasa, odnosno telesne mase, tako da omogućava njegovo ispitivanje u većoj populaciji pasa različite telesne mase (Anderson i sar. 2015). Ženski ekvivalent Sertolijevim ćelijama su granulozne ćelije. Obe ove vrste ćelija okružuju ćelije zametka u odgovarajućem fenotipu i kontrolišu razvoj ćelije zametka pretvarajući androgene u estradiol i stvarajući zaštitu. Iako su slične, granulozne ćelije obuhvataju oocit do ovulacije, dok Sertolijeve ćelije prolaze kroz razvijajuću spermiju između njih dok rastu (Sjaastad i sar. 2010). Glavna razlika u proizvodnji AMH-a, iako nije posebno proučavano kod pasa, jeste činjenica da počinje u stadijumu fetusa kod mužjaka, ali tek neposredno pre rođenja kod ženki, i onda u znatno nižim koncentracijama (Mayers i sar. 1999).

Poznavanje kliničkog potencijala AMH analize kod kuja je ograničeno. Kod kuja se AMH proizvodi samo u granuloznim ćelijama koje okružuju folikule u primarnom, sekundarnom i preantralnom stadijumu (Nagashima i sar. 2016; Themmen i sar. 2016). Neke oblasti od interesa u diagnostici su: upotreba u *in vitro* oplodnji (IVF) kod konja (Claes i sar. 2015), pasa (Nagashima i sar. 2016) i krava (Monnaiuk i sar. 2013), dijagnostikovanje i praćenje granulozne ćelije karcinomima kod ljudi (La Marca i Volpe 2007), goveda i konja. Potencijalna korisnost za dijagnostikovanje tumora granuloznih ćelija takođe je opisana kod kuja (Holst, 2015). Analiza koncentracije AMH takođe se koristi za kvantifikaciju rezervi jajnika kod žena i ženki domaćih životinja (Baldrighi i sar. 2014). Analiza AMH mogla bi potencijalno pomoći u razumevanju patogeneze kompleksne, česte i opasne bolesti piometre kod kuja. Većina slučajeva piometre javlja se tokom dva meseca nakon teranja, tokom lutealne faze (Dabrowski i sar. 2013; Enginler i sar. 2014; England i von Heimendahl, 2010). Visoke koncentracije estradiola u toku teranja, nakon kojih dolazi dva meseca sa visokim koncentracijama progesterona, dovode do promena u endometrijumu. Ove promene uključuju povećanu sekreciju u lumenu uterusa, manje mišićne kontrakcije i inhibiciju leukocita, dajući oportunističkim bakterijama dobru sredinu za rast (Smith, 2006). Koncentracija AMH kod kuja je bazalna od oko 30 do 9 dana pre ovulacije, a zatim dostiže do tri puta bazalnu koncentraciju na približno nedelju dana pre ovulacije, nakon čega brzo ponovo opada. Ovo je izgleda u vezi sa povećanim i kasnijim smanjenim brojem ranih folikula antralnih faza (Nagashima i sar. 2016). Koncentracije AMH-a su tako vezane za dinamiku folikula kod kuja. Znak aberantne folikularne dinamike kod kuja koje su obolele od piometre jeste, da je istovremeno prisustvo folikula i žutog tela, češće nego kod zdravih kuja (Strom Holst i sar. 2001). Folikularne ciste mogu se takođe naći u uklonjenim jajnicima nakon ovariohisterektomije uzrokovane piometrom (England i von Heimendahl 2010). Utvrđena je

značajna korelacija između broja primordijalnih folikula i koncentracije AMH u krvnom serumu (Broekmans i sar. 2008; Fanchin i sar. 2003; Gigli i sar. 2005). Kod miševa, dokazano je da žuto telo ne proizvodi AMH (Myers i sar. 2009). Kod kuja ustanovljeno je da koncentracije AMH porastu 8-9 dana pre luteinizirajućeg hormona, do tri puta više koncentracije od normalne serumske koncentracije za AMH a zatim se smanjuju do fizioloških vrednosti oko 4 dana pre LH talasa. Pretpostavlja se da je ovo usled rasta folikula i varijacije u sekreciji AMH između različitih faza folikula i poklapa se sa povećanjem i smanjenjem ranih antralnih faza folikula, opisanih u studiji od strane Englanda i saradnika (2009). Koncentracije AMH, kako početne tako i povećane, mogu da variraju između pojedinačnih slučajeva (Nagashima i sar. 2016). Kod ljudi, koncentracija AMH mogu predvideti pojavu menopauze, s obzirom da koncentracije AMH postaju izuzetno niske, ispod normalne serumske koncentracije, tačnije, javljaju se u tragovima kada nema primordijalnih folikula (Broer i sar. 2014; Nelson i La Marca 2011). Analiza AMH se takođe koristi za dijagnostikovanje tumora granuloznih ćelija kod ljudi (La Marca i Volpe 2007) i tumora Sertolijevih ćelija kod pasa (Strom Holst i Dreimanis 2015). AMH je prisutan tokom celog života kod nesterilisanog mužjaka psa jer se kontinuirano izlučuje iz sertolijevih ćelija u testisima. Studije su pokazale da su koncentracije AMH uglavnom veće kod muškaraca nego kod žena (Nelson i La Marca 2011). Drugi radovi su pokazale da su nakon gonadektomije koncentracije AMH bile značajno niže ili odsutne kod ženki i mužjaka pasa, u poređenju sa nesterilisanim jedinkama, što je dokaz da se AMH proizvodi samo u gonadama (Place i sar. 2011; Themmen i sar. 2016). Slični rezultati su dobijeni i kod mačaka (Axner i Strom Holst 2015). U humanoj endokrinologiji koristi se ELISA test i prvi put je razvijen devedesetih godina prošlog veka od strane (Hudsona i sar. 2014; Strom Holst 2015; Rustamov i sar. 2014), a potom je razvijen AMH Gen II test (Nelson i Couto 2014; Nelson i La Marca 2011). Postoje AMH testovi posebno napravljeni za pse (Pir Yagci i sar. 2016; Themmen i sar. 2016; Yilmaz i sar. 2015), kao i AMH Gen II test koji se koriste takođe kod pasa i mačaka (Axner i Strom Holst 2015; Nagashima i sar. 2016; Strom Holst i Dreimanis 2015), i pokazalo se da ima sposobnost detektovanja izuzetno niskih koncentracija i kod sterilisanih mačaka oba pola (Axner i Strom Holst 2015). AMH ELISA test za upotrebu kod pasa je korišćen i procenjen u dva skorija istraživanja (Themmen i sar. 2016; Yilmaz i sar. 2015).

Kao što je opisano u prethodnim studijama, koncentracija AMH zavisi od broja preantralnih do antralnih stadijumskih folikula (Broekmans i sar. 2008; Monnaiuk i sar. 2013; Nagashima i sar. 2016; Themmen i sar. 2016). Kod žena (Nelson i La Marca, 2011), kobilica (Claes i sar. 2015) i kod kuja (Hollinstead et al 2016) koncentracija AMH opada kako jedinka stari.

3. CILJEVI I ZADACI TEZE

Na osnovu literaturnih podataka, koji ukazuju da se C-reaktivni protein može koristiti u prognozi različitih bolesti i razvoja postoperativnog toka, cilj istraživanja je da se ustanovi da li praćenje vrednosti CRP, posle hirurške intervencije, može da se koristiti kao rani marker postoperativnih komplikacija kuja sa piometrom. Zbog oskudnih podataka o koncentraciji AMH u lutealnoj fazi estralnog ciklusa, kao i podataka o koncentraciji AMH kod piometre, cilj rada je da se utvrdi koncentracija ovog hormona u pojedinim fazama estralnog ciklusa pre sterilizacije i kod kuja sa piometrom, kao i koncentracije ovog hormona u postoperativnom periodu.

Na osnovu zadatog cilja postavili smo sledeće zadatke:

1. opšti klinički pregled pasa, pregled genitalnog trakta ultrazvukom
2. uzimanje krvi za biohemijska i hematološka ispitivanja pre operativnog zahvata, kao i za analizu koncentracije CRP i AMH
3. uzimanje krvi za biohemijska i hematološka ispitivanja nakon 12h, 24 h, 48 h i 72 h od operativnog zahvata, kao i za analizu koncentracije CRP i AMH
4. uzimanje uzoraka briseva sa površine materične sluzokože za bakteriološka ispitivanja, izolaciju i identifikaciju uzročnika piometre
5. određivanje osetljivosti izolata na izabrane antimikrobne preparate disk-difuzionom metodom
6. uzimanje uzoraka materice za histološka ispitivanja obe eksperimentalne grupe
7. statistička analiza rezultata

4. MATERIJALI I METODE

Ispitivanja su obuhvatila 40 kuja različite rase i starosti, koje su bile podeljene u dve grupe. Kontrolna grupa (n = 20) klinički zdrave nesterilisane kuje i ogledna grupa (n = 20) kuje sa dijagnostikovanom piometrom. Za kontrolne životinje su uzeti klinički zdrave kuje kod kojih će biti urađena sterilizacija uz dogovor i odobrenje vlasnika.

Sve kuje sa piometrom kao i kuje iz kontrolne grupe uključene u istraživanja, bile su u vlasništvu klijenata i pregledane su na Djursjukhuset Malmö Švedska (Bolnica za male životinje, Malme, Švedska). Sve kuje iz ogledne grupe pregledane su i tretirane prema direktivama za postupanje sa pacijentima kod kojih je dijagnostikovana piometra. Svi podaci koje se koriste su iz medicinske arhive i odobrene su od strane nadležnih organa Bolnice za male životinje Malme. Kod svih kuja, kuja sa piometrom i zdravih kuja urađena je ovarihisterektomija. Uzorci krvi za analize uzimani su pre operacije (0 dan), 12.h, 24.h, 48.h i 72.h nakon operacije.

4.1. Opšti klinički i specijalistički pregled

Opšti klinički pregled je podrazumevao merenje telesne temperature, frekvencije pulsa i disanja i ultrazvučni pregled genitalnog trakta svih kuja u ogledu, kao i dijagnostikovanje SIRS pozitivnih kuja (Sant Anna 2014., Liao 2014).

Specijalistički pregled pacijenta je obuhvatao ultrazvučni pregled genitalnog trakta (VIVID 7 PRO3, linearna sonda od 5,5 MHz, Tampa SAD), radi utvrđivanja prisustne piometre kuja u ogledu.

4.2. Hematološke analize krvi i krvnog seruma

Neposredno pre hirurškog zahvata (0h) kao i nakon 12. 24. 48. i 72. sati od operacije kujama je uzimana krv. Uzorci krvi su sakupljeni iz *venne cephalica antebrachi* u vakutajner bez antikoagulansa (Sarsted Nemačka) i u vakutajner sa antikoagulansom (EDTA etilen-diamino-tetrasirćetna kiselina i litijum-heparinom). Uzorci su transportovani do laboratorije u ručnom frižideru u roku od 2h. Uzorci krvi analizirani su u toku 45 min nakon uzimanja u kliničkoj laboratoriji Djursjukhuset Malmö Švedska (Bolnica za male životinje, Malme, Švedska). Odvajanje krvnog seruma izvršeno je centrifugiranjem na 3500 rpm u trajanju od 10 minuta posle završenog procesa koagulacije (nakon 20 min u frižideru na temperaturi +5°C). Hematološke analize (krvna slika) su rađene na automatskom hematološkom analizatoru (IDEXX Procyte DX, SAD), u modu i softveru predviđenom za analizu uzoraka poreklom isključivo od pasa. Od analiza ispitivane su vrednosti: broj eritrocita, vrednosti hematokrita, hemoglobina, MCH, MCHC, MCV, broj trombocita, broja leukocita, kao i procenat segmentiranih, nesegmentiranih leukocita i procenat limfocita.

4.3. Biohemijske analize seruma su izvršene uz pomoć automatskog biohemijskog analizatora (IDEXX Catalyst ONE WESTBROOK, MAINE 04092 USA), i određivani su sledeći parametri: alanin transaminaza (ALT), alkalna fosfataza (ALP) urea, kreatinin, ukupni proteini, albumini i glukoza.

Serumska koncentracija CRP određivana je na aparatu CRP Lyfe Asseayse AB, LUND, (Sweden), ELISA canine CRP kitom (Life Assays AB, Lund, Švedska). Uzorci seruma nakon centrifugiranja krvi na 3500 ppm u trajanju od 10 min, nanošeni su u mini epruvetu, sa

standardom. Očitavanja su izvršena nakon 11 minuta na skali vrednosti od < 10 do > 210 ng/mL. Standardna kriva je generisana korišćenjem Microsoft® Excel softvera (1997). Koncentracije uzoraka dobijenih umetanjem srednje optičke gustine u funkciju stvorenu standardnom krivom. Analize progesterona izvršene su korišćenjem poboljšanog imuno-testa hemoluminescencije (Mini Vidas Biomerieux, France) upotrebom komercijalnih kitova, prema uputstvu proizvođača. Koncentracija AMH je određivana na aparatu ANH Gen II ELISA (Beckman Counter, Labo Klin Nemačka), pomoću komercijalnog kita (Anti-Mülleriskt Hormon, Müller inhiberande substans, Hoffmann-La Roche, Švajcarska) po uputstvu proizvođača na dve talasne dužine 450 nm i 620 nm.

4.4. Patohistološka analiza uzoraka

Nakon završene hirurške intervencije, uzimani su uzorci tkiva materice koji su fiksirani u neutralnom puferizovanom 10% formalinu u odnosu 1:10, zatim procesovnti u automatskom tkivnom procesoru i kalupljeni u parafinske blokove. Tkivni isečci debljine 3-5 mikrometara, su sečeni na mikrotomu i bojeni standardnom metodom bojenja tkiva hematoksilin eozin.

4.5. Mikrobiološke analize uzoraka

Posle hirurškog zahvata, uzimani su uzoraci iz materice sterilnim kompeltom za bris u cilju izolacija uzročnika piometre kuja. Izolacija uzročnika je izvršena standardnim mikrobiološkim metodama, zasejavanjem na krvni agar (LabM, Velika Britanija) uz dodavanje 7% ovčije krvi, na Mc Conkey agar (LabM, Velika Britanija) i Sabouraud dekstrozni agar (LabM, Velika Britanija). Kao test za potvrdu u postupku identifikacija bakterija primenjivana je tehnika MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption / Ionization) na aparatu Benchtop microflex LT MALDI-TOF mass spectrometer Bruker Daltonics (Bremen, Nemačka). Po uputstvu proizvođača, baza podataka je označena kao 7311, a softver MBT Compass. Ispitivanje osetljivosti izolata na antibiotike vršeno je disk-difuzion metodom, zasejavanjem na Muller Hinton agaru (LabM, Velika Britanija), a zona osetljivosti je tumačena po preporuci proizvođača antibiotikskih diskova.

Identifikacija vrsta bakterija primenom MALDI TOF masene spektrometrije

Ispitivani izolati zasejavani su na neselektivne podloge, a zatim inkubirani u aerobnim uslovima tokom 24 sata pri temperaturi od 30 °C. Primenjena je metoda direktnog transfera; po završenoj inkubaciji mala količina pojedinačnih kolonija je u vidu tankog filma direktno naneta na čeličnu pločicu sa 96 mesta, koja se nalazi u sastavu aparata (Microflex LT system; Bruker Daltonics, Germany). Pločica sa nanetim filmom je ostavljena u trajanju od oko 1 min da se osuši na sobnoj temperaturi, a zatim je na pločicu nanesen 1 µl matriksa, rastvora CHCA (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid; Bruker Daltonics, Germany). Izolati mikroorganizama pripremljeni na ovaj način su zatim podvrgnuti MALDI TOF masenoj spektrometriji. Spektrometar je bio podešen za identifikaciju bakterija na način preporučen od strane proizvođača (frekvencija lasera 20 Hz u pozitivnom linearnom modu, uz detekciju molekulskih masa u rasponu 2-20 kDa i ubrzanjem od 20 kV). Kalibracija masenog spektrometra izvršena je uz pomoć standarda za bakterijsku identifikaciju (ekstrakt soja *E. coli* DH5 α sa dodatkom proteina RNKaze A i mioglobina; Bruker Bacterial Test Standard – BTS; Bruker Daltonics, Germany). Snimljeni spektri su pretraživani u odnosu na bazu podataka proteinskih sekvenci kako bi se utvrdilo poklapanje izmerenih masa peptida sa teorijskim masama. Broj poklopljenih pikova, odnosno broj eksperimentalno dobijenih masa peptida koji odgovaraju teorijskim masama u bazi podataka predstavljen je koeficijentom pouzdanosti identifikacije. Prema uputstvu proizvođača, koeficijent pouzdanosti $\geq 2,0$

predstavlja identifikaciju do nivoa vrste, dok koeficijent pouzdanosti $\geq 1,7$, a < 2 , predstavlja identifikaciju do nivoa roda.

4.6. Preoperativni protokol, protokol analgezije, anestezije i postoperativni protokol

U preoperativnom protokolu svim psima nije aplikovan antibiotski lek amoksicilin (antibiotik se daje samo po potrebi u zavisnosti od stanja pacijenata), koji je inače prvi lek izbora kod infekcija pre urađenog antibiograma, i to u dozi od 7,5 mg/kg s.c. po preporuci. Rikt linije (smernice za kliničko lečenje) i upotrebu antibiotika ne dozvoljavaju korišćenje antibiotika u profilaktičke svrhe, odnosno, antibiotici se koriste samo kada su apsolutno indikovani za upotrebu i to prema nalazu mikrobiološke analize. U premedikaciji se koristio sedativ medetomidin, 80 μ g/kg iv i analgetik metadon 1 mg/kg. Indukcija anestezije je rađena sa propofolom 10 mg/mL, uz intravensko davanje do efekta, a održavanje anestezije je rađeno inhalacijom izoflurana. Ligature i ušivanje mišića i kože rađeno je koncima: PDS 2-0, (Ethicon, USA) i Monocryl 3-0 (Ethicon, USA). Nakon završenog hirurškog zahvata preko rane se stavlja zaštitni flaster (Sorbaktant Bayer). Postoperativni protokol je obuhvatio aplikaciju antiemetika maropitanta s.c. 1 mg/kg jednom dnevno, ringer laktata 10-15 ml/kg jednom dnevno i.v. i analgetika robenakoksib 2 mg/kg jednom dnevno, maksimalno 3 dana.

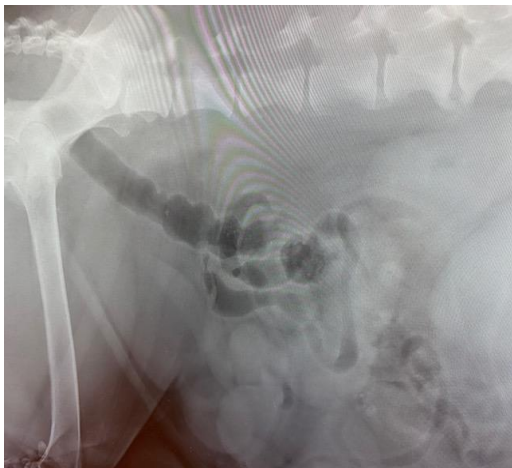
4.7. Statistička analiza rezultata

U statističkoj analizi dobijenih rezultata kao osnovne statističke metode korišćeni su deskriptivni statistički pokazatelji (mere centralne tendencije, standardna devijacija, standardna greška aritmetičke sredine, interval varijacije i koeficijent varijacije). Dalja statistička analiza rađena je u zavisnosti da li su analizirani podaci normalno distribuirani ili ne. Testiranje na normalnost izvedeno je pomoću Kolmogorov-Smirnov (*Kolmogorov-Smirnov*) testa. Kod normalne distribucije podataka za poređenje signifikantnih razlika između eksperimentalnih grupa korišćena je jednofaktorska analiza varijanse (*One way analysis of variances*). Kada podaci nisu normalno distribuirani upotrebljena je Kruskal - Vallisova analiza varijanse (*Kruskal Wallis Analysis of Variance on Ranks*). Kod statistički signifikantne razlike između grupa, parovi grupa su poređeni između sebe na osnovu parametarskog *Tukievog* testa, odnosno ne-parametrijskog *Dunn's Multiple Comparison* testa. Značajnost razlika ustanovljena je na nivoima značajnosti od 5 i 1%. Statistička analiza izvedenog eksperimenta urađena je u *Statistical analysis of the results was elaborated using software GraphPad Prism version 5.00 for Windows, GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com* i MS Excel-u.

5. REZULTATI

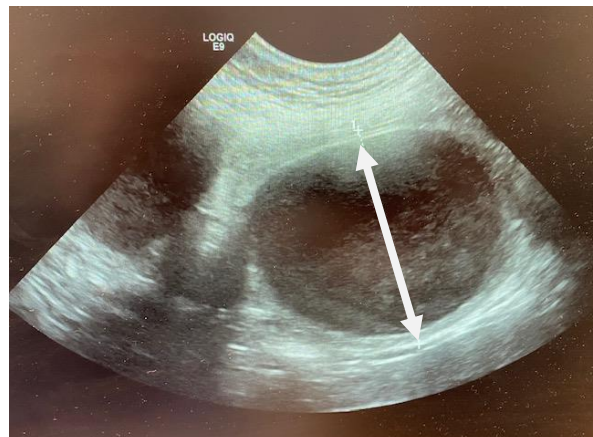
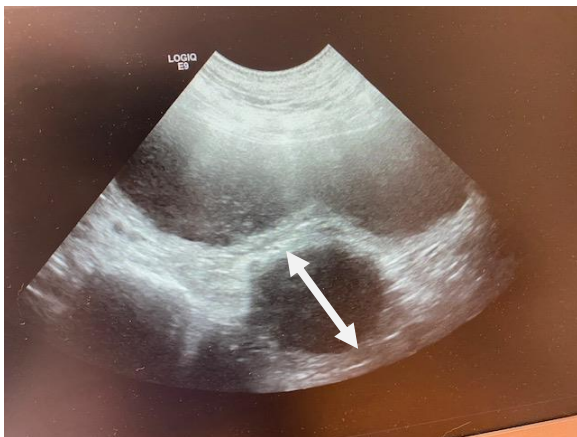
5.1. Rezultati kliničkog pregleda

Rentgenskim snimanjem 20 kuja postavljena je sumnja na piometru (Slika 5), koja je potvrđena i ultrazvučnim nalazima (Slika 6 i 7).



Slika 5. Rengenski snimak piometre kuje

Na nativnom rendgenogramu abdomena (Slika 5), kuje snimljenom u LL projekciji, zapažaju se u predelu hipogastrijuma intenzivna, jasno marginalizovana, homogena, mekotkivna zasenčenja uterusa, u vidu ampulastih proširenja, a čija širina odgovara dužini tela poslednjeg lumbalnog pršljena. Rogovi uterusa zauzimaju ventralni deo abdomena, a njihovi zavoji se prostiru od kranijalne aperture karlice, sve do središnjih partija mezogastrijuma, odnosno, kaudalnog pola levog bubrega. Descendenti kolon i rektum su rasvetljini gasovima, dok su tanka creva ispunjena mekotkivnim sadržajem ujednačene gustine. Na kaudo- i kranioventralnim rubovima tela drugog, trećeg i četvrtog lumbalnog pršljena se vizualizuju koštane apozicije u vidu mostića koje premošćuju artikulacione prostore. Dg. *Pyometra, Meteorismus intestini crassi, Spondyloarthritis chronica deformans ancylopoetica vert. lumbales II-III-IV*



Slika 6 i 7. Ultrazvučni nalaz piometre kuja

Na slikama 6 i 7 primećuju se anehogene tvorevine sa hiperehogenim senkama unutar tvorevina koje odgovaraju nalazu kod dijagnoze piometra. Anehogene strukture predstavljaju tečnost unutar uterusa a sitne hiperehogene partikule unutar lumena ukazuju na prisustvo gnoja (strelica). Zbog veličine materice ispunjene gnojnim sadržajem, na ultrazvučnom nalazu primećuje se više anehogenih tvorevina u trenutku pozicioniranja sonde i prostiranja UZ talasa.

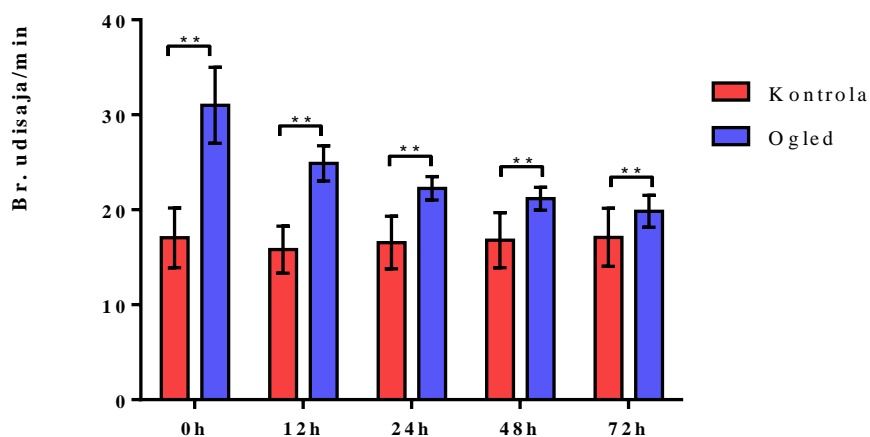
U tabelama od 4 do 6 prikazani su rezultati broja udisaja u minuti, broja otkucaja srca i telesna temperatura kod kontrolne (K) i ogledne grupe (O).

Tabela 4. Deskriptivne statističke vrednosti za broj udisaja u minuti

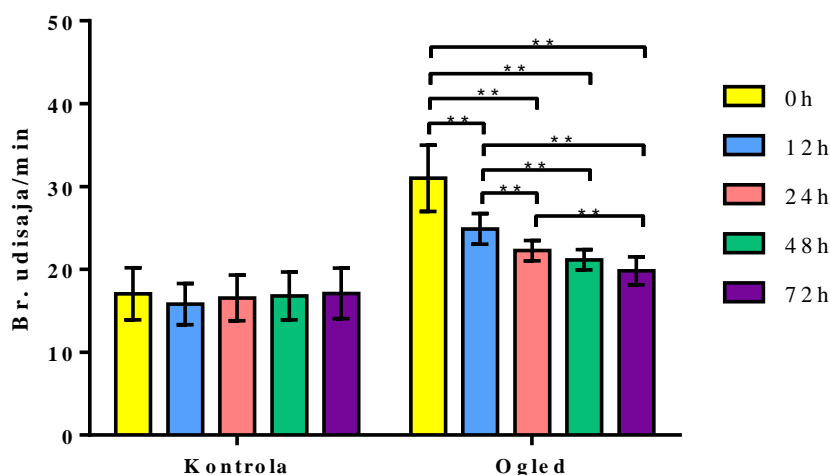
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	17,05	3,15	0,7052	18,50	22	12
	12	20	15,80	2,48	0,5554	15,72	20	12
	24	20	16,55	2,76	0,6176	16,69	21	12
	48	20	16,80	2,90	0,6473	17,23	21	12
	72	20	17,10	3,06	0,6840	17,89	22	12
O	0	19	31,00	4,00	0,9177	12,90	39	25
	12	19	24,89	1,85	0,4251	7,44	29	22
	24	19	22,26	1,24	0,2845	5,57	25	20
	48	19	21,16	1,21	0,2785	5,74	23	19
	72	19	19,84	1,68	0,3844	8,44	23	17

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje parametra udisaja u minuti, ustanovljava se da se prosečna vrednost kod kontrolne grupe kretala u intervalu od $15,80 \pm 2,48$ dvanaestog sata do $17,10 \pm 3,06$ sedamdesetdrugog sata. Za razliku od kontrolne grupe, vrednost parametra disanja kod ogledne grupe nalazi se na višem nivou i kretala se u intervalu od $19,84 \pm 1,68$ sedamdesetdrugog sata do $31,00 \pm 4,00$ nultog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na vrlo niskom nivou posebno kod oglednih grupa. Najniži koeficijent varijacije je bio kod ogledne grupe dvadesetčetvrtog sata (5,57%), a najviši nivo je imao nultog sata kontrolne grupe (18,50%). Posmatrajući grafički prikaz poređenje vremena između kontrole i ogleda kod parametra disanje, ustanovljena je statistički značajna razlika između svih ispitivanih vremena od 99% ($p < 0,01$) (Tabela 4).



Grafikon 1. Broj udisaja u minuti kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 2. Broj udisaja u minuti kod kontrolne i ispitivane grupe u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

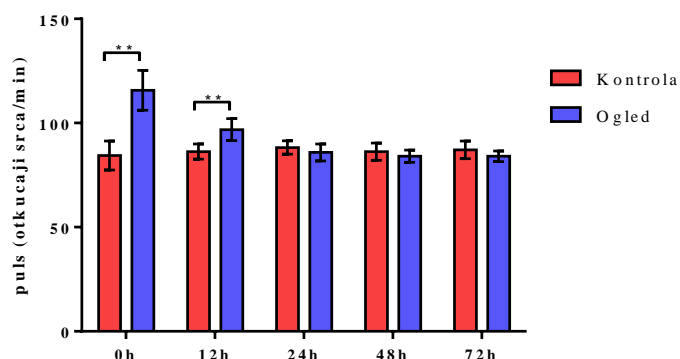
Međusobnim upoređivanjem kontrolne grupe parametra udisaja u minuti, nisu ustanovljene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) između ispitivanih vremena. Za razliku od kontrolne grupe, u ogleđnoj grupi se javila statistički značajna razlika, i to od 99% ($p < 0,01$) kod svih vremena osim između 48. i 72. sata ($p > 0,05$) (Grafikon 1 i 2).

Tabela 5. Deskriptivne statističke vrednosti otkucaja srca u minuti

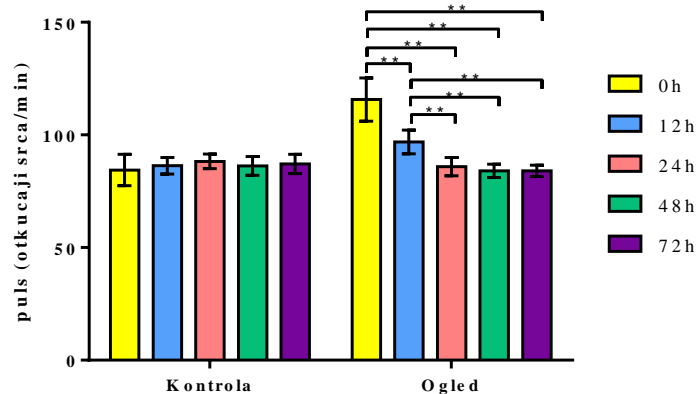
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	84,40	6,94	1,5520	8,22	94	71
	12	20	86,30	3,66	0,8179	4,24	92	79
	24	20	88,25	3,21	0,7177	3,64	94	80
	48	20	86,25	4,14	0,9259	4,80	98	80
	72	20	87,15	4,26	0,9522	4,89	97	80
O	0	19	115,70	9,61	2,2050	8,31	131	98
	12	19	96,84	5,27	1,2100	5,45	105	86
	24	19	85,89	4,08	0,9363	4,75	95	81
	48	19	84,05	2,93	0,6731	3,49	90	80
	72	19	84,05	2,53	0,5797	3,01	88	80

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Statističkom analizom deskriptivnih pokazatelja parametra otkucaja srca u minuti, ustanovljava se da se prosečna vrednost kod kontrolne grupe kretala u intervalu od $84,40 \pm 6,94$ nultog sata do $88,25 \pm 3,21$ dvadesetčetvrtog sata. Za razliku od kontrolne grupe vrednost parametra pulsa kod ogledne grupe nije bio ujednačen i kretao se u intervalu od $84,05 \pm 2,53$ sedamdesetdrugog sata do $115,70 \pm 9,61$ nultog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na izrazito niskom nivou. Najniži koeficijent varijacije je bio kod ogledne grupe sedamdesetdrugog sata (3,01%), a najviši nivo je imao nultog sata ogledne grupe (8,31%). Posmatrajući grafički prikaz parametra puls, na određenim mestima su ustanovljene signifikantne razlike kod ispitivanih vremena između kontrole i ogleda i to kod nultog i 12. sata sa statistički značajnom razlikom od 99% ($p < 0,01$) (Tabela 5).



Grafikon 3. Broj otkucaja srca u minutu kod kontrolne i ispitivane grupe grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 4. Broj otkucaja srca u minuti kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

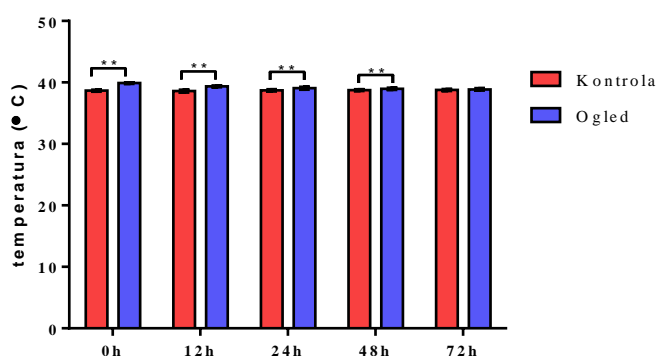
Posmatrajući grafički prikaz parametra otkucaja srca u minuti, može se zaključiti se da se unutar kontrolne grupe nisu javile signifikatne razlike po vremenima. Međutim, statistički značajne razlike se javile unutar ogledne grupe kod nultog i 12. sata sa svim ostalim vremenima od 99% ($p < 0,01$), dok se između 24.h, 48.h i 72.h nisu ustanovile statistički značajne razlike ($p > 0,05$) (Grafikon 3 i 4).

Tabela 6. Deskriptivne statističke vrednosti telesne temperature

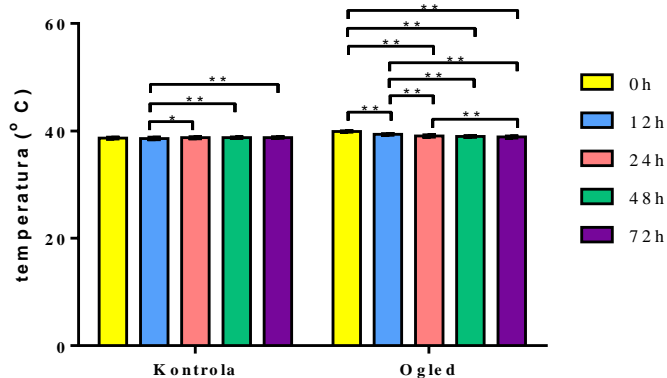
Gr.	Vreme	N	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	38,66	0,16	0,0359	0,42	38,90	38,30
	12	20	38,59	0,23	0,0520	0,60	38,90	38,20
	24	20	38,73	0,18	0,0397	0,46	39,00	38,40
	48	20	38,74	0,15	0,0328	0,38	39,00	38,40
	72	20	38,77	0,16	0,0350	0,40	39,10	38,40
O	0	20	39,90	0,13	0,0285	0,32	40,10	39,70
	12	20	39,36	0,15	0,0336	0,38	39,70	39,20
	24	20	39,06	0,22	0,0494	0,57	39,40	38,70
	48	20	38,96	0,18	0,0407	0,47	39,20	38,70
	72	20	38,86	0,20	0,0438	0,50	39,20	38,60

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje parametra telesna temperatura, ustanovljava se da je prosečna vrednost kod kontrolne grupe imala izrazito male varijacije i kretala u intervalu od $38,59 \pm 0,23$ dvanaestog sata do $38,77 \pm 0,16$ sedamdesetdrugog sata. Kod ogledne grupe vrednost telesne temperature nalazi se na nešto višem nivou i kretala se u intervalu od $38,86 \pm 0,20$ sedamdesetdrugog sata do $39,90 \pm 0,13$ nultog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na izrazito niskom nivou. Najniži koeficijent varijacije je bio kod ogledne grupe nultog sata (0,32%), a najviši nivo je imao dvanaestog sata kontrolne grupe (0,60%). Posmatrajući grafički prikaz parametra temperatura, ustanovljene su signifikantne razlike od 99% ($p < 0,01$) između svih ispitivanih vremena između kontrole i ogleda, osim kod 72. sata se nije javila statistički značajna razlika ($p > 0,05$) (Tabela 6).



Grafikon 5. Merenje telesne temperature kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 6. Merenje telesne temperature kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

Posmatrajući grafički prikaz parametra temperatura, može se zaključiti da su se unutar kontrolne grupe javile signifikantne razlike između 12. sata sa svim ostalim vremenima. Statistički značajna razlika od 95% se javila između 12. i 24. sata, a od 99% između 12.h i

48.h kao i 72. sata Takođe, statistički značajne razlike su se javile i unutar ogledne grupe kod svih vremena $p < 0,01$, između 24.h i 48.h, a zatim između 48.h i 72. sata nije ustanovljena statistički značajan razlika $p > 0,05$ (Grafikon 5 i 6).

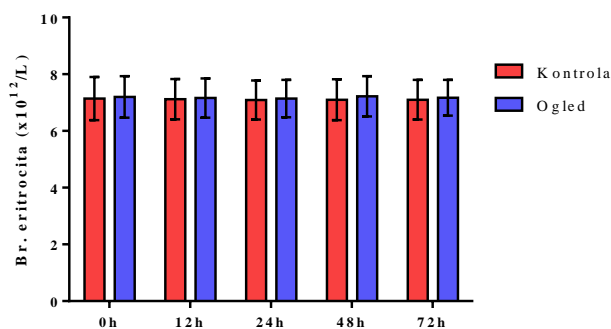
5.2 Rezultati hematoloških analiza

Tabela 7. Deskriptivne statističke vrednosti broja eritrocita

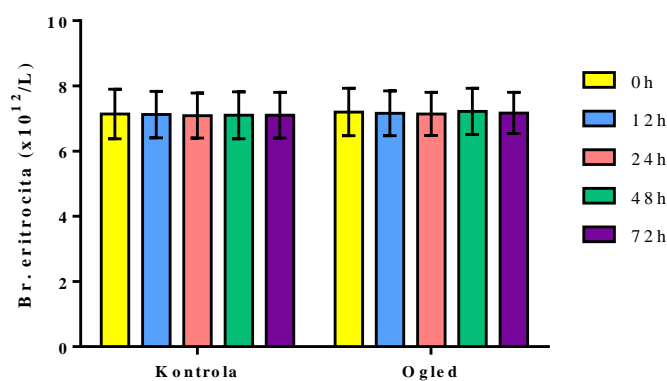
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	7,14	0,76	0,1693	10,60	8,28	5,86
	12	20	7,12	0,72	0,1591	10,00	8,26	5,95
	24	20	7,10	0,69	0,1551	9,78	8,10	5,85
	48	20	7,10	0,72	0,1602	10,10	8,20	5,80
	72	20	7,10	0,70	0,1567	9,87	8,20	5,90
O	0	20	7,20	0,73	0,1640	10,19	8,29	5,80
	12	20	7,16	0,69	0,1538	9,60	8,02	5,76
	24	20	7,14	0,66	0,1483	9,29	8,06	5,79
	48	20	7,22	0,71	0,1591	9,86	8,80	5,86
	72	20	7,17	0,63	0,1407	8,78	8,10	5,80

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje broja eritrocita, ustanovljava se da je prosečna vrednost kod kontrolne grupe bila skoro identična kod svih vremena i kretala se u intervalu $7,10 \pm 0,70$ sedamdesetdrugog sata do $7,14 \pm 0,76$ nultog sata, dok je kod ogledne grupe vrednost eritrocita bila na prosečno višem nivou i kretala se u intervalu od $7,14 \pm 0,66$ dvadestčetvrtog sata do $7,22 \pm 0,71$ četrdesetmog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na niskom nivou. Najniži je bio kod ogledne grupe sedamdesetdrugog sata (8,78%) a najviši nivo je imao nultog sata kontrolne grupe (10,60%). Posmatrajući grafički prikaz i upoređivanjem vremena između kontrole i ogledne grupe, kod broja eritrocita, može se zaključiti da nisu ustanovljene statistički značajne razlike ($p < 0,05$) (Tabela 7).



Grafikon 7. Broj eritrocita kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 8. Broj eritrocita kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

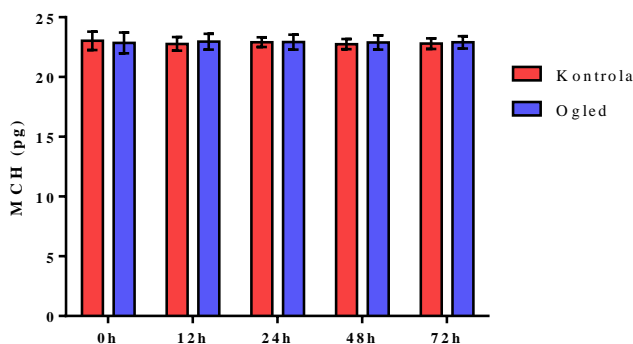
Posmatrajući grafički prikaz i međusobnim poređenjem vremena unutar kontrolne i ogledne grupe, kod broja eritrocita nisu ustanovljene statistički značajne razlike ($p < 0,05$) (Grafikon 7 i 8).

Tabela 8. Deskriptivne statističke vrednosti MCH

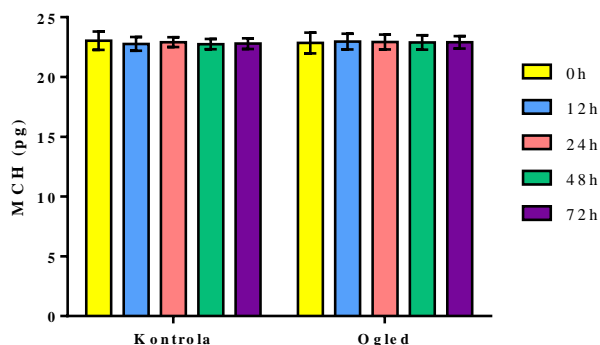
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	23,03	0,77	0,1714	3,33	24,20	21,60
	12	20	22,77	0,57	0,1276	2,51	23,90	21,90
	24	20	22,91	0,41	0,0912	1,78	23,70	21,80
	48	20	22,75	0,43	0,0956	1,88	23,90	21,70
	72	20	22,79	0,44	0,0977	1,92	23,50	21,80
O	0	20	22,85	0,87	0,1943	3,80	24,10	21,60
	12	20	22,96	0,66	0,1477	2,88	24,00	21,80
	24	20	22,92	0,62	0,1388	2,71	24,10	21,70
	48	20	22,89	0,60	0,1342	2,62	24,00	21,80
	72	20	22,90	0,52	0,1154	2,25	23,90	22,10

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje parametra MCH, ustanovljava se da se prosečna vrednost kod kontrolne grupe kretala u intervalu od $22,75 \pm 0,43$ četrdesetosmog sata do $23,03 \pm 0,77$ sedamdesetdrugog sata. Kako kod kontrolne grupe, tako i kod ogledne grupe vrednost MCH ima vrlo mala variranja. Vrednost ovog parametra kod ogledne grupe kretala se u intervalu od $22,85 \pm 0,87$ nultog sata do $22,96 \pm 0,66$ dvanaestog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na izrazito niskom nivou. Najniži koeficijent varijacije je bio kod kontrolne grupe dvadesetčetvrtog sata (1,78%) a najviši nivo je imao nultog sata ogledne grupe (3,80%). Posmatrajući grafički prikaz parametra MCH, nisu ustanovljene signifikantne razlike između ispitivanih vremena između kontrole i ogleda ($p > 0,05$) (Tabela 8).



Grafikon 9. Vrednosti MCH kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 10. Vrednosti MCH kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

Posmatrajući grafički prikaz parametra MCH, zaključuje se da se unutar kontrolne i ogledne grupe se nisu javile signifikatne razlike između vremena ($p > 0,05$) (Grafikon 9 i 10).

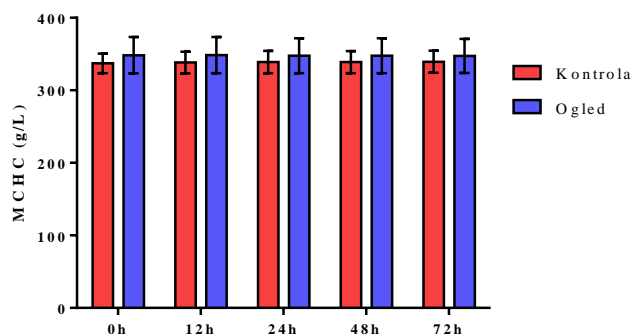
Tabela 9. Deskriptivne statističke vrednosti MCHC

Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	337,20	13,51	3,0220	4,01	361	320
	12	20	338,30	14,91	3,3340	4,41	363	322
	24	20	339,00	15,28	3,4170	4,51	365	322
	48	20	338,90	15,23	3,4050	4,49	364	321
	72	20	339,30	15,22	3,4040	4,49	364	322
O	0	20	348,40	25,17	5,6290	7,23	388	321
	12	20	348,50	25,00	5,5890	7,17	388	321
	24	20	347,60	24,09	5,3860	6,93	386	321
	48	20	347,70	24,15	5,4000	6,95	387	321
	72	20	347,40	23,51	5,2570	6,77	387	320

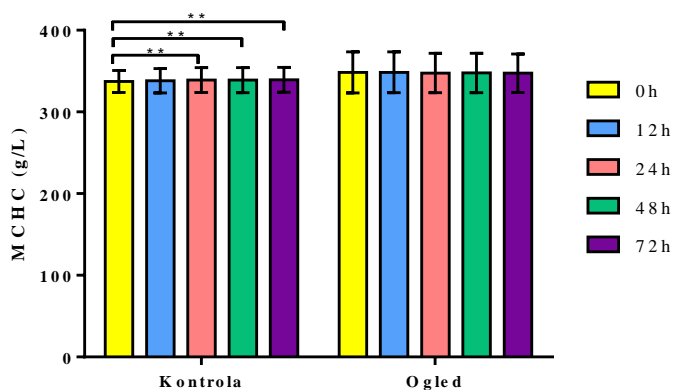
Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Statističkom analizom deskriptivnih pokazatelja parametra MCHC, ustanovljava se da se prosečna vrednost kod kontrolne grupe kretala u intervalu od $337,20 \pm 13,51$ nultog sata do $339,30 \pm 15,22$ sedamdesetdrugog sata, što pokazuje konstantan rast ovog parametra. Kao kod kontrolne grupe tako i kod ogledne grupe vrednost MCH ima vrlo mala variranja. Vrednost

ovog parametra kod ogledne grupe kretala se u intervalu od $347,40 \pm 23,51$ sedamdesetdrugog sata do $38,40 \pm 25,17$ nultog sata, što pokazuje da vrednosti ovog pokazatelja opadaju kod ogledne grupe. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na izrazito niskom nivou. Najniži koeficijent varijacije je bio kod kontrolne grupe nultog sata (4,01%), a najviši nivo je imao nultog sata ogledne grupe (7,23%). Posmatrajući grafički prikaz kod parametra MCHC, nisu ustanovljene statistički značajne razlike kod ispitivanih vremena između kontrole i ogleda ($p > 0,05$) (Tabela 9).



Grafikon 11. Vrednosti MCHC kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 12. Vrednosti MCHC kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

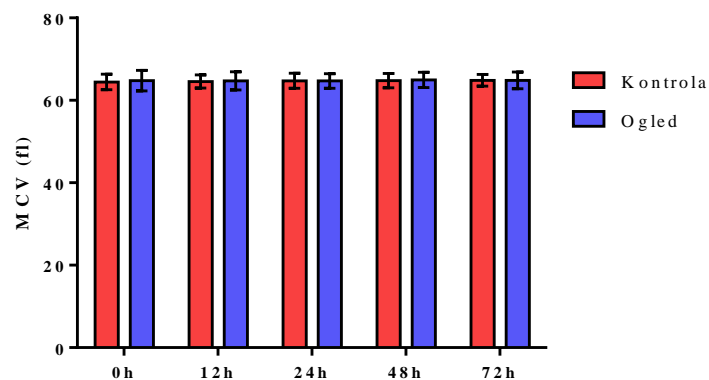
Posmatrajući grafički prikaz parametra MCHC, može se zaključiti se da su se unutar kontrolne grupe javile signifikantne razlike između nultog sata i 24. h, zatim 0. h i 48. h i 0. h i 72. h sa statističkom značajnošću od 99% ($p < 0,01$). Unutar ogledne grupe se nisu javile signifikantne razlike između vremena $p > 0,05$ (Grafikon 11 i 12).

Tabela 10. Deskriptivne statističke vrednosti MCV

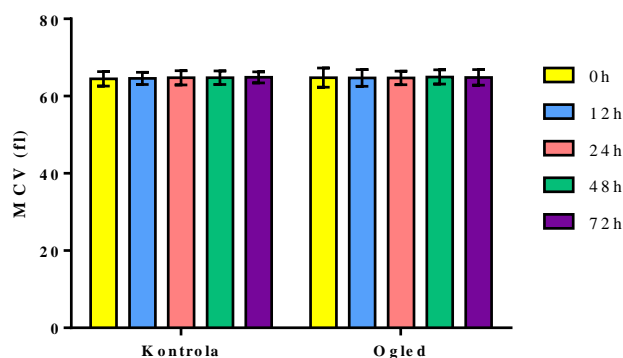
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	64,45	1,87	0,4182	2,90	68,40	61,70
	12	20	64,57	1,58	0,3526	2,44	67,90	62,30
	24	20	64,75	1,83	0,4097	2,83	67,70	61,10
	48	20	64,76	1,74	0,3900	2,69	67,60	61,10
	72	20	64,86	1,43	0,3186	2,20	67,30	62,50
O	0	20	64,83	2,42	0,5412	3,73	68,80	60,20
	12	20	64,68	2,14	0,4780	3,30	67,80	61,10
	24	19	64,71	1,78	0,4092	2,76	67,40	62,10
	48	19	64,97	1,86	0,4263	2,86	67,50	62,20
	72	19	64,85	2,01	0,4602	3,09	67,50	61,30

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje parametra MCV, ustanovljava se da prosečna vrednost ovog pokazatelja kretala u vrlo uskom intervalu, kako kod kontrolne, tako i kod ogledne grupe. Kod kontrolne grupe najniža prosečna vrednost bila je nultog sata ($64,45 \pm 1,87$), a najvša sedamdesetdrugog sata do $64,86 \pm 1,43$ i ovaj pokazatelj kod kontrolne grupe ima tendenciju porasta. Kao i kod kontrolne grupe tako i kod ogledne grupe, vrednost MCV ima vrlo mala variranja. Vrednost ovog parametra kod ogledne grupe kretala se u intervalu od $64,68 \pm 2,14$ dvanaestog sata do $64,97 \pm 1,86$ četrdesetosmog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je ujednačen i na izrazito niskom nivou. Najniži koeficijent varijacije je bio kod kontrolne grupe sedamdesetdrugog sata i iznosio je 2,20%, a najviši nivo je imao nultog sata ogledne grupe (3,73%). Upoređivanjem vremena kod parametra MCV između kontrole i ogleda, nije ustanovljena statistički značajna razlika kod svih ispitivanih vremena ($p < 0,05$) (Tabela 10).



Grafikon 13. Vrednosti MCV kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 14. Vrednosti MCV kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

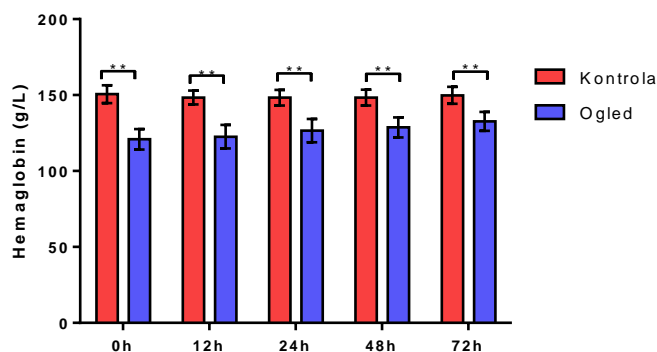
Poređenjem vremena kod grupa parametra MCV, unutar kontrolne i ogledne grupe nisu ustanovljene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) između ispitivanih vremena (Grafikon 13 i 14)

Tabela 11. Deskriptivne statističke vrednosti hemoglobina

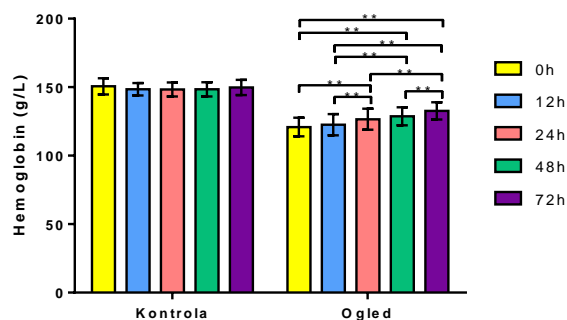
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	150,60	5,91	1,3560	3,92	158	138
	12	20	148,40	4,54	1,0410	3,06	157	139
	24	20	148,30	5,17	1,1850	3,48	156	138
	48	20	148,40	5,22	1,1970	3,52	155	137
	72	20	149,80	5,57	1,2790	3,72	156	138
O	0	20	120,90	6,75	1,5470	5,58	131	110
	12	20	122,60	7,80	1,7890	6,36	145	108
	24	20	126,60	7,71	1,7690	6,09	140	114
	48	20	128,70	6,60	1,5140	5,13	141	120
	72	20	132,70	6,27	1,4390	4,73	145	124

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje kod vrednosti hemoglobina, ustanovljava se da je prosečna vrednost kod kontrolne grupe bila vrlo ujednačena i kretala se u intervalu $148,30 \pm 5,17$ dvadesetčetvrtog sata do $150,60 \pm 5,91$ nultog sata. Kod ogledne grupe vrednost hemoglobina bila na prosečno nižem nivou i kretala se u intervalu od $122,60 \pm 7,80$ dvanaestog sata do $132,70 \pm 6,27$ sedamdesetdrugog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na vrlo niskom nivou. Najniži je bio kod kontrolne grupe dvanaestog sata (3,06%), a najviši nivo je imao takođe dvanaestog sata kod ogledne grupe (6,36%). Poređenjem istih vremena između kontrole i ogleda vrednosti hemoglobina, ustanovljene su statistički značajne razlike između svih ispitivanih vremena od 99% ($p < 0,01$) (Tabela 11).



Grafikon 15. Vrednosti hemoglobina kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 16. Vrednosti hemoglobina kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

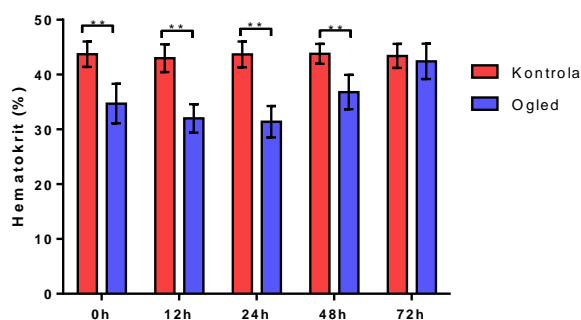
Posmatrajući grafički prikaz parametra hemoglobin, može se zaključiti se da se unutar kontrolne grupe nisu javile signifikatne razlike ($p > 0,05$). Kod ogledne grupe statistički značajna razlika od 99% se javila između 72. sata i svih ostalih vremena, kao i između 48 sata i 0 sata i 12 sata. Takođe, statistički značajne razlike su se javile i unutar ogledne grupe između 24 i 0 i 12 sata ($p < 0,01$), dok između ostalih vremena nije ustanovljena statistički značajan razlika $p > 0,05$ (Grafikon 15 i 16).

Tabela 12. Deskriptivne statističke vrednosti hematokrita

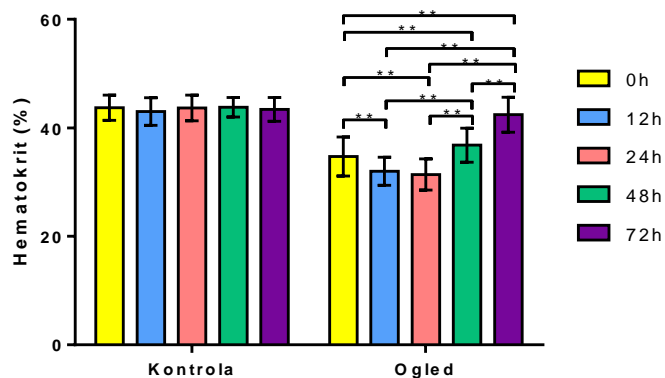
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	43,71	2,33	0,5210	5,33	48,30	39,20
	12	20	42,99	2,54	0,5668	5,90	48,00	39,20
	24	20	43,67	2,36	0,5276	5,40	49,40	40,20
	48	20	43,80	1,81	0,4051	4,14	47,00	40,30
	72	20	43,40	2,19	0,4897	5,05	47,70	40,40
O	0	20	34,70	3,60	0,8049	10,38	39,00	25,80
	12	20	32,00	2,58	0,5767	8,06	37,30	26,20
	24	20	31,40	2,86	0,6403	9,12	35,30	25,00
	48	20	36,81	3,13	0,6994	8,50	4,40	29,10
	72	20	42,42	3,23	0,7215	7,61	47,80	33,10

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Statističkom analizom deskriptivnih pokazatelja vrednosti hematokrita, ustanovljava se da je prosečna vrednost kod kontrolne grupe bila u intervalu $42,99 \pm 2,54$ dvanaestog sata do $43,80 \pm 1,81$ četrdesetosmog sata. Dok je kod ogleadne grupe vrednost hematokrita bila na prosečno nižem nivou i kretala se u intervalu od $31,40 \pm 2,86$ dvadestčetvrtog sata do $42,42 \pm 3,23$ sedamdesetdrugog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na vrlo niskom nivou. Najniži je bio kod kontrolne grupe četrdesetosmog sata (4,14%), a najviši nivo je imao nultog sata ogleadne grupe (10,38%). Poređenjem vrednosti hematokrita istih vremena između kod kontrole i ogleđa, ustanovljene su statistički značajne razlike između svih ispitivanih vremena od 99% ($p < 0,01$), osim kod 72. sata gde nije bilo signifikantne razlike ($p > 0,05$) (Tabela 12).



Grafikon 17. Vrednosti hematokrita kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 18. Vrednosti hematokrita kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

Posmatrajući grafički prikaz parametra hematokrita, može se zaključiti se da se unutar kontrolne grupe nisu javile signifikantne razlike ($p > 0,05$). Kod ogleadne grupe statistički značajna razlika od 99% su se javila između 72. sata i svih ostalih vremena, kao i između 48. sata i svih ostalih vremena. Takođe, statistički značajne razlike su se javile i unutar ogleadne

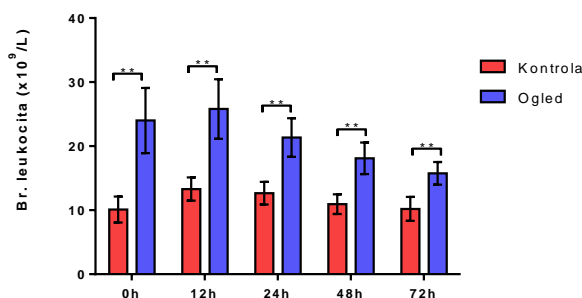
grupe između 24 i 0 sata ($p < 0,01$), kao i između 0 i 12 sata, dok između ostalih vremena nije ustanovljena statistički značajan razlika ($p > 0,05$) (Grafikon 17 i 18).

Tabela 13. Deskriptivne statističke vrednosti broja leukocita

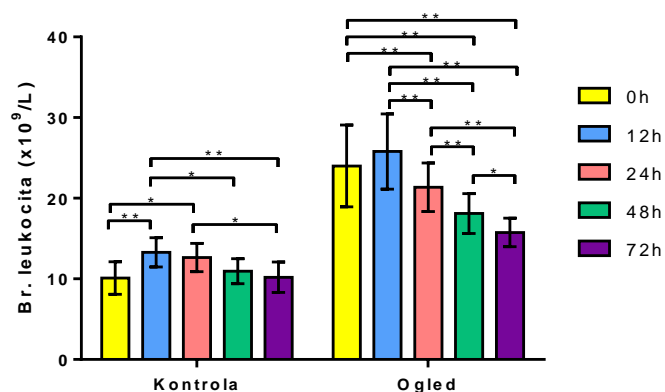
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	10,10	2,02	0,4525	20,04	14	7
	12	20	13,30	1,81	0,4046	13,60	15	10
	24	20	12,65	1,76	0,3925	13,88	15	9
	48	20	10,95	1,54	0,3439	14,05	14	7
	72	20	10,20	1,88	0,4205	18,44	14	8
O	0	20	24,00	5,08	1,1360	21,16	34	16
	12	20	25,80	4,66	1,043	18,08	39	20
	24	20	21,35	3,01	0,6739	14,12	30	17
	48	20	18,10	2,47	0,5520	13,64	24	14
	72	20	15,75	1,78	0,3965	11,26	22	14

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje vrednosti broja leukocita, ustanovljava se da je prosečna vrednost kod kontrolne grupe bila nultog sata u intervalu $10,10 \pm 2,02$, a dvanaestog sata $13,30 \pm 1,81$. Kod ogledne grupe vrednost leukocita je bila na višem nivou i kretala se u intervalu od $15,75 \pm 1,78$ sedamdesetdrugog sata do $25,80 \pm 4,66$ dvanaestog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na niskom nivou. Najniži je bio kod ogledne grupe sedamdesetdrugog sata (11,26%), a najviši nivo je imao nultog sata ogledne grupe (21,16%). Poređenjem istih vremena između kontrole i ogleda vrednosti leukocita, ustanovljene su statistički značajne razlike između svih ispitivanih vremena od 99% ($p < 0,01$) (Tabela 13).



Grafikon 19. Vrednosti broja leukocita kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 20. Vrednosti broja leukocita kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

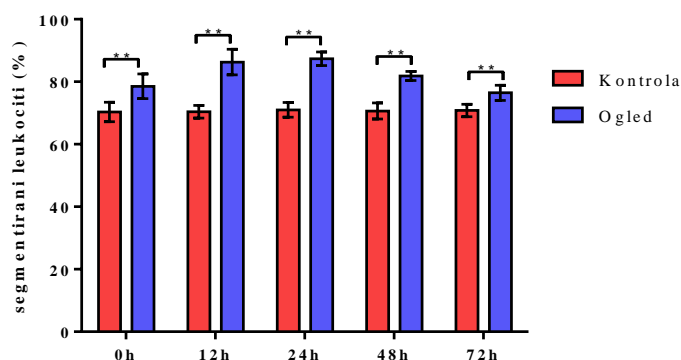
Posmatrajući grafički prikaz parametra broja leukocita, može se zaključiti da su se unutar kontrolne grupe javile signifikatne razlike ($p < 0,05$) između 0. i 24. sata, 12. i 48., kao i između 48. i 72. sata. Vrlo značajne razlike ($p < 0,01$) kod kontrolne grupe javile su se 0. i 12. sata, kao i između 12. i 78. sata. Kod ogledne grupe statistički značajna razlika od 99% se su javila između svih vremena međusobno. Jedino značajna razlika ($p < 0,05$) javila se između 72. i 48. u broju leukocita a nije ustanovljena statistički značajna razlika ($p > 0,05$) između 0. i 12. sata (Grafikon 19 i 20).

Tabela 14. Deskriptivne statističke vrednosti procenta segmentiranih leukocita

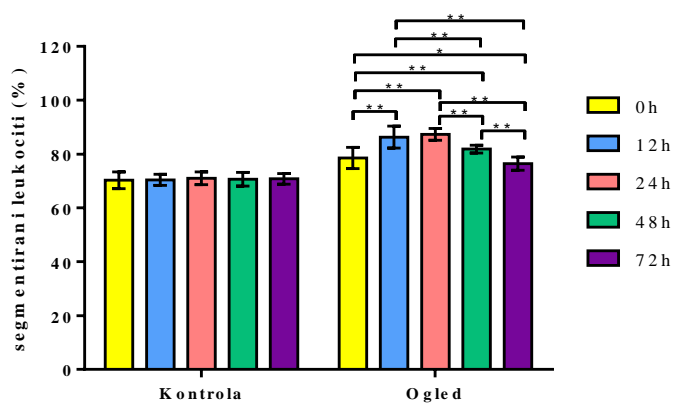
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	70,30	3,12	0,6962	4,43	74	63
	12	20	70,40	2,06	0,4611	2,93	74	65
	24	20	71,00	2,36	0,5282	3,33	74	65
	48	20	70,65	2,56	0,5725	3,62	74	64
	72	20	70,80	1,96	0,4389	2,77	74	66
O	0	20	78,55	3,92	0,8780	5,00	89	73
	12	20	86,30	4,01	0,9151	4,74	94	81
	24	20	87,35	2,18	0,4881	2,50	91	83
	48	20	81,85	1,42	0,3185	1,74	84	80
	72	20	76,45	2,46	0,5500	3,22	80	71

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje kod procenta segmentiranih leukocita, ustanovljava se da je prosečna vrednost kod kontrolne grupe bila u intervalu $70,30 \pm 3,12$ nultog sata do $71,00 \pm 2,36$ dvadesetčetvrtog sata. Dok je kod ogledne grupe vrednost procenta segmentiranih leukocita bio na višem nivou i kretao se u intervalu od $76,45 \pm 2,46$ sedamdesetdrugog sata do $87,35 \pm 2,18$ dvadesetčetvrtog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na vrlo niskom nivou. Najniži je bio kod ogledne grupe četrdesetosmog sata (1,74%), a najviši nivo je imao nultog sata ogledne grupe (5,00%). Poređenjem istih vremena između kontrole i ogleda vrednosti procenta segmentiranih, ustanovljene su statistički značajne razlike između svih ispitivanih vremena od 99% ($p < 0,01$) (Tabela 14).



Grafikon 21. Vrednosti procenta segmentiranih leukocita kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 22. Vrednosti procenta segmentiranih leukocita kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

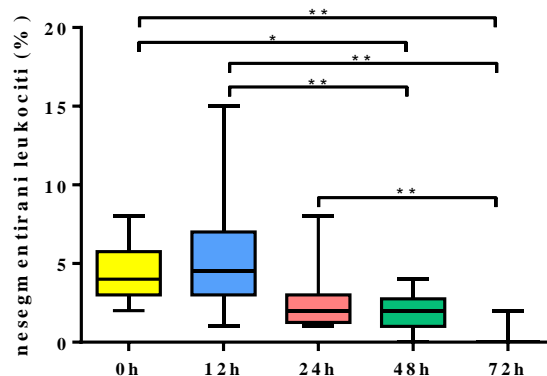
Međusobnim poređenjem vremena unutar grupa, vrednosti procenta segmentiranih leukocita, zaključuje se da se kod kontrolne grupe nisu javile statistički značajne razlike ($p > 0,05$), dok su se unutar ogledne grupe ustanovile statistički značajne razlike ($p < 0,01$), između svih ispitivanih vremena osim između 12.h i 24. sata (Grafikon 21 i 22).

Tabela 15. Deskriptivne statističke vrednosti procenta nesegmentisanih leukocita

Gr.	Vreme	n	Me	Q ₁ -Q ₃	CV (%)	X max	X min
O	0	20	4,00	2,75	41,40	8	2
	12	20	4,50	4,00	60,04	15	1
	24	20	2,00	1,75	64,12	8	1
	48	20	2,00	1,75	56,22	4	0
	72	20	0,00	0,00	220,05	2	0

Legenda O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Statističkom analizom deskriptivnih pokazatelja kod procenta nesegmentisanih leukocita ustanovljava se da je medijana kod ogledne grupe bila u intervalu od $0,00 \pm 0,00$ sedamdesetdrugog sata do $4,50 \pm 4,00$ dvanaestog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa bio je na vrlo visokom nivou. Najniži je bio kod ogledne grupe nultog sata (41,40%), a najviši nivo je imao sedamdesetdrugog sata ogledne grupe (220,05%). Posmatrajući grafički prikaz na kome je prikazan ogled, gde su upoređivana vremena kod % nesegmentiranih leukocita, ustanovljene su statistički značajne razlike koje su se javile između 0.h i 48.h ($p < 0,05$). Kod ispitivanih vremena između 0.h i 72.h, zatim između 12.h i 48.h, 12.h i 72.h, a na kraju i između 24.h i 72. sata se javila statistička značajnost od 99% ($p < 0,01$). U ostalim vremenima nisu ustanovljene signifikatne razlike ($p > 0,05$) (Tabela 15, Grafikon 23).



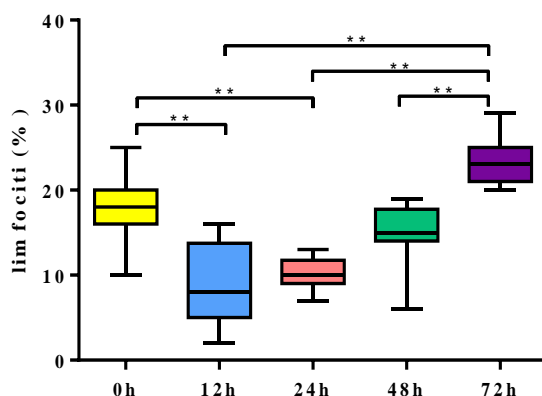
Grafikon 23. Vrednosti procenta nesegmentiranih leukocita kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

Tabela 16. Deskriptivne statističke vrednosti procenta limfocita

Gr.	Vreme	n	Me	Q ₁ -Q ₃	CV (%)	X max	X min
O	0	20	18,00	4,00	20,90	25	10
	12	20	8,00	8,75	52,50	16	2
	24	20	10,00	2,75	16,67	13	7
	48	20	15,00	3,75	27,70	19	6
	72	20	23,00	4,00	11,06	29	20

Legenda O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje kod procenta limfocita, ustanovljava se da je medijana kod ogledne grupe bila u intervalu od $8,00 \pm 8,75$ dvanaestog sata, do $23,00 \pm 4,00$ sedamdesetdrugog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa bio je na vrlo visokom nivou. Najniži je bio kod ogledne grupe sedamdesetdrugog sata (11,06%), a najviši nivo je bio dvanaestog sata kod ogledne grupe (52,50%). Prilikom analize procenta limfocita pri ogledu gde su se međusobno poredila različita vremena može se zaključiti da ima statistički značajnih razlika. Statistički značajna razlika se javila na par mesta i to između 0.h i 12. sata; 0.h i 24.h, zatim između 12.h i 72.h. Takođe se značajnost javila između 24.h i 72.h kao i između 48.h i 72.h od 99% ($p < 0,01$). U ostalim vremenima nisu ustanovljene statistički signifikantne razlike ($p > 0,05$) (Tabela 16 i Grafikon 24).



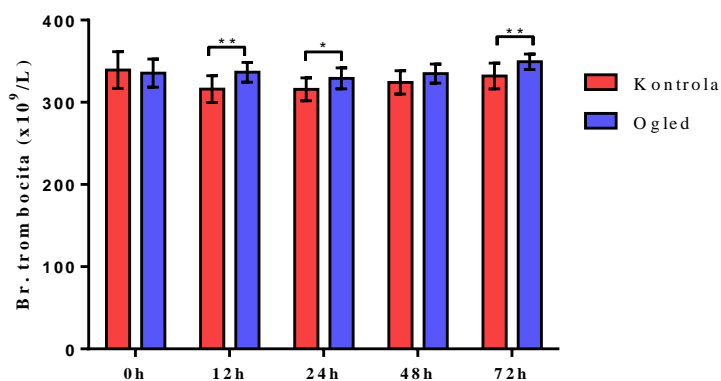
Grafikon 24. Vrednosti procenta limfocita kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

Tabela 17. Deskriptivne statističke vrednosti broja trombocita

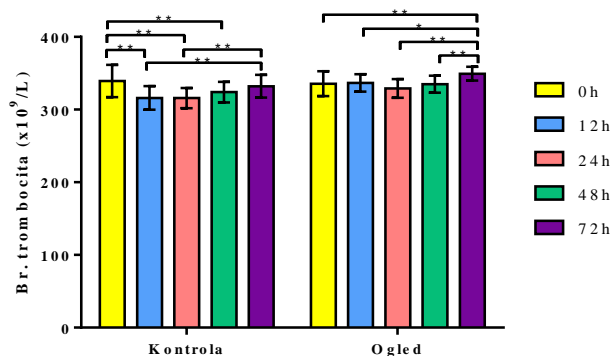
Gr.	Vreme	N	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	339,30	22,21	4,9670	6,55	391	311
	12	20	316,00	16,20	3,6220	5,13	362	285
	24	20	315,80	13,97	3,1230	4,42	350	290
	48	20	324,10	14,20	3,1750	4,38	351	291
	72	20	332,10	15,62	3,492	4,70	355	296
O	0	20	335,60	17,15	3,836	5,11	363	311
	12	20	336,60	11,99	2,681	3,56	363	321
	24	20	329,10	12,85	2,873	3,90	349	309
	48	20	334,90	11,71	2,619	3,50	357	310
	72	20	349,30	9,49	2,1210	2,72	364	336

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje kod broja trombocita, ustanovljava se da je prosečna vrednost kod kontrolne grupe bila u intervalu $315,80 \pm 13,97$ dvadesetčetvrtog sata do $339,30 \pm 22,21$ nultog sata. Kod ogledne grupe vrednost trombocita kretala u intervalu od $329,10 \pm 12,85$ dvadesetčetvrtog sata do $349,30 \pm 9,49$ sedamdesetdrugog sata. Koefficient varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na vrlo niskom nivou. Najniži je bio kod ogledne grupe sedamdesetdrugog sata (2,72%) a najviši nivo je imao nultog sata kontrolne grupe (6,55%). Kod analize broja trombocita po vremenima između kontrole i ogleda javile su se statistički značajne razlike i to kod 12.h i 72.h sa statističkom značajnošću od 99% ($p < 0,01$), dok se kod 24.h javila signifikantna razlika od 95% ($p < 0,05$) (Tabela 17).



Grafikon 25. Vrednosti broja trombocita kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 26. Vrednosti broja trombocita kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

Posmatrajući grafički prikaz broja trombocita gde su međusobno upoređivana vremena unutar grupa, zaključuje se da su se javile ststistički značajne razlike kod kontrolne i ogledne grupe. U obe grupe se javila signifikantna razlika od 99% ($p < 0,01$). Unutar kontrolne grupe ustanovljena je statistička značajnost između 0h i 12; 0h i 24h; 0h i 48h, zatim između 12h i 72.h kao i 24.h i 72 sata analize. Kod ostalih vremena unutar kontrolne grupe nisu ustanovljene statistički značajne razlike ($p > 0,05$). Što se tiče ogledne grupe, unutar nje se javila statistička značajnost između 72 satasa svim ispitivanim vremenima, dok kod međusobnog poređenja ostalih vremena nisu ustanovljene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) (Grafikon 25 i 26).

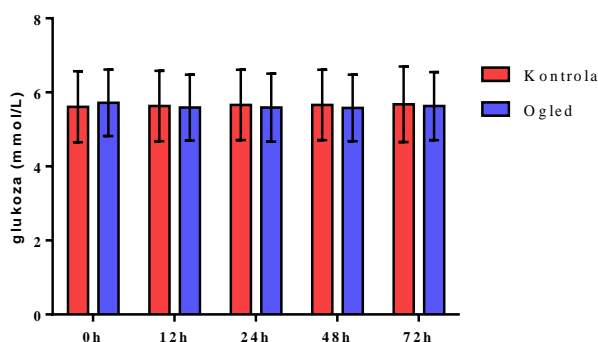
5.3. Rezultati biohemijskih analiza

Tabela 18. Deskriptivne statističke vrednosti koncentracije glukoze

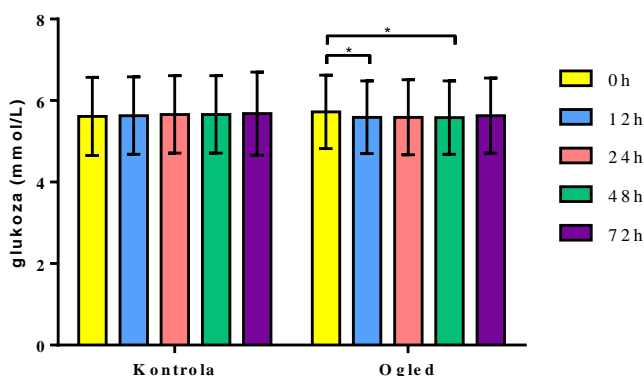
Gr.	Vreme	N	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	5,61	0,96	0,2157	17,19	7,30	4,11
	12	20	5,63	0,95	0,2131	16,94	7,28	4,32
	24	20	5,66	0,95	0,2124	16,78	7,32	4,25
	48	20	5,66	0,95	0,2132	16,86	7,36	4,29
	72	20	5,68	1,02	0,2273	17,90	7,38	4,30
O	0	20	5,72	0,90	0,2005	15,66	7,45	4,15
	12	20	5,59	0,89	0,1985	15,87	7,20	4,20
	24	19	5,59	0,92	0,2106	16,43	7,35	4,25
	48	19	5,58	0,90	0,2056	16,06	7,40	4,15
	72	19	5,63	0,92	0,2101	16,26	7,40	4,25

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje parametra koncentracije glukoze, ustanovljava se da je prosečna vrednost kod kontrolne grupe bila vrlo ujednačena i evidentan je porast u vremenskom intervalu. Njena prosečna vrednost se kretala u intervalu od $5,61 \pm 0,96$ nultog sata do $5,68 \pm 1,02$ sedamdesetdrugog sata. Za razliku od ogledne grupe, vrednost glukoze kod kontrolne grupe ima tendenciju pada u vremensko intervalu. Vrednost glukoze kod ogledne kretala se u intervalu od $5,58 \pm 0,90$ četrdesetosmog sata do $5,72 \pm 0,90$ nultog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na niskom nivou i ujednačen. Najniži koeficijent varijacije je bio kod ogledne grupe nultog sata (15,66%), a najviši nivo je imao sedamdesetdrugog sata kontrolne grupe (17,90%). Posmatrajući grafički prikaz kod parametra glukoza, nisu utvrđene signifikantne razlike kod ispitivanih vremena između kontrole i ogleda ($p > 0,05$) (Tabela 18).



Grafikon 27. Vrednosti koncentracije glukoze kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 28. Vrednosti koncentracije glukoze kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

Posmatrajući grafički prikaz grupa kontrole i ogleda kod parametra koncentracije glukoze, zaključuje se da nema statistički značajne razlike unutar kontrolne grupe ($p > 0,05$). Kod

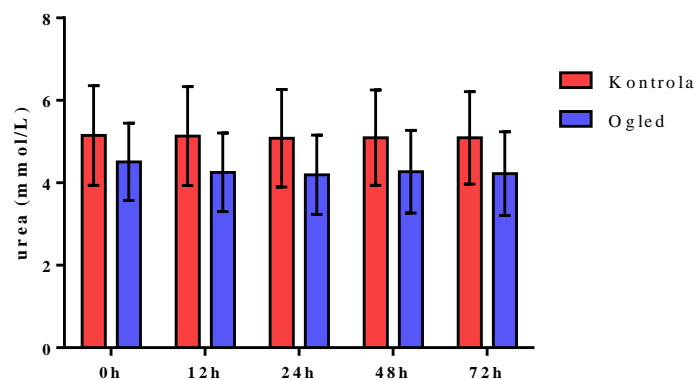
ogledne grupe ustanovljene su statistički značajne razlike od 95% ($p < 0,05$), između 0.h i 12.h kao i 0.h i 48.h (Grafikon 27 i 28).

Tabela 19. Deskriptivne statističke vrednosti koncentracije uree

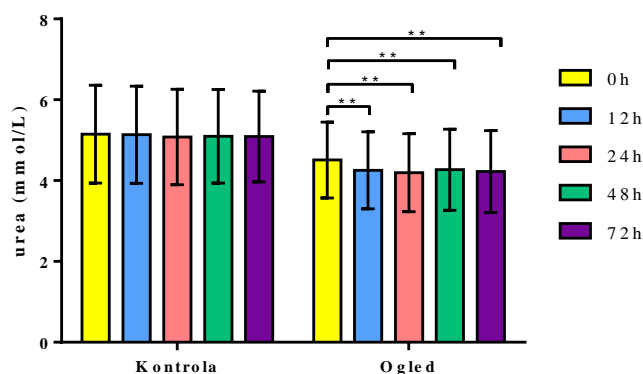
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	5,15	1,20	0,2704	23,48	7,20	3,70
	12	20	5,14	1,20	0,2685	23,38	7,00	3,70
	24	20	5,08	1,18	0,2644	23,28	6,80	3,60
	48	20	5,10	1,15	0,2588	22,72	6,80	3,70
	72	20	5,09	1,12	0,2510	22,05	6,70	3,70
O	0	20	4,51	0,93	0,2099	20,81	6,10	2,60
	12	20	4,26	0,95	0,2132	22,41	6,00	2,20
	24	20	4,20	0,96	0,2154	22,96	6,00	2,20
	48	20	4,27	1,00	0,2242	23,48	6,00	2,20
	72	20	4,23	1,01	0,2267	24,00	5,80	2,20

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje parametra urea, ustanovljava se da je prosečna vrednost kod kontrolne grupe bila vrlo ujednačena sa tendencijom opadanja, i kretala se u intervalu od $5,08 \pm 1,18$ dvadestčetvrtog sata do $5,15 \pm 1,20$ nultog sata. Takođe, i kod ogledne grupe vrednost uree ima tendenciju opadanja u vremenskom intervalu i nešto niži nivo, u odnosu na kontrolnu grupu. Vrednost uree kretala se u intervalu od $4,51 \pm 0,93$ nultog sata do $4,20 \pm 0,96$ dvadesetčetvrtog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je vrlo ujednačen i na niskom nivou. Najniži je bio kod ogledne grupe nultog sata (20,81%), a najviši nivo je imao sedamdesetdrugog sata kod ogledne grupe (24,00%). Posmatrajući grafički prikaz parametra urea, gde su poređena vremena između kontrole i ogleđa, nisu utvrđene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) (Tabela 19).



Grafikon 29. Vrednosti koncentracije uree kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***) .



Grafikon 30. Vrednosti koncentracije uree kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***) .

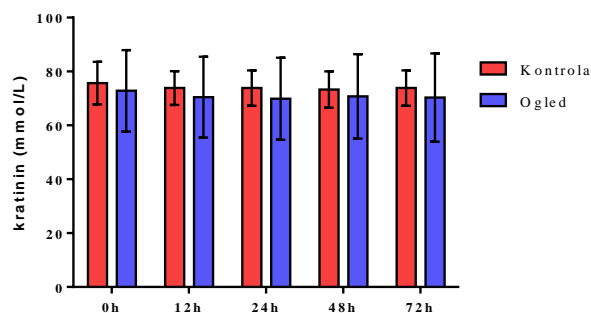
Posmatrajući grafički prikaz koncentracije uree, unutar kontrolne grupe nisu ustanovljene statistički značajne razlike ($p > 0,05$), dok su statistički značajne razlike ustanovljene unutar ogleđne grupe, i to između vremena 0.h i 12.h, 24.h, 48.h, i 72. sata od 99% ($p < 0,01$) (Grafikon 29 i 30) .

Tabela 20. Deskriptivne statističke vrednosti koncentracije kreatinina

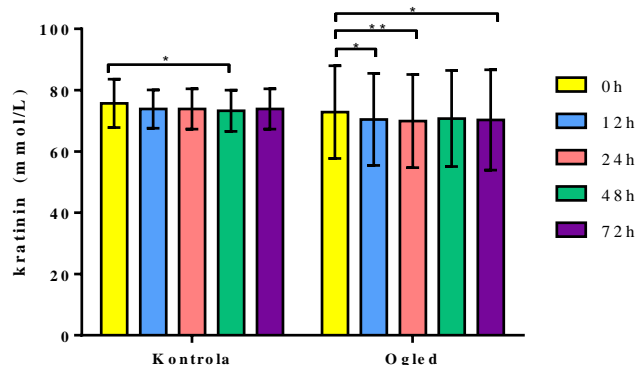
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	75,70	7,88	1,7620	10,41	89	63
	12	20	73,85	6,25	1,3980	8,47	84	63
	24	20	73,85	6,57	1,4690	8,90	84	63
	48	20	73,30	6,71	1,4990	9,15	84	63
	72	20	73,85	6,57	1,4690	8,90	86	61
O	0	20	72,85	15,11	3,3780	20,74	101	47
	12	20	70,45	15,01	3,3570	21,31	97	47
	24	20	69,90	15,21	3,4000	21,76	99	46
	48	20	70,75	15,66	3,5020	22,13	101	46
	72	20	70,30	16,38	3,6640	23,31	103	40

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Statističkom analizom deskriptivnih pokazatelja parametra koncentracije kreatinina, ustanovljava se da je prosečna vrednost kod kontrolne grupe bila vrlo ujednačena i kretala se u intervalu od $73,30 \pm 6,71$ četrdesetosmog sata do $75,70 \pm 7,88$ nultog sata. Kod ogledne grupe, vrednost kreatinina ima nešto niži nivo u odnosu na kontrolnu grupu. Vrednost kreatinina kod ogledne kretala se u intervalu od $69,90 \pm 15,21$ dvadestčetvrtog sata do $72,5 \pm 15,11$ nultog sata. Koeficijent varijacije, kod svih ispitivanih vremena kontrolne grupe, bio je na niskom nivou i ujednačen. Takođe, ista slika je i kod ogledne grupe, samo što je koeficijent varijacije ovde na višem nivou. Najniži koeficijent varijacije je bio kod kontrolne grupe dvanaestog sata (8,47%), a najviši nivo je imao sedamdesetdrugog sata ogledne grupe (23,31%). Kod parametra kreatinin, vršena su poređenja po vremenu između kontrole i ogleda, gde se može zaključiti da nisu utvrđene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) (Tabela 20).



Grafikon 30. Vrednosti koncentracije kreatinina kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 32. Vrednosti koncentracije kreatinina kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)).

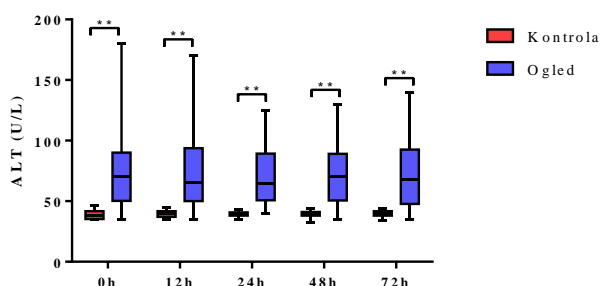
Upoređivanjem grupa kod parametra koncentracije kreatinina, zaključuje se da su unutar kontrolne grupe ustanovljene statistički značajne razlike ($p < 0,05$) između 0.h i 48.h. Međutim, unutar ogleadne grupe i to između vremena 0.h i 12.h i 0.h i 72.h ustanovljene su signifikante razlike od 95% ($p < 0,05$), a između 0h i 24h ustanovljena je signifikanta razlika od 99% ($p < 0,01$) (Grafikon 31 i 32).

Tabela 21. Deskriptivne statističke vrednosti koncentracije ALT

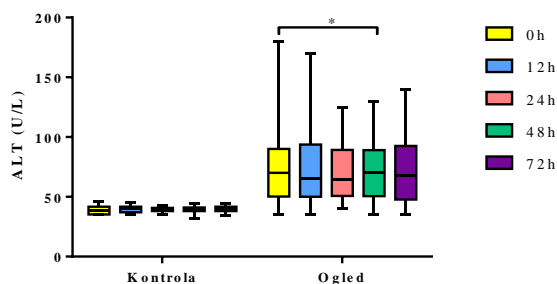
Gr.	Vreme	n	Me	Q ₁ -Q ₃	CV (%)	X max	X min
K	0	20	38,50	35,25-41,75	8,85	46	35
	12	20	40,00	37,00-41,75	7,13	45	35
	24	20	40,00	38,00-40,75	5,79	43	35
	48	20	40,00	38,00-41,00	6,81	44	32
	72	20	40,00	38,00-41,75	6,55	44	34
O	0	20	70,00	50,25-90,00	51,94	180	35
	12	20	65,00	50,00-93,75	46,35	170	35
	24	20	64,50	50,75-89,25	36,68	125	40
	48	20	70,00	50,50-89,00	38,42	130	35
	72	20	67,50	47,75-92,50	40,27	140	35

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje parametra koncentracije ALT, ustanovljava se da je medijana kod kontrolne grupe kod svih vremena bila 40,00 sa vrlo sličnim odnosom prvog i trećeg kvartala (38,00-41,75), a jedino je medijana nultog sata imala vrednost $38,50 \pm 35,25-41,75$. Kod ogledne grupe vrednost parametara ALT bila je na višem nivou i vrednost medijane se kretala u intervalu od $64,50 \pm 50,75-89,25$ dvadesetčetvrtog sata do $70,00 \pm 50,25-90,00$ nultog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih kontrolnih grupa bio je izrazito nizak, dok je kod oglednih grupa bio visok. Najniži je bio kod kontrolne grupe dvadesetčetvrtog sata (5,79%), a najviši nivo je imao nultog sata ogledne grupe (51,94%). Posmatrajući grafički prikaz upoređivanja vremena kod kontrole i ogleda parametra ALT, utvrđene su signifikantne razlike od 99% ($p < 0,01$) između svih ispitivanih vremena (Tabela 21).



Grafikon 33. Vrednosti koncentracije ALT kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)).



Grafikon 34. Vrednosti koncentracije ALT kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)).

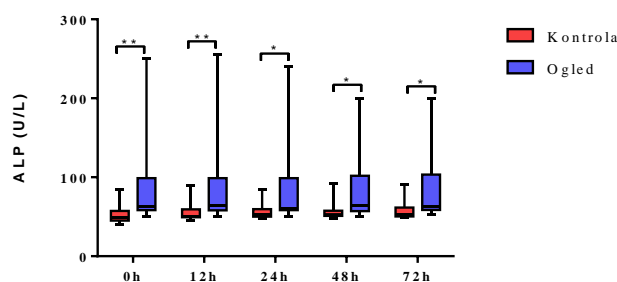
Posmatrajući grafički prikaz po grupama parametara ALT, unutar kontrolne grupe nije ustanovljena statistički značajna razlika ($p > 0,05$), dok je statistički značajna razlika ustanovljena unutar ogledne grupe ($p < 0,05$) i to između 0. h i 48. sata (Grafikon 33 i 34).

Tabela 22. Deskriptivne statističke vrednosti koncentracije ALP

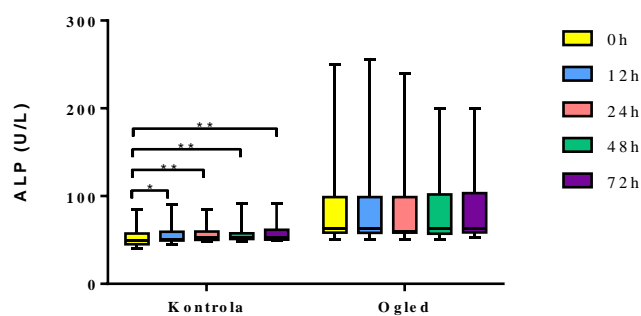
Gr.	Vreme	n	Me	Q1-Q3	CV (%)	X max	X min
K	0	20	52,40	45,00-57,25	20,12	85	40
	12	20	54,65	49,25-59,25	18,63	90	45
	24	20	55,55	50,00-59,25	15,15	85	48
	48	20	55,85	51,00-53,00	16,90	92	48
	72	20	56,20	50,25-52,50	17,06	91	49
O	0	20	94,00	58,25-62,50	70,45	250	50
	12	20	93,25	58,00-63,50	68,85	255	50
	24	20	91,90	58,25-60,00	68,11	240	50
	48	20	88,35	57,00-101,80	60,19	200	50
	72	20	88,70	58,50-103,30	59,05	200	53

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Statističkom analizom deskriptivnih pokazatelja parametra koncentracije ALP, ustanovljava se da je medijana kod kontrolne grupe bila najmanja kod nultog sata i imala je vrednost $52,40 \pm 45,00-57,25$, a najveća je bila sedamdesetdrugog sata i njena vrednost je iznosila $56-20 \pm 50,25-52,50$. Kod kontrolne grupe vrednosti medijane su bile na višem nivou, nego kod ogledne grupe. Najniža vrednost medijane bila je četrdesetosmog sata i iznosila je $88,35 \pm 57,00-101,80$, a navišu vrednost imala je $94,00 \pm 58,25-62,50$ nultog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih kontrolnih grupa bio je nizak, dok je kod oglednih grupa bio visok. Najniži je bio kod kontrolne grupe dvadesetčetvrtog sata (15,15%), a najviši nivo je imao nultog sata ogledne grupe (70,45%). Upoređivajem vremena kontrole i ogleda parametra ALP, ustanovljene su statistički značajne razlike između svih ispitivanih vremena, i to kod 0h i 12h, 99% ($p < 0,01$), dok je između ostalih grupa ustanovljena signifikatna razlika od 95% ($p < 0,05$) (Tabela 22).



Grafikon 35. Vrednosti koncentracije ALP kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 36. Vrednosti koncentracije ALP kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)).

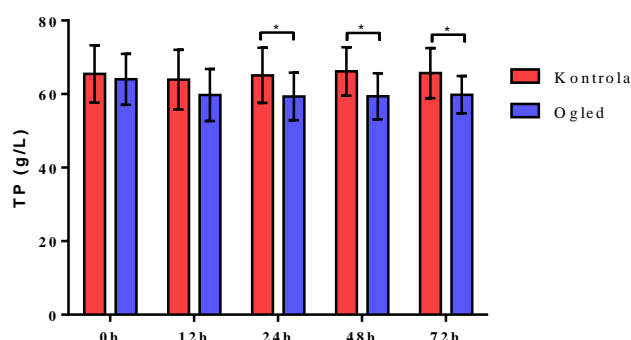
Upoređivajem parametra koncentracije ALP unutar kontrolnih i oglednih grupa, ustanovljene su statistički značajne razlike između ispitivanih kontrolnih grupa i to između 0 h i 12 h, 95% ($p < 0,05$), dok su ostala vremena između 0h i 24h, 48h i 72h, unutar kontrolne grupe imala signifikatnu razliku od 99% ($p < 0,01$). Između oglednih grupa nisu utvrđene signifikantne razlike ($p > 0,05$) (Grafikon 35 i 36).

Tabela 23. Deskriptivne statističke vrednosti koncentracije TP (ukupni proteini)

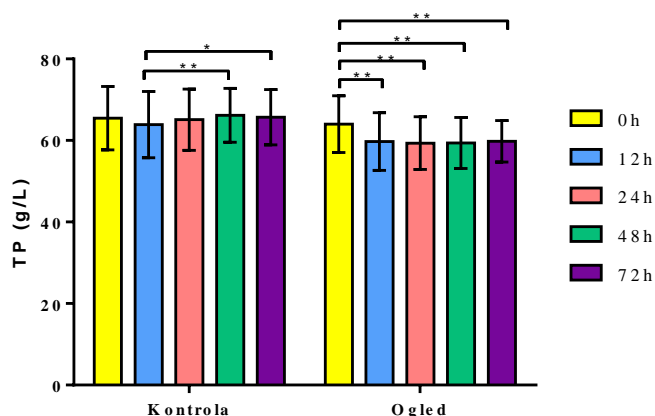
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	65,45	7,78	1,7390	11,88	80	53
	12	20	63,90	8,12	1,8160	12,71	81	53
	24	20	65,10	7,53	1,6830	11,56	80	54
	48	20	66,15	6,60	1,4770	9,98	80	54
	72	20	65,70	6,81	1,5240	10,37	79	55
O	0	20	64,00	6,95	1,5540	10,86	71	50
	12	20	59,75	7,07	1,5810	11,83	68	42
	24	20	59,35	6,48	1,4500	10,92	68	45
	48	20	59,40	6,27	1,4020	10,55	68	45
	72	20	59,80	5,07	1,1350	8,49	67	50

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Statističkom analizom deskriptivnih pokazatelja parametra koncentracije TP, ustanovljava se da je prosečna vrednost kod kontrolne grupe bila vrlo ujednačena i kretala se u intervalu od $63,90 \pm 8,12$ dvanaestog sata, do $65,70 \pm 6,81$ sedamdesetdrugog sata. Za razliku od kontrolne grupe, vrednost TP kod ogledne grupe nalazi se na nižem nivou i kretala se u intervalu od $64,00 \pm 6,95$ nultog sata, do $59,35 \pm 6,48$ dvadesetčetvrtog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na vrlo niskom nivou i ujednačen. Najniži koeficijent varijacije je bio kod ogledne grupe sedamdesetdrugog sata (8,49%), a najviši nivo je imao dvanaestog sata kontrolne grupe (12,71%). Posmatrajući grafički prikaz parametra TP, na određenim mestima su ustanovljene signifikantne razlike kod ispitivanih vremena između kontrole i ogleda, i to 24h, 48h i 72h ($p < 0,05$) (Tabela 23).



Grafikon 37. Vrednosti koncentracije TP kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 38. Vrednosti koncentracije TP kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

Posmatrajući grafički prikaz parametra koncentracije TP, zaključuje se da ima statistički značajne razlike unutar kontrolne i ogledne grupe. Unutar kontrolne grupe, značajnost se javila između 12.h i 48. sata, sa signifikantnom razlikom od 99% ($p < 0,01$), dok je između

12.h i 72.h zabeležena statistički značajna razlika od 95% ($p < 0,05$). Takođe, statistički značajne razlike su se javile i unutar ogledne grupe između nultog vremena i svih ostalih vremena (12.h, 24.h, 48.h, 72.h) od 99% po redu navođenja ($p < 0,01$) (Grafikon 37 i 38).

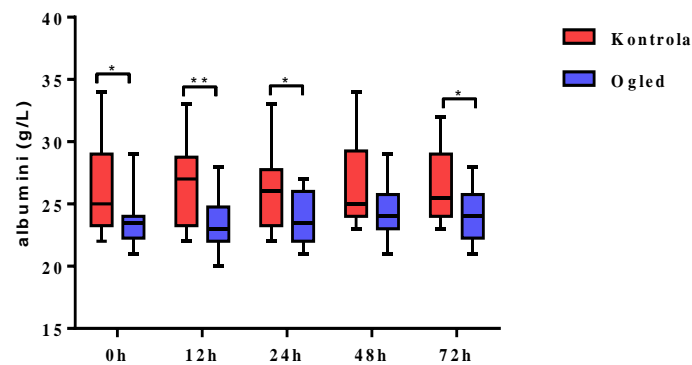
5.4 Rezultati proteina akutne faze

Tabela 24. Deskriptivne statističke vrednosti koncentracije albumina

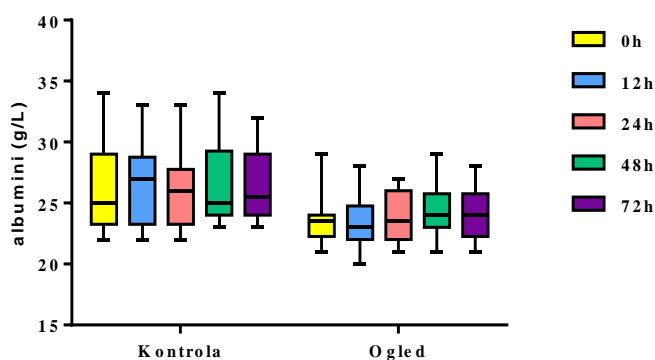
Gr.	Vreme	n	\bar{x}	SD	SE	CV (%)	X max	X min
K	0	20	26,35	3,65	0,8152	13,84	34	22
	12	20	26,60	3,46	0,7726	12,99	33	22
	24	20	26,15	3,05	0,6816	11,66	33	22
	48	20	26,30	3,37	0,7543	12,83	34	23
	72	20	26,65	3,22	0,7192	12,07	32	23
O	0	20	23,80	2,07	0,4623	8,69	29	21
	12	20	23,20	2,19	0,4899	9,44	28	20
	24	20	23,85	1,95	0,4369	8,19	27	21
	48	20	24,25	1,89	0,4222	7,79	29	21
	72	20	24,10	2,05	0,4583	8,50	28	21

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje parametra koncentracije albumina, ustanovljava se da je prosečna vrednost kod kontrolne grupe bila vrlo ujednačena i kretala se u intervalu od $26,15 \pm 3,05$ dvadesetčetvrtog sata do $26,65 \pm 3,22$ sedamdesetdrugog sata. Za razliku od kontrolne grupe, vrednost albumina kod ogledne grupe nalazi se na nižem nivou i kretala se u intervalu od $23,20 \pm 2,19$ dvanaestog sata, do $24,25 \pm 1,89$ četrdesetosmog sata. Koeficijent varijacije kod svih ispitivanih grupa i vremena bio je na vrlo niskom nivou i ujednačen. Najniži koeficijent varijacije je bio kod ogledne grupe četrdesetosmog sata (7,79%), a najviši nivo je imao nultog sata kontrolne grupe (13,84%). Upoređivanjem vremena kod parametra albumini, utvrđena su statistički značajne razlike između kontrole i oglada. Statistička značajnost se javila kod svih vremena izuzev 48 sata. Kod nultog, 24.h i 72. sata ustanovljena je signifikantna razlika ($p < 0,05$), dok se 12. sata javila značajnost od 99% ($p < 0,01$) (Tabela 24).



Grafikon 39. Vrednosti koncentracije albumina kod kontrole i ispitivane grupe– kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 40. Vrednosti koncentracije albumina kod kontrolne i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

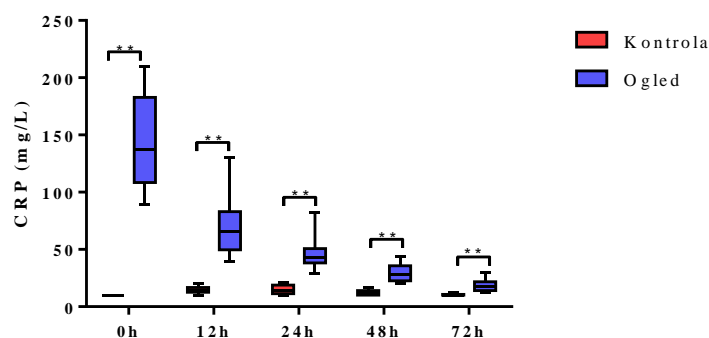
Međusobnim upoređivanjem vremena unutar kontrolne i ogledne grupe, kod parametra koncentracije albumina, nisu ustanovljene statistički značajne razlike ($p > 0,05$) (Grafikon 39 i 40).

Tabela 25. Deskriptivne statističke vrednosti koncentracije CRP

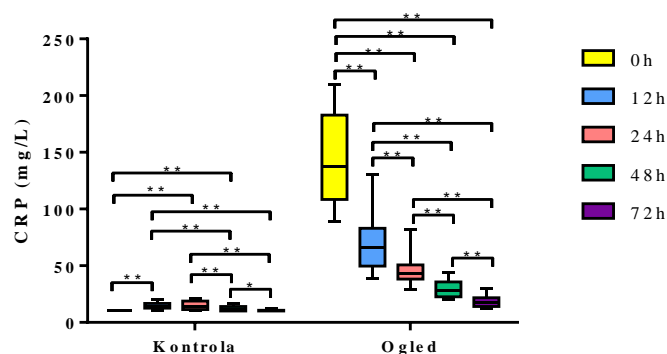
Gr.	Vreme	n	Me	Q ₁ -Q ₃	CV (%)	X max	X min
K	0	20	10,00	10,00-10,00	0,00	10	10
	12	20	14,50	12,50-16,75	18,81	20	10
	24	20	14,00	11,25-18,75	25,92	21	10
	48	20	11,50	10,00-14,00	20,38	17	10
	72	20	10,00	10,00-10,75	7,25	12	10
O	0	20	137,50	108,50-182,8	28,81	210	89
	12	20	66,00	49,75-83,00	33,33	130	39
	24	20	43,00	38,25-50,75	32,65	82	29
	48	20	28,50	22,50-35,75	24,65	44	20
	72	20	18,00	14,00-21,75	27,57	30	12

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Statističkom analizom deskriptivnih pokazatelja parametra koncentracije CRP, ustanovljava se da je medijana kod kontrolne grupe kod svih vremena bila ujednačena. Najmanja vrednost je bila nultog i sedamdesetdrugog sata (10,00), a najviša dvanaestog sata (14,50), sa približno sličnim odnosom prvog i trećeg kvartila (10,00-10,00). Kod ogledne grupe, vrednost parametara CRP bila na višem nivou i vrednost medijane se kretala u intervalu od 137,50±108, nultog sata do 18,00±14,00-21,75 sedamdesetdrugog sata, što pokazuje tendenciju opadanja u ispitivanom vremenskom intervalu. Koeficijent varijacije kod ispitivanih grupa i vremena bio je varijabilan; najniži je bio kod kontrolne grupe nultog sata (0,00%) a najviši nivo je imao dvanaestog sata ogledne grupe (33,33%). Upoređivanjem vremena između kontrole i ogleda kod parametra koncentracije CRP, ustanovljene su statistički značajne razlike između svih ispitivanih vremena od 99% ($p < 0,01$) (Tabela 25).



Grafikon 41. Vrednosti koncentracije CRP kod kontrole i ispitivane grupe– kuje sa piometrom (srednja vrednost ± SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)



Grafikon 42. Vrednosti koncentracije CRP kod kontrolne i ispitivane – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika unutar grupa u zadatim vremenima $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

Međusobnim upoređivanjem unutar kontrolne grupe parametra CRP, ustanovljene su statistički značajne razlike. Kod skoro svih vremena je utvrđena značajnost od 99% ($p < 0,01$), a između 48.h i 72. sata se javila signifikantnost od 95% ($p < 0,05$), izuzev 0h i 72 sata, a zatim i između 12.h i 24. sata gde se nije ustanovila signifikantna razlika ($p > 0,05$). Kada se uporede vremena unutar ogledne grupe, može se zaključiti da se statistički značajna razlika javila između svih vremena, i to sa značajnošću od 99% ($p < 0,01$) (Grafikon 41 i 42).

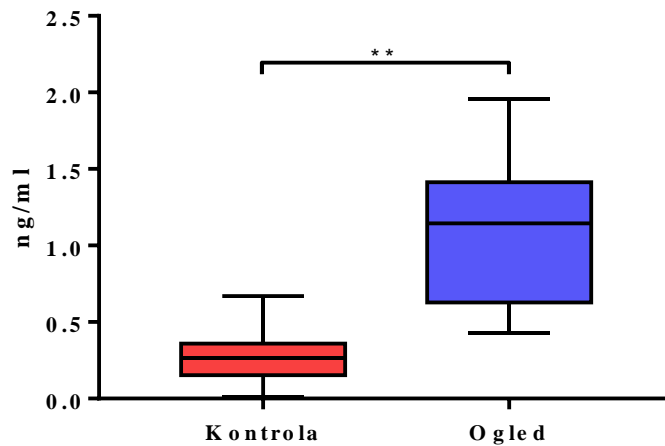
5.5. Rezultati hormonskih analiza

Tabela 26. Deskriptivne statističke vrednosti koncentracije AMH (medijana)

Gr.	N	Me	Q ₁ -Q ₃	CV (%)	X max	X min
Kontrola	20	0,27	0,15-0,36	62,67	0,67	0,01
Ogled	20	1,15	0,63-1,41	43,34	1,96	0,43

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje koncentracije Anti Milerovog hormona, ustanovljava se da je medijana kod kontrolne grupe bila 0,27 (0,15-0,36), dok je medijana ogledne grupe bila 1,15 (0,63-1,41) što je statistički značajno veće ($p < 0,01$). Koeficijent varijacije kod obe ispitivane grupe bio je na vrlo visokom nivou, kod kontrolne 62,67%, a kod ogledne 43,34% (Tabela 26 i Grafikon 43). Kod obe ispitivane grupe kuja u zadatim vremenima koncentracija AMH je bila ispod 0,02 ng/mL bez statističke značajnosti.

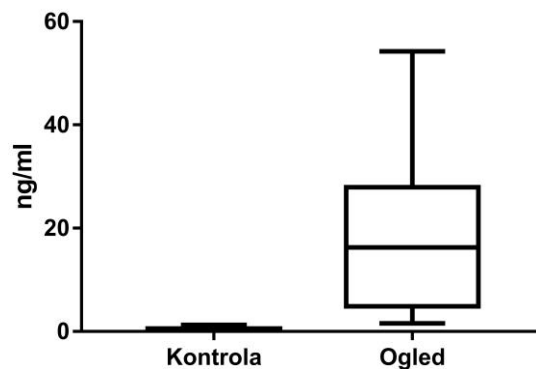


Grafikon 43. Vrednosti koncentracije AMH kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)).

Tabela 27. Deskriptivne statističke vrednosti koncentracije progesterona

Gr.	Vreme	n	Me	Q1-Q3	CV (%)	X max	X min
K	0	20	0,43	0,38-0,58	45,07	1,26	0,26
O	12	20	16,28	4,89-27,91	286,05	54,20	1,56

Legenda K-kontrolna grupa, O-ogledna grupa, n-broj uzoraka



Grafikon 44. Vrednosti koncentracije progesterona kod kontrole i ispitivane grupe – kuje sa piometrom (srednja vrednost \pm SD) u zadatim vremenima. Statistički značajna razlika u poređenju sa kontrolnom grupom $P < 0,05$ (*), $P < 0,01$ (**), $P < 0,001$ (***)

Analizirajući deskriptivne statističke pokazatelje koncentracije progesterona, nije ustanovljena statistički značajna razlika između grupa 0. sata (Tabela 27 i Grafikon 44), a u ostalim ispitivanim vremenima koncentracije progesteron bile u ispod praga detekcije 0,25 ng/mL.

5.6. Rezultati bakteriološki analiza

Kod ispitivane grupe kuja (n=20) sa piometrom, izolovana je patološka mikroflora koja je prikazana u Tabeli 28, dok kod zdravih kuja, kod kojih je sterilizacija urađena na zahtev vlasnika, nije izolovana patološka mikroflora.

Tabela 28. Mikrobiološka analiza uzoraka uzetih iz uterusa kuja sa piometrom

Izolovani mikroorganizmi	Broj uzoraka (n=20)	Procent (%)
<i>E. coli</i>	16	80
<i>Staphylococcus intermedius</i>	4	20

Mikrobiološkom izolacijom briseva uterusa ogleadne grupe, kod svih kuja je izolovana patološka mikroflora. U najvećem procentu od čak 80%, izolovana je *E. coli*, dok je u 4 uzorka (20%) izolovan *Staphylococcus intermedius*. Izolovana mikroflora je bila u čistoj kulturi kod svih kuja sa piometrom. Za razliku od ogleadne grupe kuja, mikrobiološkom analizom briseva uterusa kod zdravih, kontrolnih kuja, nije utvrđeno prisustvo mikroorganizama.

Tabela 29. Minimalne inhibitorne koncentracije antibiotika (mg/L) ispitivanih uzoraka *E. coli*

Br. kuje	amp	cex	a/k	cet	kol	t/s	gen	neo	tet	enro	nitro
1.	4	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
2.	≤2	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
3.	4	16	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
4.	≤2	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
5.	≤2	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
6.	4	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
7	4	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
11.	4	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
12.	4	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
13.	≤2	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
14.	4	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
15.	4	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
16.	4	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
17.	4	8	≤4/2	≤0,5	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
18.	4	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32
19.	4	8	≤4/2	≤0,25	≤ 1	≤0,5/9,5	≤2	≤4	≤2	≤0,12	≤32

Legenda: amp-ampicilin, cex-cefaleksin, a/k-amoksisicilin/klavulanska , cet-cefotaksin, kol-kolistin, t/s-trimetoprim/sulfonamidi, gen-gentamicin, neo-neomicin, tet-tetraciklini, enro-enrofloksacin, nitro-nitrofurantoin

Tabela 30. Minimalna inhibitorna koncentracija antibiotika za ispitivane antibiotike (mg/L)

Antibiotici	S	U	R
Ampicilin	≤8		>8
Cefaleksin	≤16		>16
Amoksisicilin/klavulanska	≤8/4		>8/4
Cefotaksin	≤0,25		>0,25
Koliszin	≤2		>2
Trimetoprim/sulfonamidi	≤0,5/9,5		>0,5/9,5
Gentamicin	≤2	4	>4
Neomicin	≤8		>8
Tetraciklin	≤4	8	>8
Enrofloksacin	≤0,12	0,25-1	>1
Nitrofurantoin	≤64		>64

Legenda: S- osetljivi, U-umereno osetljivi, R-rezistentni

Svi uzorci izolovane *E. coli* (16 uzoraka) bili su osetljivi na ispitivane antibiotike.

Tabela 31. Minimalne inhibitorne koncentracije antibiotika (mg/L) ispitivanih uzoraka *Staphylococcus intermedius*

Br. kuje	Test trak a	pen	cefl	ox	enro	fus	erit	kli	gen	nitro	tetr	t/s
8.	-	≤0,03	≤1	≤0,25	≤0,25	≤ 0,5	≤0,5	≤0,5	≤16	≤2	≤0,25	≤0,25/4,75
9.	+	R	≤1	≤0,25	≤0,25	≤ 0,5	≤0,5	≤0,5	≤16	≤2	≤0,25	≤0,25/4,75
10.	-	≤0,03	≤1	≤0,25	≤0,25	≤ 0,5	≤0,5	≤0,5	≤16	≤2	≤0,25	≤0,25/4,75
20.	+	R	R	≤0,25	≤0,25	≤ 0,5	R	≤0,5	≤16	≤2	≤0,5	≤0,25/4,75

Legenda: pen-penicilin, cepl-cefalotin, ox-oksaciklin , enro-enrofloksacin, fus-fusidin, erit-eritromicin, kli-klindamicin, gen-gentamicin, nitro-nitrofurantoin, tetr-tetraciklin, t/s-trimetoprim/sulfonamidi

Tabela 32. Minimalna inhibitorna koncentracijaza ispitivane antibiotike (mg/L)

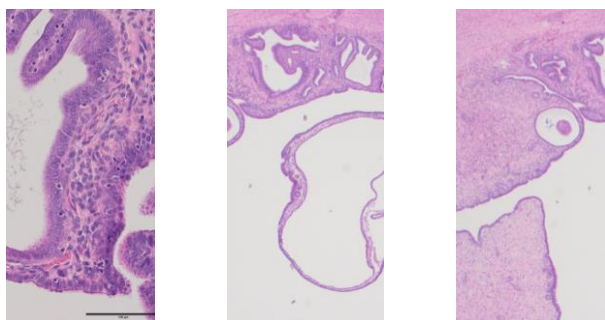
antibiotici	S	U	R
Penicilin	≤0,12		>0,12
cefalotin	≤2		>2
oksaciklin	≤0,25		>0,5
enrofloksacin	≤0,5		>0,5
fusidin	≤1		>1
eritromicin	≤0,5	1-2	>2
klindamicin	≤0,5	1-2	>2
gentamicin	≤4		>4
nitrofurantoin	≤32	64	>64
tetraciklin	≤0,5		>0,5
trimetoprim/sulfonamidi	≤0,5/9,5		>0,5/9,5

Legenda: S- osetljivi, U-umereno osetljivi, R-rezistentni

U Tabeli 31 i 32. vidimo da jedan izolat od ukupno četiri bio resistentan na penicilin, dok je drugi izolat rezistentan na penicilin, cefalotin i eritromicin. Svi ostali izolati *Staphylococcus intermedius* su osetljivi na ispitivane antibiotike

5.7. Rezultati patohistoloških analiza

Mikroskopskim pregledom je primećen različiti broj neutrofila, plazma- ćelija i limfocita u sluzokoži uterusa. Ovi tipovi ćelija su bili prisutni u manjoj meri i u miometriju. Endometrijalni epitel je bio hiperplastičan i cističan, sa stubaste ćelijama koji ukazuju na uticaj progesterona. Ciste su često sadržavale velike količine neutrofila. U nekim slučajevima primećen je različit stepen fibroze i/ili erozija u sluzokoži. U gnojnom endometritisu, primećene inflamatorne ćelije su uglavnom bile neutrofili, a ćelijska infiltracija je bila ograničena na endometrijum, dok su kod gnojnog metritisa zapaljenske promene bile prisutne u dubljim slojevima zida materice. Dijagnoza CEH-a je zasnovana na opažanju hiperplazije endometrijuma, u kombinaciji sa cistama različitih veličina, bez inflamatornih promena. Dijagnoza mukometre bazirana je na grubim ili mikroskopskim dokazima sluzi ili serozne tečnosti u materici u kombinaciji sa hiperplastičnim/cističnim ili atrofičnim endometrijumom. Histološkom analizom kontrolne grupe, zid uterusa je pokazao sva normalna svojstva karakterističnu za rasu, odnosno kuju.



Slika 8. Patohistološki preparati piometre kuja (originalne slike)

6. DISKUSIJA

Na osnovu kriterijuma za dijagnostikovanje SIRS (Randels, 2013) ukazuje da najmanje dva parametra moraju biti ispunjeni (Temperatura (°C) manja od 38,1°C ili veća od 39,3°C, broj otkucaja srca preko 120, broj respiracija preko 40 i broj leukocita manji od 6×10^9 ili veći od 16×10^9) U našem radu kuje sa piometrom su ispunjavali ove zahteve u temperaturi (do 12h posle operacije), broju udisaja (do 48h posle operacije) i po broju leukocita (do 24h posle operacije), sa statističkom značajnošću od $p < 0.001$.

Radovi koji ispituju koncentraciju gvožđa u odgovoru na infekcije su retki kod pasa (Konitzer i sar. 1956). Smanjene koncentracije gvožđa najčešće se nalazi kod piometre. Pokazano je da je kod miševa, kojima je supkutano ubrizgano terpentinsko ulje, došlo do zapaljenskog odgovora i kasnije smanjenog cirkulišućeg gvožđa (Nicolas i sar. 2002). U našim istraživanjima značajno niže koncentracije hemoglobina dokazane su kod kuja sa piometrom u poređenju sa zdravim kujama ($p < 0.01$), preoperativno (0 dan) pa sve do 72.h nakon hirurške intervencije. Izmerene koncentracije hemoglobina u kontrolnoj grupi bile su vrlo ujednačene (od $148,30 \pm 5,17$ g/L do $150,60 \pm 5,91$ g/L), dok je kod kuja sa piometrom utvrđen blagi porast koncentracije hemoglobina tokom njihovog oporavka ($120,90 \pm 6,75$ do $132,70 \pm 6,27$). Gvožđe se možda može koristiti kao negativni marker za dijagnozu bolesti povezanih sa zapaljenjskim procesima ili infekcijom, ali je potrebno dalje istraživanje njegove vrednosti kao mogućeg biomarkera.

Smanjene koncentracije glukoze u krvi, može se povezati sa produženom postoperativnom hospitalizacijom i peritonitisom kod pacijenata sa hirurškim lečenjem. Ovo pokazuje da je nizak nivo glukoze u krvi povezan sa visokim rizikom od smrtnosti zbog sepse izazvane *E. coli* (Alamgir i sar. 2006). Iako je u našim istraživanjima *E. coli* izolovana kao uzročnik piometre u 70% uzoraka uterusu, nije utvrđena značajna razlika u koncentraciji glukoze između ispitivanih grupa. Manifestna smanjena koncentracija glukoze u krvi, je bila povezana sa produženom postoperativnom hospitalizacijom i peritonitisom kod pacijenata sa hirurškim liječenjem. Ovo pokazuje da je nizak nivo glukoze u krvi povezan sa visokim rizikom od smrtnosti od sepse izazvane *E. coli* (Alamgir i sar. 2006). Međutim, ove rezultate treba tumačiti sa izvesnim oprezom pošto je u ovoj studiji samo je nekoliko pasa sa hipoglikemijom.

Kod ogleadne grupe primećene su niže vrednosti keatinina u krvi ali bez statističke značajnosti, međutim kod ogleadne grupe primećene su značajno veće vrednosti kreatinina preoperativno u poređenju sa 12.h i 72.h ($p < 0.05$) i 24h ($p < 0.01$). U našem istraživanju primećena je značajno viša koncentracija uree ($p < 0.01$) preoperativno kod kuja sa piometrom u poređenju sa 12.h, 24.h 48.h i 72.h nakon hirurške intervencije. Dalja istraživanja otkrila su patološke promene u bubregu sa glomerulonefritisom kod ljudi i promene na bubrezima koje su bile reverzibilne nakon ovariohisterektomije kod kuja (Asheim, 1965).

U našem istraživanju utvrđena je značajna razlika ($p < 0.01$) u svim ispitivanim vremenima između kontrolne i ogleadne grupe u aktivnosti ALT. Maksimalne vrednosti aktivnosti ALT pre hirurške intervencije kontrolne grupe iznosile su 46 u/L, dok su značajno više aktivnosti od 3,9 puta (180 u/L) zabeležene kod kuja sa piometrom. Povišene aktivnosti ALT kod kuja sa piometrom ukazuju na veći stepen oštećenja hepatocita. Značajno viša aktivnost ALP utvrđena je kod ogleadne grupe kuja u poređenju sa kontrolnom, ovo povećanje bilo je izraženije 0.h i 12. sata na nivou statističke značajnosti od $p < 0.01$, dok je u ostalim

vremenima statistička značajnost iznosila $p < 0.05$. Povećana aktivnost alkalne fosfataze (ALP), bilirubina i holesterola u serumu može ukazivati na intrahepatičnuolestazu, koja se takođe smatra mogućom posledicom endotoksemije (Sato i sar. 2002).

Hipoalbuminemija je uobičajen nalaz kod pasa sa piometrom (Borresen i Skrede, 1980). Albumin se smatra negativnim proteinom akutne faze (Jitpean i sar. 2014), a njegova proizvodnja se smanjuje tokom zapaljenja kao mogući rezultat povećane hepatične proizvodnje pozitivnih APP i drugih inflamatornih komponenti (Liao i sar. 1986; Schreiber i sar. 1982). Jitpean (2014) navodi da se albumin može koristiti kao marker septičnog stanja pasa. Hipoalbuminemija je dokazana u ranijim radovima u 81% slučajeva kuja sa piometrom, što je u skladu sa rezultatima Greiner i saradnika (2008), kao i sa našim rezultatima u kojima je utvrđene značajno niže koncentracije albumina u svim vremenima ispitivanja osim 48.h. Isti autor navodi da je hipoalbuminemija kod kuja sa piometrom posledica infekcije Gram-negativnim bakterijama.

U našem istraživanju koncentracija CRP kontrolne grupe, kod svih vremena bila je ujednačena kod ispitivanih kuja. Najniže koncentracije CRP su ustanovljene 0h i 72h i iznosile su 10,00 mg/L, a najviše dvanaestog sata 14,50 mg/L. Kod ogleadne grupe koncentracije CRP bile su najviše nultog sata i vrednost medijane je iznosila 137,50 mg/L, dok su znatno niže koncentracije ustanovljene sedamdesetdrugog sata i bile su 18,00 mg/L, ukazujući na značajnu tendenciju opadanja koncentracija CRP u ispitivanom vremenskom intervalu za više od sedam puta. Ovo nesumnjivo ukazuje da se CRP može koristiti kao klinički marker sistemskog zapaljenja. Upoređivanjem vremena između kontrole i oglada kod parametra CRP, ustanovljene su statistički značajne razlike između svih ispitivanih vremena ($p < 0,01$). Naša istraživanja su u skladu sa ranijim istraživanjima u kojima su dokazane značajno niže koncentracije CRP kod klinički zdravih pasa u poređenju sa koncentracijama CRP pri inflamatornim stanjima (Caspri i sar. 1984; Caspi i sar. 1987; Yamamoto i sar. 1992; Yamamoto i sar. 1993; Burton i sar. 1994; Yamamoto i sar. 1994; Kuribayashi i sar. 2003, Jitpean, 2014). Naša istraživanja dokazuje da se CRP može koristiti kao marker zapaljenjska stanja niskog stepena, ali i dugotrajnih zapaljenjskih reakcija, kao što je piometra, te da se koncentracija serumskog CRP može koristiti za rutinsku dijagnostičku, prognostičku svrhu, kao i svrhu skrininga piometre kod kuja. Slična istraživanja su dobijena u studiji Fransson i saradnika (2003), koji su ukazali na veliku dijagnostičku osetljivost i specifičnost CRP u kombinaciji sa brojem neutrofila u razlikovanju piometre i endometrijske hiperplazije.

U našem radu, određivane su koncentracije progesterona kako bi se ustanovilo u kojoj fazi polnog ciklusa se kuja nalazi. Sve kuje u kontrolnoj grupi imale su nisku koncentraciju progesterona, dok su kod kuja sa piometrom koncentracije progesterona varirale. Neke kuje sa piometrom imale su relativno niske koncentracije ovog hormona. Razvoj piometre kod kuja sa niskim koncentracijama progesterona može biti posledica povećane osetljivosti njegovih receptora u uterusu ili relativno kasnog dijagnostikovanja bolesti zbog hroničnog toka (Ververidis i sar. 2004). Znatno više koncentracije progesterona (4,89-29,12ng/mL) utvrđene su u našem istraživanju kod kuja sa piometrom, u poređenju sa zdravim, oglednim kujama (0,38-0,58 ng/mL). Uticaj visokih koncentracija progesterona na endometrijum, dokazan je i u našem istraživanju, gde je patohistološki nalaz potvrdio hiperplastičan i cističan endometrijalni epitel, sa stubastim ćelijama, i cistama koje su često sadržavale velike količine neutrofila.

Kod svih kuja u ispitivanim grupama koncentracije AMH bile su merljive, što je u skladu sa rezultatima ranijih ispitivanja kod pasa i mačaka (Axner i Strom Holst 2015; Themmen i sar. 2016; Yilmaz i sar. 2015). Yilmaz i saradnici (2015) su ustanovili da su

srednje koncentracije AMH bile slične kod kuja koje se nisu prethodno parile ($4,26 \pm 0,82$ ng/mL) sa koncentracijama navedenog hormona kod kuja sa sindromom zaostalog jajnika ($4,40 \pm 1,09$ ng/mL), predlažući ovaj hormon kao biomarker u dijagnostici sindroma zaostalog jajnika kuja. U poređenju sa rezultatima Yilmaz i saradnika (2015), u našim istraživanjima su ustanovljene oko sedam puta niže koncentracije AMH, koje su kod kontrolne grupe bile 0,15-0,36 ng/mL, dok su u grupi kuja sa piometrom bile 0,63-1,41 ng/mL. Međutim, isti autor navodi da su koncentracije AMH kod sterilisanih zdravih kuja iznosile $0,28 \pm 0,09$ ng/mL, što je slično rezultatima dobijenim kod kontrolne grupe u našem radu. Značajno više koncentracije AMH utvrđene u našem radu kod kuja sa piometrom, u poređenju sa zdravim kujama, verovatno su posledica razlika u broju folikula preantralnog i antralnog stadijuma, kao i od razlike koncentracija sintetisanog AMH u granulosa ćelijama jajnika. Sa druge strane, folikularne ciste, perzistentni folikuli i drugi hormonski disbalansi jajnika, kao značajan faktor u patogenezi piometre, mogu imati uticaj na koncentraciju AMH. S obzirom da su u našem radu koncentracije AMH bile značajno više kod kuja sa piometrom u poređenju sa zdravim kujama, određivanje koncentracije AMH kod kuja moglo bi poslužiti kao biomarker u dijagnostikovanju ovog oboljenja kuja. Poznato je da se u najvećem broju slučajeva piometra dijagnostikuje u prvih dva meseca nakon estrusa, odnosno, tokom lutealne faze (Dabrowski i sar. 2013; Enginler i sar. 2014; England i von Heimendahl, 2010), što je u skladu sa našim istraživanjima. Naši rezultati ukazuju da su usled zapaljenske reakcije uterusa kod piometre značajno povišene koncentracije AMH ($p < 0,01$). Međutim, u literaturi postoje podaci da su kod nekih zapaljenskih bolesti, kao što je Kronova bolest žena, serumske koncentracije AMH niže u odnosu na zdrave žene (Şenates i sar. 2013). Veća koncentracija AMH kod kuja sa piometrom bi na taj način ukazala na aberantnu folikularnu dinamiku kod kuja sa piometrom, što bi doprinelo boljem uspostavljanju diagnoze bolesti. Kod ovariohisterektomisanih kuja koncentracije AHM su jako niske i iznose ispod 0,01 ng/mL (Flock, 2022) što je u skladu sa našim rezultatima gde su utvrđene niske koncentracije ovog hormona.

Dijagnoza piometre kod kuja potvrđena je bakteriološkom izolacijom i identifikacijom uzročnika, kako bi ovo oboljenje razlikovali od drugih oboljenja materice, kao što su hemometra i mukometra. Visoke koncentracije estradiola tokom estrusa, koje prate visoke koncentracije progesterona u naredna dva meseca, dovode do promena endometrijuma, koje uključuju povećanu sekreciju u lumen uterusa, smanjenu mišićnu kontrakciju i inhibiciju leukocita, omogućavajući tako dobru podlogu za rast mikroorganizama (Smith, 2006). Ovo istraživanje je u skladu sa rezultatima dobijenim u našem , gde je kod svih kuja sa piometrom izolovana mikroflora iz uterusa, za razliku od kontrolne grupe kod koje nije izolovana mikroflora. U našem radu su svih 20 uzoraka grupe kuja, kod kojih je dijagnostikovana piometra, utvrđeno prisustvo mikroorganizama, i to *E. coli* u 70%, po 10% *Streptococcus* spp. i *Klebsiella* spp. i po 5% *Pseudomonas* spp. i *Staphylococcus* spp. pojedinačno, a slične rezultate dobili su Enginler (2014) i Sant Anna (2014). U većini slučajeva piometre (70-90%), *E. coli* je izolovana iz uterusa kuja kao uzročnik ovog oboljenja (Hagman i Greko, 2005, Jitpean i sar. 2014). U ranijim radovima, Sandholm i saradnici (1975), ustanovili su da se *E. coli* vezuje za receptore u endometrijumu koji je stimulisan progesteronom, što bi moglo biti jedno od objašnjenja za uočenu dominaciju ove bakterije. Enginler i saradnici (2014) u svom radu navode da ne moraju uvek biti izolovani mikroorganizmi iz uterusa kod piometre kuja. U našem radu piometra je potvrđena patohistološkim pregledom kod svih 20 kuja nakon ovariohisterektomije. Svi izolati *E. coli* u našem radu su bili 100% osetljivi na sve ispitivane antibiotike (ampicilin, cefaleksin, amoksicilin/klavulanska, cefotaksin, kolistin, trimetoprim/sulfonamidi, gentamicin, neomicin, tetraciklini, enrofloksacin, nitrofurantoin). Slične rezultate dobio je Roy i saradnici (2009), gde je u 98 (41,8%) sojeva bila izolovana

Escherichia coli koja je 100% osetljivi na gentamicin, hloramfenikol, cefiksim, a nešto manje na amikacin (95%) i ciprofloksacin (90%) u ispitivanju *in vitro*. Roy i saradnici (2009) ispitali su 234 genitalnih briseva kuja sa piometrom gde je u 98 (41,8%) sojeva bila izolovana *Escherichia coli* i ispitivani uzorci su bili 100% osetljivi na gentamicin, hloramfenikol, cefiksim. Maity i saradnici (2009) su u svom radu utvrdili da je *Staphylococcus* spp. bio dominantan u 44,19% uzoraka od 43 slučaja piometre kuja, pregledanih u veterinarskim ambulantomama. Svi izolati su bili osetljivi na enrofloksacin, ciprofloksacin, gentamicin i ceftriakson, ali su bili otporni na linkomicin i oksitetraciklin. U našem radu jedan izolat *S. intermedius* bio je rezistentan na penicilin, dok je drugi izolat istog mikroorganizma rezistentan na penicilin, cefalotin i eritromicin.

7. ZAKLJUČCI

1. Kao najčešći uzročnici piometre u našim istraživanjima izolovani su kod 80% kuja *Escherichia coli* i kod 20% *Staphylococcus intermedius*.
2. Kuje sa piometrom u našem istraživanju ispunjavale su dva kriterijuma za dijagnostikovanje SIRS, odnosno povišenu temperaturu do 24 sata i povećan broj leukocita do 48 sata posle ovariohisterektomije.
3. Dobijeni rezultati naših istraživanja, u kojima je utvrđena viša koncentracija AMH kod kuja sa piometrom, ukazuje na aberantnu folikularnu dinamiku. Određivanje koncentracije ovog hormona omogućava precizniju dijagnozu piometre, kao i mogućnosti upotrebe AMH kao biomarkera ovog oboljenja.
4. Inflamacija endometrijuma kod kuja sa piometrom dovodi do značajnog povećanja koncentracije CRP u toku ispitivanog vremena, ukazujući na visoku dijagnostičku specifičnost ovog proteina akutne faze u praćenju postoperativnog toka.
5. Albumin se smatra negativnim proteinom akutne faze čija se sinteza smanjuje tokom zapaljenja, što je u skladu sa našim rezultatima u kojima je utvrđena hipoalbuminemija kod kuja sa piometrom u svim ispitivanim vremenima, osim 48.h nakon hirurške intervencije.
6. Povećana aktivnost alkalne fosfataze (ALP), povišene koncentracije bilirubina i holesterola u serumu, ukazuju na intrahepatičnuolestazu, kao posledicu endotoksemije. Značajno viša aktivnost ALP utvrđena je u svim ispitivanim vremenima kod ogledne grupe kuja u poređenju sa kontrolnom, i ovo povećanje može ukazati na SIRS kao posledicu endotoksemije.
7. U našem istraživanju utvrđena je značajna razlika u aktivnosti alanin transaminaze (ALT) u svim ispitivanim vremenima između kontrolne i ogledne grupe. Aktivnosti ALT pre hirurške intervencije kontrolne grupe iznosile su 46 u/L, dok su značajno više aktivnosti od 3,9 puta (180 u/L) zabeležene kod ogledne grupe, i ovi rezultati ukazuju na veći stepen oštećenja hepatocita kod kuja sa piometrom.
8. Svi izolati *E. coli* bili su osetljivi na ispitivane antimikrobne preparate (ampicilin, cefaleksin, amoksicilin/klavulanska kiselina, cefotaksin, kolistin, trimetoprim/sulfonamidi, gentamicin, neomicin, tetraciklini, enrofloksacin, nitrofurantoin), dok je jedan izolat *S. intermedius* bio je rezistentan na penicilin, a drugi izolat bio rezistentan na penicilin, cefalotin i eritromicin. Naši rezultati omogućavaju odgovarajući odabir antimikrobnog preparata u postoperativnom toku pacijenta.

8. LITERATURA

- Abernethy TJ, Avery OT. 1941. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. Distribution of the reactive protein in patients' sera and the effect of calcium on the flocculation reaction with c polysaccharide of pneumococcus. *Journal of Experimental Medicine*, 31;73(2):173-82.
- Adamovich-Rippe KN, Mayhew PD, Runge JJ, Culp WT, Steffey MA, Mayhew KN, Hunt GB. 2013. Evaluation of laparoscopic-assisted ovariohysterectomy for treatment of canine pyometra. *Veterinary Surgery*. 42(5):572-8.
- Andersson M, Stenström M, Vatne M, Sevelius E, Jönsson L. 1998. Disease-related variations of the glycosylation of haptoglobin in the dog. *Journal of Comparative Pathology* 119(3):227-38.
- Afessa B, Greaves WL, Frederick, WR. 1995. Pneumococcal bacteremia in adults- a 14-year experience in an inner-city university hospital. *Clinical Infectious Diseases*, 21(2), 345-351.
- Afessa B, Green B, Delke I, Koch K. 2001. Systemic inflammatory response syndrome, organ failure, and outcome in critically ill obstetric patients treated in an ICU. *Chest*, 120(4), pp. 1271-1277.
- Axnér E, Ström Holst B. 2015. Concentrations of anti-Müllerian hormone in the domestic cat. Relation with spay or neuter status and serum estradiol. *Theriogenology*, 83(5), 817-821.
- Akihara Y, Shimoyama Y, Kawasaki K, Komine M, Hirayama K, Kagawa Y, Omachi T, Matsuda K, Okamoto M, Kadosawa T, Taniyama H. 2007. Immunohistochemical evaluation of canine ovarian cysts. *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science*, 69(10), 1033-7.
- Akiyoshi H, Aoki M, Shimada T, Noda K, Kumagai D, Saleh N, Sugii S, Ohashi F. 2005. Measurement of plasma chromogranin A concentrations for assessment of stress responses in dogs with insulin-induced hypoglycemia. *American Journal of Veterinary Research*, 66(10), 1830-1835.
- Alamgir S, Volkova NB, Peterson MW. 2006. Prognostic value of low blood glucose at the presentation of *E. coli* bacteremia. *American Journal of Medicine*, 119(11), 952-957.
- Alanis AJ. (2005). Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? *Archives of Medical Research*, 36(6), 697-705.
- Anderson E, Soder J, Hoglund K, Wernersson S, Holst BS. 2015. Testosterone and anti-Müllerian-hormone (AMH) in lead and overweight male Labrador Retrievers, *Acta Scandinavica* 57, 1, 1.
- Anderson KL, Lyman RL, Bodeis Jones SM, White D. G. 2006. Genetic diversity and antimicrobial susceptibility profiles among mastitis-causing *Staphylococcus aureus* isolated from bovine milk samples. *American Journal of Veterinary Research*, 67: 1185.
- Anderson CH, McCarty M. 1950. Determination of C-reactive protein in the blood as a measure of the activity of the disease process in acute rheumatic fever, *The American Journal of Medicine*, 8(4):445-55.
- Angelone T, Mazza R, Cerra MC. 2012. Chromogranin-A: a Multifaceted Cardiovascular Role in Health and Disease. *Current Medicinal Chemistry*, 19(24), 4042-4050.
- Ano H, Hidaka Y, Katamoto H. 2014. Evaluation of anti-Müllerian hormone in a dog with a Sertoli cell tumour. *Veterinary Dermatology*. 25, 2, 142-5.

- Arnold S, Arnold P, Hubler M, Casal M, Rusch P. 1989. Urinary incontinence in spayed bitches-prevalence and breed disposition. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde*, 131(5), 259-263.
- Arnold S, Hubler M, Casal M, Fairburn A, Baumann D, Flueckiger M, Ruesch P. 1988. Use of low-dose prostaglandin for the treatment of canine pyometra. *Journal of Small Animal Practice*, 29(5), 303-308.
- Arora N, Sandford J, Browning GF, Sandy JR, Wright PJ. 2006. A model for cystic endometrial hyperplasia/pyometra complex in the bitch. *Theriogenology*, 66: 1530-1536.
- Asheim A. 1964. Renal function in dogs with pyometra- uterine infection and pathogenesis of renal dysfunction. *Acta Pathologica Et Microbiologica Scandinavica*, 60(1), 99-107.
- Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, Oates JA, Peck CC, Schooley RT, Spilker BA, Woodcock J, Zeger SL. Biomarkers Definitions Working, G. 2001. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 69(3), 89-95.
- Austad SN. 2006. Why women live longer than men: sex differences in longevity. *Gender medicine*, 3(2), 79-92.
- Austad R, Blom AK, Børresen B. 1979, Pyometra in the dog. III.--A pathophysiological investigation. III. Plasma progesterone levels and ovarian morphology. *Nord Vet Med*. 31(6):258-62.
- Axnér E, Ström Holst B. 2015. Concentrations of anti-Müllerian hormone in the domestic cat. Relation with spay or neuter status and serum estradiol. *Theriogenology*, 15;83(5):817-21.
- Banks P, Helle K. 1965. The release of protein from the stimulated adrenal medulla. *Biochemical Journal*. 97(3), 40-41.
- Bartolomucci A, Possenti R, Mahata SK, Fischer-Colbrie R, Loh YP, Salton SRJ. 2011. The Extended Granin Family: structure, function, and biomedical implications. *Endocrine Reviews*. 32(6), 755-797.
- Bartoskova A, Vitasek R, Leva L, Faldyna M. 2007. Hysterectomy leads to fast improvement of haematological and immunological parameters in bitches with pyometra. *Journal of Small Animal Practice*. 48(10), 564-568.
- Bassessar V, Verma Y, Swamy M. 2013. AntibioGram of bacterial species isolated from canine pyometra, *Veterinary World*, 6 (2013), 546-549.
- Baltz ML, de Beer FC, Feinstein A, Munn EA, Milstein CP, Fletcher TC, March JF, Taylor J, Bruton C, Clamp JR, Davies AJ, Pepys MB. 1982. Phylogenetic aspects of C-reactive protein and related proteins. *Annals of the New York Academy of Sciences journal*. 389:49-75.
- Baumann H, Gauldie J. 1994. The acute phase response, *Immunol Today* 15(2):74-80.
- Belsito KR, Vester BM, Keel T, Graves TK, Swanson KS. 2009. Impact of ovariohysterectomy and food intake on body composition, physical activity, and adipose gene expression in cats. *Journal of Animal Science*, 87(2), 594-602.
- Bigliardi E, Parmigiani E, Cavirani S, Luppi A, Bonati L, Corradi A. 2004. Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Reproduction in Domestic Animals*. 39(3), 136-140.
- Bigoszewski M, Ryuchlik A, Depta A. 2001. Acute phase proteins in domestic animals. *Medycyna Weterynaryjna*. 57(3), 151-155.

- Bishop MW. 1972. Genetically determined abnormalities of the reproductive system. *Journal of Reproduction and Fertility*. 15, 51-78.
- Biswas N, Curello E, O'Connor DT, Mahata SK. 2010. Chromogranin/secretogranin proteins in murine heart: myocardial production of chromogranin A fragment catestatin (Chga(364-384)). *Cell and Tissue Research*. 342(3), 353-361.
- Blackshaw JK, Day C. 1994. Attitudes of dog owners to neutering pets: demographic data and effects of owner attitudes. *Australian Veterinary Journal*. 71(4), 113-6.
- Blanco J, Muriel-Bombin A, Sagredo V, Taboada F, Gandia F, Tamayo L, Collado J, Garcia-Labattut A, Carriedo D, Valledor M, De Frutos, Bloos F, Thomas-Ruddel D, Rueddel H, Engel C, Schwarzkopf D, Marshall JC, Harbarth S, Simon P, Riessen R, Keh D, Dey K, Weiss M, Toussaint S, Schaedler D, Weyland A, Ragaller M, Schwarzkopf K, Eiche J, Kuhnle G, Hoyer H, Hartog C, Kaisers U, Reinhart K, Grp MS. 2014. Impact of compliance with infection management guidelines on outcome in patients with severe sepsis: a prospective observational multi-center study. *Critical Care*, 18(2), 10.
- Brady CA, Otto CM. 2001. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and multiple organ dysfunction, *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 31(6):1147-62, V-VI.
- Broer SL, Broekmans FJ, Laven JS, Fauser BC. 2014. Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications, *Human Reproduction Update*. 20(5):688-701.
- Bowen RA, Olson PN, Behrendt MD, Wheeler SL, Husted PW, Nett TM. 1985. Efficacy and toxicity of estrogens commonly used to terminate canine pregnancy, *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15;186(8):783-8.
- Bohicchio GV, Baquero F, Hsueh PR, Paterson DL, Rossi F, Snyder TA, McCarroll K, Sathishchandran V, Dinubile MJ, Chow JW. 2006. In vitro susceptibilities of *Escherichia coli* isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide in 2002-2004: results from SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends). *Surgical Infections*. 7(6):537-45.
- Bone RC. 1992. Toward an epidemiology and natural-history of SIRS (systemic inflammatory response syndrome). *Journal of the American Medical Association*. 268(24), 3452-3455.
- Bonnett BN, Egenvall A. 2010. Age patterns of disease and death in insured Swedish dogs, cats and horses. *Journal of Comparative Pathology*, 142 Suppl 1, S33-8.
- Borras C, Sastre J, Garcia-Sala D, Lloret A, Pallardo FV, Vina J. 2003. Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene expression and lower oxidative damage than males. *Free Radical Biology and Medicine*. 34(5), 546-552.
- Borresen B, Skrede S. 1980. Pyometra in the dog- a pathophysiological investigation V. The presence of intrahepatic cholestasis and an "acute phase reaction.". *Nordisk Veterinaer Medicin*. 32(9), 378-86.
- Borresen B. (1979). Pyometra in the dog- a pathophysiological investigation. II. Anamnestic, clinical and reproductive aspects. *Nordisk Veterinaer Medicin*. 31(6), 251-7.
- Borresen B. (1980). Pyometra in the dog- a pathophysiological investigation. IV. Functional derangement of extra-genital organs. *Nordisk Veterinaer Medicin*. 32(6), 255-268.
- Borresen B, Naess B. 1977. Microbial immunological and toxicological aspects of canine pyometra. *Acta Vet Scand.*, 18(4):569-71.

- Bossink AW, Groeneveld J, Hack CE, Thijs LG. 1998. Prediction of mortality in febrile medical patients: How useful are systemic inflammatory response syndrome and sepsis criteria? *Chest*. 113(6):1533-41.
- Brunkhorst FM, Wegscheider K, Forycki ZF, Brunkhorst R. 2000. Procalcitonin for early diagnosis and differentiation of SIRS, sepsis, severe sepsis, and septic shock. *Intensive Care Medicine*, 26, S148-S152.
- Broekmans FJ, Visser JA, Laven JS, Broer SL, Themmen AP, Fauser BC. 2008. Anti-Müllerian hormone and ovarian dysfunction. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 19(9):340-7.
- Burton SA, Honor DJ, Mackenzie AL. 1994. C-Reactive protein concentrations in dogs with inflammatory leukograms. *American Journal of Veterinary Research*. 55:613–618
- Buter A, Imrie CW, Carter CR, Evans S, McKay CJ. 2002. Dynamic nature of early organ dysfunction determines outcome in acute pancreatitis. *British Journal of Surgery*. 89(3):298-302.
- Capiau E, De Schepper J, Van der Stock J. 1987. Renal failure and serum enzymes in 127 dogs with pyometra. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. 56: 214-220.
- Caspi D, Snel FW, Batt RM, Bennett D, Rutteman GR, Hartman EG, Baltz ML, Gruys E, Pepys MB. 1987. C-reactive protein in dogs. *American Journal of Veterinary Research*. 48(6):919-21.
- Caspi D, Baltz ML, Snel F, Gruys E, Niv D, Batt RM, Munn EA, Buttress N, Pepys MB. 1984. Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog. *Immunology*. 53(2):307-13.
- Ceconi C, Ferrari R, Bachetti T, Opasich C, Volterrani M, Colombo B, Parrinello G, Corti A. 2002. Chromogranin A in heart failure – a novel neurohumoral factor and a predictor for mortality. *European Heart Journal*. 23(12), 967-974.
- Ceron JJ, Eckersall D, Martinez-Subiela S. 2005. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*. 34(2), 85-99.
- Chan DL, Rozanski EA, Freeman LM. 2009. Relationship among plasma amino acids, C-reactive protein, illness severity, and outcome in critically ill dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 23(3), 559-563.
- Cho WCS, Yip TT, Cheng WW, Au JSK. 2010. Serum amyloid A is elevated in the serum of lung cancer patients with poor prognosis. *British Journal of Cancer*. 102(12), 1731-1735.
- Christensen BM, Langhorn R, Goddard A, Andreasen BE, Moldal E, Tvarijonavičiute A, Kirpensteijn J, Jakobsen S, Persson F, Kjelgaard-Hansen M. 2013. Canine serum amyloid A (SAA) measured by automated latex agglutination turbidimetry is useful for routine sensitive and specific detection of systemic inflammation in a general clinical setting. *Journal of Veterinary Medical Science*. 75(4), 459-66.
- Christensen BM, Langhorn R, Goddard A, Andreasen BE, Tvarijonavičiute A, Kirpensteijn J, Jakobsen S, Persson F, Kjelgaard-Hansen M. 2014. Comparison of diagnostic markers of systemic inflammation in dogs. *Canadian Veterinary Journal*. 55(2), 161-8.
- Crutchley MJ, Marsh DG, Cameron J. 1967. Free Endotoxin. *Nature*. 3;214(5092):1052.
- Chaffaux S, Thibier M. 1978. Peripheral plasma concentrations of progesterone in the bitch with pyometra. *Annales de recherches vétérinaires*. 9(3):587-92.

- Claeys R, Vinken S, Spapen H, Elst KV, Decochez K, Huyghens L, Gorus FK. 2002. Plasma procalcitonin and C-reactive protein in acutesepptic shock: clinical and biological correlates. *Critical Care Medicine*. 30(4), 757-762.
- Concannon PW. 2011. Reproductive Cycles of the Domestic Bitch. *Animal Reproduction Science*, 124, 200-210.
- Concannon PW, Gimpel T, Newton L, Castracane VD.1996, Postimplantation increase in plasma fibrinogen concentration with increase in relaxin concentration in pregnant dogs. *Am J Vet Res*. 57(9):1382-5.
- Conner JG, Eckersall PD, Ferguson J, Douglas TA. 1988. Acute phase response in the dog following surgical trauma. *Research in Veterinary Science*. 45, 1, 107-110.
- Conti-Patara A, Caldeira J.d.A, de Mattos-Junior E, de Carvalho HdS, Reinoldes A, Pedron BG, Patara M, Francisco Talib MS, Faustino M, de Oliveira CM, Gaido Cortopassi SR. 2012. Changes in tissueperfusion parameters in dogs with severe sepsis/septic shock in responseto goal-directed hemodynamic optimization at admission to ICU and therelation to outcome. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 22(4), 409-418.
- Cooley DM, Beranek BC, Schlittler DL, Glickman NW, Glickman LT, Waters DJ. 2002. Endogenous gonadal hormone exposure and bonesarcoma risk. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : apublication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 11(11), 1434-40.
- Corrada Y, Arias D, Rodriguez R, Tortora M, Gobello C. 2006. Combination dopamine agonist and prostaglandin agonist treatment ofcystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Theriogenology*. 66(6-7), 1557-1559.
- Cox CE. 1970. Gentamicin. *Medical Clinics of North America*. 54(5):1305-15.
- Dabrowski R, Waeron W, Kostko K. 2008. Changes in CRP, SAA and Haptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healty bitches and those with pyometra. *Theriogenology*. 67, 321-327.
- Dabrowski R, Kostko K Szcubial M. 2013. Concentration of C-reactive protein, Serum Amyloid A and Haptoglobin in Uterine Arterial and Peripheral Blood in Biches with Pyometra. *Theriogenology*, 80, 494-497.
- Dabrowski R, Szcubial M, Kostko K, Wawron W, Ceron J, Tvarijonaviciute A. 2015. Serum insulin-like growth factor-1 and C-reactive protein concentration before and after ovariohysterectomy in bitches with pyometra. *Theriogenology*. 83,474-477.
- Dabrowski R, Wawron W, Kostko K. 2007. Changes in CRP, SAA andhaptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healthybitches and those with pyometra. *Theriogenology*. 67(2), 321-327.
- Dandona P, Nix D, Wilson MF, Aljada A, Love J, Assicot M, Bohuon C. 1994. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normalsubjects. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 79(6), 1605-1608.
- De Bosschere H, Ducatelle R, Tshamala M. 2002. Is mechanically inducedcystic endometrial hyperplasia (CEH) a suitable model for study ofspontaneously occurring CEH in the uterus of the bitch? *Reproduction in Domestic Animals*. 37(3), 152-157.
- De Bosschere H, Ducatelle R, Vermeirsch H, Van den Broeck W, Coryn M. 2001. Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch:should the two entities be disconnected. *Theriogenology*. 55(7), 1509-1519.

- De Bosschere, Ducatelle, & Tshamala. 2003. Uropathogenic virulence factors in isolates of *Escherichia Coli* from clinical cases of canine pyometra and feces of healthy bitches. *Veterinary Microbiology*, 94: 57-69.
- De Cramer KGM. 2010. Surgical uterine drainage and lavage as treatment for canine pyometra. *Journal of the South African Veterinary Association-Tydskrif Van Die Suid-Afrikaanse Veterinere Vereniging*. 81(3), 172-177.
- Deitch EA, Goodman ER. 1999. Prevention of multiple organ failure, *Surgical Clinics of North America*. 79(6):1471-88.
- De Schepper J, De Cock I, Capiou E. 1989. Urinary gamma-glutamyl transferase and the degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. *Research veterinary science* 46: 396-400.
- De Schepper J, Van der Stock J, Capiou E. 1986. The morphological and biochemical blood profile in different forms of endometritis post oestrus (pyometra) in the dog. A study of 96 cases. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. 55:153-162
- De Schepper J, Van der Stock J, Capiou E. 1987a. The characteristic pattern of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase in the bitch with the cystic hyperplasia-pyometra complex: effect of medical or surgical treatment. *Veterinary research communications*. 11: 65-75.
- De Schepper J, Vanderstock J, Capiou E. 1987b. Anemia and Leukocytosis in 112 Dogs with Pyometra. *Journal of Small Animal Practice*. 28(2), 137-145.
- De Schepper J, Vanderstock J, Capiou E, Decock I. 1987c. Renal Injury in Dogs with Pyometra. *Tijdschrift Voor Diergeneeskunde*. 112, 124-126.
- Deysine M, Stein S. 1980. Albumin shifts across the extracellular-space secondary to experimental infections. *Surgery Gynecology & Obstetrics*. 151(5), 617-620.
- Dhaliwal G K, Wray C, Noakes DE. 1998. Uterine bacterial flora and uterine lesions in bitches with cystic endometrial hyperplasia (pyometra). *Veterinary Record*, 143: 659-661.
- Dickinson JD, Kollef MH. 2011. Early and adequate antibiotic therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *Current Infectious Disease Reports*, 13(5), 399-405.
- Dillman RC, Coles EH. 1966. A canine serum fraction analogous to human C-reactive protein, *American Journal of Veterinary Research*. 27(121):1769-75.
- Dinarello CA. 1997. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines as mediators in the pathogenesis of septic shock. *Chest*. 112 (6 Suppl):321S-329S.
- Dow C. 1957. The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Veterinary Record*, 69, 1409-1415.
- Dow C. 1959. Experimental reproduction of the cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Journal of Pathology and Bacteriology*. 78(1), 267-78.
- Eckersall PD, Bell R. 2010. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Veterinary Journal*, 185(1), 23-27.
- Egenvall A, Bonnett BN, Ohagen P, Olson P, Hedhammar A, von Euler H. 2005. Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002. *Preventive Veterinary Medicine*. 69(1-2), 109-127.
- Egenvall A, Bonnett BN, Olson P, Hedhammar A. 2000a. Gender, age and breed pattern of diagnoses for veterinary care in insured dogs in Sweden during 1996. *Veterinary Record*, 146(19), 551-7.

- Egenvall A, Bonnett BN, Shoukri M, Olson P, Hedhammar A, Dohoo I. 2000b. Age pattern of mortality in eight breeds of insured dogs in Sweden. *Preventive Veterinary Medicine*, 46(1), 1-14.
- Egenvall A, Hagman R, Bonnett BN, Hedhammar A, Olson P, Lagerstedt AS. 2001. Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 15(6), 530-8.
- Egenvall A, Hedhammar A, Bonnett BN, Olson P. (1999). Survey of the Swedish dog population: age, gender, breed, location and enrolment in animal insurance. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 40(3), 231-240.
- Eckersall PD, Harvey MJ, Ferguson JM, Renton JP, Nickson DA, Boyd JS. 1993. Acute phase proteins in canine pregnancy (*Canis familiaris*). *Journal of reproduction and fertility, Suppl.* 47:159-64.
- Eckersall PD, Conner JG. 1988. Bovine and canine acute phase proteins. *Veterinary Research Communications*. 12(2-3):169-78.
- Eigenmann JE, Amador A, Patterson DF. 1988. Insulin-like growth factor-I levels in proportionate dogs, chondrodystrophic dogs and in giant dogs. *Acta Endocrinologica*, 118(1), 105-108.
- Eigenmann JE, Eigenmann RY, Rijnberk A, Vandergaag I, Zapf J, Froesch ER. 1983. Progesterone-controlled growth-hormone overproduction and naturally-occurring canine diabetes and acromegaly. *Acta Endocrinologica*. 104(2), 167-176.
- Enginler SO, Ates A, Sigirci DB, Sontas BH, Sonmez K, Karacam E, Ekici H, Evkuran Dal G, Gurel A. 2014. Measurement of C-reactive protein and Prostaglandin F_{2α} Metabolite Concentrations in Differentiation of Canine pyometra and Cystic Endometrial Hyperplasia. *Reproduction in Domestic Animals*, 49, 641-647.
- England G, Russo M, Freeman SL. 2009. Follicular dynamics, ovulation and conception rates in bitches. *Reproduction in Domestic Animals*. 44(2), 53–58.
- England G, Von Heimendahl A. 2010. *BSAVA manual of canine and feline reproduction and neonatology* (2nd ed.). Wiley. Chapter 1, 6, 18 and 19.
- Fall T, Hamlin HH, Hedhammar A, Kampe O, Egenvall A. 2007. Diabetes mellitus in a population of 180,000 insured dogs: incidence, survival, and breed distribution. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(6), 1209-1216.
- Faldyna M, Laznicka A, Toman M. 2001. Immunosuppression in bitches with pyometra. *Journal of Small Animal Practice*. 42(1):5-10.
- Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Frydman N, Frydman R, Taieb J. 2003. Serum anti-Müllerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation. *Human Reproduction*. 18(2):328-32.
- Flock U, Stine Fischer U, Weeger J, Reese S, Walter B. 2022. Anti-Müllerian hormone as a diagnostic tool to identify queens with ovarian remnant syndrome, *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 24(8): 168–174.
- Feldman FC, Nelson RW. 2004. *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*. Elsevier Health Sciences, Saunders, third edition.
- Fieni F. 2006. Clinical evaluation of the use of aglepristone, with or without cloprostenol, to treat cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in bitches. *Theriogenology*. 66(6-7), 1550-1556.
- Fox ES, Thomas P, Broitman SA. 1990. Hepatic mechanisms for clearance and detoxification of bacterial endotoxins. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 1, 620–628.

- Foushee JA, Hope NH, Grace EE. 2012. Applying biomarkers to clinical practice: a guide for utilizing procalcitonin assays. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 67(11), 2560-2569.
- Fransson B, Lagerstedt AS, Hellmen E, Jonsson P. 1997. Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases. *Journal of veterinary medicine series A*. 44: 417-426.
- Fransson BA, Karlstam E, Bergstrom A, Lagerstedt AS, Park JS, Evans MA, Ragle CA. 2004. C-reactive protein can aid in the differentiation of pyometra from cystic endometrial hyperplasia in dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 40(5):391-9.
- Fransson BA, Lagerstedt AS, Bergstrom A, Hagman R, Park JS, Chew BP, Evans MA, Ragle CA. 2003. Systemic inflammatory response in canine pyometra. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala.
- Fransson B, Lagerstedt AS, Hellmen E, Jonsson P. 1997. Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases. *Journal of Veterinary Medicine Series a-Physiology Pathology Clinical Medicine*, 44(7), 417-426.
- Fransson BA, Lagerstedt AS, Bergstrom A, Hagman R, Park JS, Chewm BP, Evans MA, Ragle CA. 2007. C-reactive protein, tumor necrosis factor alpha, and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 17(4), 373-381.
- Freudenberg MA, Galanos C. 1988, The metabolic fate of endotoxins. *Prog Clin Biol Res*. 272:63-75.
- Gabor G, Siver L, Szenci O. 1999. Intravaginal prostaglandin F2 alpha for the treatment of metritis and pyometra in the bitch. *Acta Veterinaria Hungarica*. 47(1), 103-8.
- Galezowski A, Snead ECR, Kidney BA, Jackson ML. 2010. C-reactive protein as a prognostic indicator in dog with acute abdomen syndrome. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 22, 395-401.
- Gbeenberg GR, Ashenbrucke, H, Lauritsen M, Wort, W, Humphreys SR, Wintrobe MM. 1947. The anemia of infection. V. Fate of injected radioactive iron in the presence of inflammation. *Journal of Clinical Investigation*. 26, 121-125.
- Gebhardt C, Hirschberger J, Rau S, Arndt G, Krainer K, Schweigert FJ, Brunnberg L, Kaspers B, Kohn B. 2009. Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 19(5), 450-458.
- German AJ. 2006. The growing problem of obesity in dogs and cats. *Journal of Nutrition*, 136(7), 1940S-1946S.
- Gigli I, Cushman RA, Wahl CM, Fortune JE. 2005. Evidence for a role for anti-Mullerian hormone in the suppression of follicle activation in mouse ovaries and bovine ovarian cortex grafted beneath the chick chorioallantoic membrane. *Molecular Reproduction and Development*, 71(4):480-8.
- Gogos CA, Giali S, Paliogianni F, Dimitracopoulos G, Bassaris HP, Vagenakis AG. 2001. Interleukin-6 and C-reactive protein as early markers of sepsis in patients with diabetic ketoacidosis or hyperosmosis. *Diabetologia*. 44(8):1011-4.
- Grindlay M, Renton J P, Ramsay D H. 1973. O-groups of *Escherichia coli* associated with canine pyometra. *Research in Veterinary Science*. 14(1):75-7.

- Gharagozlou F, Youssefi R, Akbrinejad V, Mohammadkhani NI, shahpoorzadeh T. 2014. Anti- Mullerian hormone: A potential biomarker for differential diagnosis of cryptorchidism in dog. *The Veterinary Record*- 175, 460.
- Granowitz EV, Porat R, Mier JW, Orencole SF, Kaplanski G, Lynch EA, Ye K, Vannier E, Wolff SM, Dinarello CA. 1993. Intravenous endotoxin suppresses the cytokine response of peripheral blood mononuclear cells of healthy humans, *The Journal of Immunology*. 1;151(3):1637-45.
- Gobello C, Castex G, Klima L, Rodriguez R, Corrada Y. 2003. A study of two protocols combining aglepristone and cloprostenol to treat open cervix pyometra in the bitch. *Theriogenology*. 60(5), 901-908.
- Gobello C, de la Sota RL, Goya RG. 2001. A review of canine pseudocyesis. *Reproduction of domestic animals*. 36: 283-288.
- Greer KA, Hughes LM, Masternak MM. 2011. Connecting serum IGF-1, body size, and age in the domestic dog. *Age and Ageing*. 33(3), 475-483.
- Greiner M, Wolf G, Hartmann K. 2008. A retrospective study of the clinical presentation of 140 dogs and 39 cats with bacteraemia. *Journal of Small Animal Practice*. 49(8), 378-383.
- Gultiken N, Yarim M, Yarim GF, Gacar A, Mason JI. 2016. Expression of 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase in ovarian and uterine tissue during diestrus and open cervix cystic endometrial hyperplasia-pyometra in the bitch. *Theriogenology*. 86: 572-578. 17
- Hagman R. 2022. Pyometra in Small Animals. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*: 52, 631–657
- Hagman R, Lagerstedt AS, Heghammar A, Engvall A. 2011. A Breed-matched Case-control Study of potential Risk- factors for canine Pyometra. *Theriogenology*. 75, 1251-1257.
- Hagman R, Greko C. 2005. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from bitches with pyometra and from urine samples from other dogs. *Veterinary Record*. 157(7), 193-6.
- Hagman R. 2012. Clinical and Molecular Characteristics of Pyometra in Female Dogs. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 323-325.
- Hagman R, Karlstam E, Persson S, Kindahl H. 2009a. Plasma PGF (2alpha) metabolite levels in cats with uterine disease. *Theriogenology*, 72(9), pp. 1180-1187.
- Hagman R, Kindahl H, Lagerstedt AS. 2006. Pyometra in bitches induces endotoxaemia and increased levels of Prostaglandin F2 α metabolite. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 47, 55-68.
- Hagman R, Kindahl H, Fransson BA, Bergström A, Ström Holst B, Lagerstedt AS. 2005. Differentiation between pyometra and cystic endometrial hyperplasia in bitches by prostaglandin F2 α metabolite analysis. *Theriogenology*. 66 (2006) 198-206.
- Hagman R, Kühn I. 2002. *Escherichia coli* strains isolated from the uterus and urinary bladder of bitches suffering from pyometra; comparison by restriction enzyme digestion and pulsed-field gel electrophoresis. *Veterinary Microbiology*. 84: 143-153.
- Hagman R, Lagerstedt AS, Fransson BA, Bergstrom A, Haggstrom J. 2007. Cardiac troponin I levels in canine pyometra. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 49, 6.
- Hadley ME, Hruby VJ, Bower A. 1975. Cellular mechanisms controlling melanophore stimulating hormone (MSH) release. *General and Comparative Endocrinology*. 26(1):24-35.

- Hansson LO. 1996. C-reactive protein in clinical practice with special regard to infectious disease. Diss.: Karolinska Institute, Karolinska Hospital, Doctoral Theses, Stockholm.
- Harbarth S, Holeckova K, Froidevaux C, Pittet, D Ricou B, Grau G E, Vadas L, Pugin J. 2001. Diagnostic value of procalcitonin, interleukin-6, and interleukin-8 in critically ill patients admitted with suspected sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1;164(3):396-402.
- Hardie EM, Kruse-Eliot K. 1990. Endotoxic shock, part I, a review of causes. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 4, 258-266.
- Hardie JJ. 1995. Infection control. *Canadian Dental Association*. 61(10):824.
- Hart BL. 2001. Effect of gonadectomy on subsequent development of age-related cognitive impairment in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 219(1), pp. 51-6.
- Hauptman JG, Walshaw R, Olivier NB. 1997. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. *Veterinary Surgery*. 26(5), 393-397.
- Hayashi S, Junbo T, Iguchi K, Shimizu M, Shimada T, Nomura M, Ishida Y, Yamamoto S. 2001. A comparison of the concentrations of C-reactive protein and α 1-acid glycoprotein in the serum of young and adult dogs with acute inflammation. *Veterinary Research Communications*. 25:117-126.
- Heemskerk VH, Daemen M, Buurman WA. 1999. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and growth hormone (GH) in immunity and inflammation. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 10(1), pp. 5-14.
- Heiene R, Moe L, Mølmen G. 2001. Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with pyometra, *Research in Veterinary Science*. 70(2):129-37.
- Holt PE, Thrusfield MV. 1993. Association in bitches between breed, size, neutering and docking, and acquired urinary incontinence due to incompetence of the urethral sphincter mechanism, *Veterinary Record*. 21;133(8):177-80.
- Hudson M, Satoh M, Chan JY, Tatibouet S, Mehra S, Baron M, Fritzler M. 2014. Prevalence and clinical profiles of 'autoantibody-negative' systemic sclerosis subjects. *Canadian Scleroderma Research Group. Clinical and Experimental Rheumatology*. 32(6 Suppl 86):S-127-32.
- Heiene R, Kristiansen V, Teige J, Jansen JH. 2007. Renal histomorphology in dogs with pyometra and control dogs, and long term clinical outcome with respect to signs of kidney disease. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49(1), 9.
- Helle KB. 1966. Some chemical and physical properties of the soluble protein fraction of bovine adrenal chromaffin granules. *Molecular Pharmacology*. 2(4), 298-310.
- Helle KB, Corti A, Metz-Boutigues MH, Tota B. 2007. The endocrine role for chromogranin A: a prohormone for peptides with regulatory properties. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(22), 2863-2886.
- Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. (2003). Measuring inconsistency in meta-analysis. *The BMJ* 327:557-560
- Hillström A, Bylin J, Hagman R, Björhall K, Tvedten H, Königsson K, Fall T, Kjelgaard-Hansen M. 2016. Measurement of serum C-reactive protein concentration for discriminating between suppurative arthritis and osteoarthritis in dogs. *BMC Veterinary Research*. 28;12(1):240.

- Hillström A, Hagman R, Tvedten H, Kjelgaard-Hansen M. 2014. Validation of a commercially available automated canine-specific immunoturbidimetric method for measuring canine C-reactive protein. *Veterinary Clinical Pathology*. 43(2):235-43.
- Hillström A, Hagman R, Söder J, Häggström J, Ljungvall I, Kjelgaard-Hansen, M. 2015. Validation and application of a canine-specific automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 27(2), 182–190.
- Hoffman JM, Creevy KE, Promislow DEL. 2013. Reproductive Capability Is Associated with Lifespan and Cause of Death in Companion Dogs. *Plos One*, 8(4), 7.
- Hogarth MB, Gallimore JR, Savage P, Palmer AJ, Starr JM, Bulpitt CJ, Pepys MB. 1997. Acute phase proteins, C-reactive protein and serum amyloid A protein, as prognostic markers in the elderly inpatient. *Age and Ageing*. 26(2), 153-158.
- Hollinshead FK, Walker C, Hanlon DW. 2017. Determination of the normal reference interval for anti-Müllerian hormone (AMH) in bitches and use of AMH as a potential predictor of litter size. *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 2, 35-40.
- Hollinshead FK, Walker C, Hanlon DW. 2017. Determination of the normal reference interval for anti-Müllerian hormone (AMH) in bitches and use of AMH as a potential predictor of litter size, *Reproduction in Domestic Animals*. 52 Suppl 2:35-40.
- Holst BS, Dreimanis U. 2015. Anti-Müllerian hormone: a potentially useful biomarker for the diagnosis of canine Sertoli cell tumors. *BMC Veterinary Research*. 25, 11, 166.
- Hook E, Horton CA, Schaberg DR. 1983. Failure of intensive care unit support to influence mortality from pneumococcal bacteremia. *The Journal of the American Medical Association*, 249(8), 1055-7.
- Hounsom L, Grayson K, Melzer M. 2011. Mortality and associated risk factors in consecutive patients admitted to a UK NHS trust with community acquired bacteraemia. *Postgraduate Medical Journal*. 87(1033), 757-762.
- Hsiao RJ, Neumann HPH, Parmer RJ, Barbosa JA, Oconnor DT. 1990. Chromogranin-A in familial pheochromocytoma- diagnostics screening value, prediction of tumour mass, and postresection kinetics indicating 2 compartment distribution. *The American Journal of Medicine*. 88(6):607-13.
- Hurlimann J, Thorbecke GJ, Hochwald GM. 1966. The liver as the site of C-reactive protein formation. *The Journal of Experimental Medicine*, 123(2), 365-78.
- Ibraimi F, Kriz D, Lu M, Hansson LO, Kriz K. 2006. Rapid one-step whole blood C-reactive protein magnetic permeability immunoassay with monoclonal antibody conjugated nanoparticles as superparamagnetic labels and enhanced sedimentation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 384(3):651-7.
- Jergens AE, Schreiner CA, Frank DE, Niyo Y, Ahrens FE, Eckersall PD, Benson TJ, Evans R. 2003. A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 17(3):291-7.
- Jialal I, Devaraj S, Venugopal SK. 2004, C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? *Hypertension*. 44(1):6-11.
- Jitpean S, Hagman R, Strom Holst B, Hoglund OV, Pettersson A, Engvall A (2012), Breed Variations in the Incidence of Pyometra and Mammary Tumors in Swedish Dog, *Reproduction in Domestic Animals*, 47, 347-350.
- Jitpean S, Holst BS, Hoglund OV, Pettersson A, Olsson U, Strage E, Sodersten F, Hagman R. 2014. Serum insulin-like growth factor, iron, C-reactive protein and serum amyloid A for prediction of outcome in dog. *Theriogenology*, 82, 43-48.

- Jitpean S, Hagman R, Ström-Holst B, Höglund OV, Pettersson A, Egenvall A. 2012. Breed Variations in the Incidence of Pyometra and Mammary Tumours in Swedish Dogs. *Reproduction in domestic animals*, 47: 347-360.
- Jitpean S, Ambrosen A, Emanuelson U, Hagman R, 2017, Closed cervix is associated with more severe illness in dogs with pyometra, *BMC Veterinary Research*. 5;13(1):11.
- Jurka P, Max A, Hawrynska K, Snochowski M. 2010. Age-Related Pregnancy Results and Further Examination of Bitches after Aglepristone Treatment of Pyometra. *Reproduction in Domestic Animals*. 45(3), 525-529.
- Kamisoglu K, Haimovich B, Calvano SE, Coyle SM, Corbett SA, Langley RJ, Kingsmore SF, Androulakis IP. 2015. Human metabolic response to systemic inflammation: assessment of the concordance between experimental endotoxemia and clinical cases of sepsis/SIRS. *Critical Care*, 19(1), 783-783.
- Karlsson I, Hagman R, Johannisson A, Wang L, Karlstam E, Wernersson S. 2012. Cytokines as immunological markers for systemic inflammation in dogs with pyometra. *Reproduction in Domestic Animals*. 47 Suppl 6:337-41.
- Keir I, Dickinson AE. 2015. The role of antimicrobials in the treatment of sepsis and critical illness-related bacterial infections: examination of the evidence. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 25(1), 55-62.
- Kenney EM, Rozanski EA, Rush JE, deLaforcade-Buress AM, Berg JR, Silverstein DC, Montealegre CD, Jutkowitz LA, Adamantos S, Ovbey DH, Boysen SR, Shaw SP. 2010. Association between outcome and organ system dysfunction in dogs with sepsis: 114 cases (2003-2007). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 236(1), 83-87.
- Kereiakes DJ. 2003. The fire that burns within: C-reactive protein. *Circulation*. 107(3):373-4.
- Kishimoto T. 1989. The biology of interleukin-6. *Blood*. 74(1):1-10.
- Krzyzanowski J, Wawron W, Krakowski L, Kostro K. 2000. A study of unspecific immune mechanisms in bitches with pyometra, *Medycyna Weterynaryjna*. 56(6):382-385.
- Kjelgaard-Hansen M, Strom H, Mikkelsen LF, Eriksen T, Jensen AL, Luntang-Jensen M. 2013. Canine serum C-reactive protein as a quantitative marker of the inflammatory stimulus of aseptic elective soft tissue surgery. *Veterinary Clinical Pathology*. 42(3):342-5.
- Kjelgaard-Hansen M, Jacobsen S. 2011. Assay validation and diagnostic applications of major acute-phase protein testing in companion animals. *Clinics in Laboratory Medicine*, 31(1), 51-70.
- Kjelgaard-Hansen M, Jensen AL, Kristensen AT. 2003. Evaluation of a commercially available human C-reactive protein (CRP) turbidometric immunoassay for determination of canine serum CRP concentration. *Veterinary Clinical Pathology*, 32(2), 81-87.
- Klainbart S, Ranen E, Glikman G, Kelmer E, Bdolah-Abram T, Aroch I. 2014. Hindlimb lameness and gait abnormalities in bitches with pyometra. *Veterinary Record*, 175(2), 46-U52.
- Klenner S, Bauer N, Moritz A. 2010. Evaluation of three automated human immunoturbidimetric assays for the detection of C-reactive protein in dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 22(4), 544-552.
- Koj A. 1985. Cytokines regulating acute inflammation and synthesis of acute phase proteins. *Blut : journal of experimental and clinical hematology – WorldCat*. 51(4):267-74.

- Konitzer K, Endell E, Baetgen G. 1956. Studies on iron metabolism. 1. Course of the decline in iron and transferrin in the serum in relation to the disturbance in blood proteins during infection. *Zeitschrift für die Gesamte Innere Medizin und ihre Grenzgebiete*, 11, 834-840.
- Korse CM, Taal BG, Vincent A, van Velthuysen MLF, Baas P, Buning- Kager JCGM, Linders TC, Bonfrer JMG. 2012. Choice of tumour markers in patients with neuroendocrine tumours is dependent on the histological grade. A marker study of Chromogranin A, neuron specific enolase, progastrin-releasing peptide and cytokeratin fragments. *European Journal of Cancer*, 48(5), 662-671.
- Kosuge M, Ebina T, Ishikawa T, Hibi K, Tsukahara K, Okuda J, Iwahashi N, Ozaki H, Yano H, Kusama K, Nakati T, Umemura S, Kimura K. 2007. Serum amyloid A is a better predictor of clinical outcomes than C-reactive protein in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Circulation Journal*, 71(2), 186-190.
- Krook L, Larsson S, Rooney JR. 1960. The Interrelationship of Diabetes Mellitus, Obesity, and Pyometra in the Dog. *American Journal of Veterinary Research*, 21(80), 120-124.
- Krzyzanowski J. 1994. Ropomacicze u suk (Pyometra in bitches) *Med Wet*, 50, 436-8.
- Kum C, Voyvod, ., Sekkin S, Karademir U, Tarimcilar T. 2013. Effects of carprofen and meloxicam on C-reactive protein, ceruloplasmin, and fibrinogen concentrations in dogs undergoing ovariohysterectomy. *American Journal of Veterinary Research*, 74(10), 1267-1273.
- Kumagai K, Nakashima H, Saku K. 2004. The HMG-CoA reductase inhibitor atorvastatin prevents atrial fibrillation by inhibiting inflammation in a canine sterile pericarditis model. *Cardiovascular Research*. 1;62(1):105-11.
- Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, Suppes R, Feinstein D, Zanotti S, Taiberg L, Gurka D, Cheang M. 2006. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Critical Care Medicine*, 34(6), 1589-1596.
- Kuplulu S, Vural MR, Demirel A, Polat M, Akcay A. 2009. The comparative evaluation of serum biochemical, haematological, bacteriological and clinical findings of dead and recovered bitches with pyometra in the postoperative process. *Acta Veterinaria-Beograd*, 59(2- 3), 193-204.
- Kuribayashi T, Shimada T, Matsumoto M, Kawato K, Honjyo T, Fukuyama M, Yamamoto Y, Yamamoto S. 2003. Determination of serum C-reactive protein (CRP) in healthy beagle dogs of various ages and pregnant beagle dogs. *Experimental Animals*. 52(5), 387-90.
- Kushner I, Ribich WN, Blair JB. 1980. Control of the acute-phase response. C-reactive protein synthesis by isolated perfused rabbit livers. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 96(6):1037-45.
- Kushner I. 1989. Postmodernism, the acute phase response, and interpretation of data. *Annals of the New York Academy of Sciences journal*. 557:240-2.
- Kuster H, Weiss M, Willeitner AE, Detlefsen S, Jeremias I, Zbojan J, Geiger R, Lipowsky G, Simbruner G. 1998. Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis 2 days before clinical manifestation. *Lancet*, 352(9136), 1271-1277.
- La Marca A, Volpe A. 2007. The Anti-Mullerian hormone and ovarian cancer. *Human Reproduction Update*. 13(3):265-73.

- Lang CH, Frost RA, Jefferson LS, Kimball SR, Vary TC. 2000. Endotoxin-induced decrease in muscle protein synthesis is associated with changes in eIF2B, eIF4E, and IGF-I. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 278(6), 1133-1143.
- Lanz OI, Ellison GW, Bellah JR, Weichman G, VanGilder J. 2001. Surgical treatment of septic peritonitis without abdominal drainage in 28 dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 37(1), 87-92.
- Lessey BA, Wahawisan R, Gorell TA. 1981. Hormonal/regulation of cytoplasmic estrogen and progesterone receptors in the Beagle uterus and oviduct. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 21(2), 171-180.
- Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, Hogg RJ, Perrone RD, Lau J, Eknoyan G. 2003. National kidney foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Annals of Internal Medicine*, 139(2), 137-147.
- Levy M.M, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G, Int Sepsis Definitions Conference. 2003. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Critical Care Medicine*, 31(4), 1250-1256.
- Liao PY, Chang SC, Chen KS, Wang HC. 2014. Decreased postoperative C-reactive protein production in dog with pyometra through the use of low – dose ketamine, *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 24, 3, 286-290.
- Liao WSL, Jefferson LS, Taylor JM. 1986. Changes in plasma-albumin concentration, synthesis rate, and messenger- RNA level during acute inflammation. *American Journal of Physiology*, 251(6), C928-C934.
- Lobo SMA, Lobo FRM, Bota DP, Lopes-Ferreira F, Soliman HM, Melot C, Vincent JL. 2003. C-reactive protein levels correlate with mortality and organ failure in critically ill patients. *Chest*, 123(6), 2043-2049.
- Lopez MJ, Caballero A, Guerra J, Alvarez B, Mayo A, Villar J, Grp E. Anal Cuidados I. 2008. Incidence, organ dysfunction and 54 mortality in severe sepsis: a Spanish multicentre study. *Critical Care*, 12(6), 14.
- Lopez-Calderon A, Soto L, Martin A. 1999. Chronic inflammation inhibits GH secretion and alters the serum insulin-like growth factor system in rats. *Life Sciences*, 65(20), 2049-2060.
- Ludwig LL, McLoughlin MA, Graves TK, Crisp MS. 1997. Surgical treatment of bile peritonitis in 24 dogs and 2 cats: a retrospective study (1987-1994). *Veterinary Surgery*, 26(2), 90-98.
- Lund EM, Armstrong PJ, Kirk CA, Klausner JS. 2006. Prevalence and risk factors for obesity in adult dogs from private US veterinary practices. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 4(2), 177-186.
- Macleod CM, Avery OT. 1941. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood : III immunological properties of the c-reactive protein and its differentiation from normal blood proteins. *Journal of Experimental Medicine*. 31;73(2):191-200.
- Maddens B, Heiene R, Smets P, Svensson M, Aresu L, van der Lugt J, Daminet S, Meyer E. 2011. Evaluation of kidney injury in dogs with pyometra based on proteinuria, renal histomorphology, and urinary biomarkers. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(5), 1075-1083.

- Mahata SK, Mahata M, Wen G, Wong WB, Mahapatra NR, Hamilton BA, O'Connor DT. 2004. The catecholamine release-inhibitory "catestatin" fragment of chromogranin A: naturally occurring human variants with different potencies for multiple chromaffin cell nicotinic cholinergic responses. *Molecular Pharmacology*. 66(5), 1180-1191.
- Mahata SK, O'Connor DT, Mahata M, Yoo SH, Taupenot L, Wu HJ, Gill BM, Parmer RJ. 1997. Novel autocrine feedback control of catecholamine release- a discrete chromogranin A fragment is a noncompetitive nicotinic cholinergic antagonist. *Journal of Clinical Investigation*. 100(6), 1623-1633.
- Maity S, Sarkar S, Saha T. 2009. Bacteriology and antibiogram of canine pyometra. *The Indian Veterinary Journal*. 86: 896-897.
- Manolov DE, Koenig W, Hombach V, Torzewski J. 2003. C-reactive protein and atherosclerosis. Is there a causal link? *Histol Histopathol*. 18(4):1189-93.
- Marchuk JB, Finley RJ, Groves AC, Wolfe LI, Holliday R.L, Duff JH. 1977. Catabolic hormones and substrate patterns in septic patients. *Journal of Surgical Research*, 23(3), pp. 177-182.
- Martinez-Subiela S, Ceron JJ. 2005. Analytical validation of commercial assays for the determination of haptoglobin, C-reactive protein and serum amyloid A in dogs. *Archivos De Medicina Veterinaria*, 37(1), 61-66.
- Marik PE. 2002. Definition of sepsis: Not quite time to dump SIRS? *Critical care medicine* 30: 706-708.
- Martínez-Subiela S, Cerón JJ. 2005. Effects of hemolysis, lipemia, hyperbilirubinemia, and anticoagulants in canine C-reactive protein, serum amyloid A, and ceruloplasmin assays. *The Canadian Veterinary Journal*. 46(7):625-9.
- Martinez-Subiela S, Bernal I, Cerón JJ. 2003. Serum concentration of acute phase proteins in dogs with leishmaniosis during short term treatment, *American Journal of Veterinary Research*. 64(8):1021-6
- Mattin M, O'Neill D, Church D, McGreevy PD, Thomson PC, Brodbelt D. 2014. An epidemiological study of diabetes mellitus in dogs attending first opinion practice in the UK. *Veterinary Record*, 174(14), 349-357.
- Matijatko V. 2002. "CRP concentration in dogs with uncomplicated babesiosis." *Proceedings of the Third European Colloquium on Acute Phase Proteins [abstract]*. Doorn, The Netherlands. 2002.
- Mazza R, Imbrogno S, Tota B. 2010. The interplay between chromogranin A-derived peptides and cardiac natriuretic peptides in cardioprotection against catecholamine-evoked stress. *Regulatory Peptides*, 165(1), 86- 94.
- Mayhew KN, Hunt GB. 2013. Evaluation of Laparoscopic-Assisted Ovariohysterectomy for Treatment of Canine Pyometra. *Veterinary Surgery*, 42(5), 572-578.
- McCarty M. 1947. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood : iv. crystallization of the c-reactive protein. *J Exp Med*.30;85(5):491-8
- McGreevy PD, Thomson PC, Pride C, Fawcett A, Grassi I, Jones B. 2005. Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved. *Veterinary Record*, 156(22), 695-702.
- Meyers-Wallen V N, Goldschmidt M H, Flickinger G L.1986. Prostaglandin F2 alpha treatment of canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 15;189(12):1557-61.

- Meyers-Wallen VN, Manganaro TF, Kuroda T, Concannon PW, MacLaughlin DT, Donahoe PK. 1991. The critical period for mullerian duct regression in the dog embryo. *Biology of Reproduction*. 45(4):626-33.
- Meyers-Wallen VN. 2005. Sf1 and Mis expression: molecular milestones in the canine sex determination pathway. *Molecular Reproduction and Development*. 70(4):383-9.
- Michell AR. 1999. Longevity of British breeds of dog and its relationships with sex, size, cardiovascular variables and disease. *Veterinary Record*, 145(22) 625-629.
- Millerliedl D, Fayrerhosken R, Caudle A, Downs M. 1994. Reproductive tract diseases that cause infertility in the bitch. *Veterinary Medicine*, 89(11), 1047-1054.
- Muckart DJJ, Bhagwanjee S. 1997. American College of Chest Physicians Society of Critical Care Medicine Consensus Conference definitions of the systemic inflammatory response syndrome and allied disorders in relation to critically injured patients. *Critical Care Medicine*, 25(11), 1789-1795.
- Mueller MG, Ludwig LL, Barton LJ. 2001. Use of closed-suction drains to treat generalized peritonitis in dogs and cats: 40 cases (1997-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219(6), 789- 794.
- Murugavel K, Senthil Kumar P, Alphonse RMD. 2001. Pyometra in Doberman bitch. *The Indian Journal of Animal Reproduction*. 22, 91-93.
- Myers NC, Andrews GA, ChardBergstrom C. 1997. Chromogranin A plasma concentration and expression in pancreatic islet cell tumors of dogs and cats. *American Journal of Veterinary Research*, 58(6), 615- 620.
- Nagashima JB, Hansen BS, Songsasen N, Travis AJ, Place NJ. 2016. Anti Mullerian hormone in the domestic dog during the anestrus to oestrus Transition, *Reproduction in Domestic Animals*, 51, 158-164.
- Nel M, Lobetti RG, Keller N, Thompson PN. 2004. Prognostic value of blood lactate, blood glucose, and hematocrit in canine babesiosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18(4), 471-476.
- Nelson RW, Feldman EC. 1986. Pyometra. *Veterinary clinics of North America: Small animal practice*, 16: 561-576.
- Nelson RW, Couto CG. 2014. *Small Animal Internal Medicine* (5th ed.). Elsevier.
- Nelson RW, Couto CG. 1998. *Small Animal Internal Medicine*. 2 nd Edn. Toronto: Mosby, 1199.
- Nelson SM, La Marca A. 2011. The journey from the old to the new AMH assay: how to avoid getting lost in the values *Reproductive BioMedicine Online*. 23(4):411-20.
- Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, Sirito M, Sawadogo M, Kahn A, Vaulont S. 2002. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(7), 4596–4601.
- Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, Ganz T, Kaplan J. 2004. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*, 17;306(5704):2090-3.
- Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. 2003. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*, 101(7), 2461-2463.
- Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S. 2002. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by

- anemia, hypoxia, and inflammation. *Journal of Clinical Investigation*, 110(7), 1037-1044.
- Niskanen M, Thrusfield MV. 1998. Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. *Veterinary Record*, 143(18), 493-498.
- Niyas E, Reshma S, Shravya GS, Jayakumar C, Naveen Kumar RH, Sarika N, Anugraha Mercy Easaw. 2020. Antibigram of Isolated Organisms in Canine Pyometra. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 9(6): 263-268
- Oconnor DT, Bernstein KN. 1984. Radioimmunoassay of chromogranin-A in plasma as a measure of exocytosis sympathoadrenal activity in normal subjects and patients with pheochromocytoma. *New England Journal of Medicine*, 311(12),764-770.
- Oelzner J, Munnich A. 1997. Diagnosis and treatment of the endometritispyometra- complex in the bitch. *Tierarztliche Praxis*, 25(3), 249-253.
- Okano I, Yamamoto T, Kaji A, Kimura T, Mizuno K, Nakamura T. 1993. Cloning of CRP2, a novel member of the cysteine-rich protein family with two repeats of an unusual LIM/double zinc-finger motif. *FEBS Lett*, 25;333(1-2):51-5.
- Okano S, Tagawa M, Takase K. 1998. Relationship of the blood endotoxin concentration and prognosis in dogs with pyometra. *Journal of veterinary medical science* 60: 1265-1267.
- Okkens AC, Bevers MM , Dieleman S , Willems AH. 1990. Evidence for prolactin as the main luteotrophic factor in the cyclic dog, *Veterinary Quarterly*, 12(4):193-201.
- Osmand AP, Friedenson B, Gewurz H, Painter RH, Hofmann T, Shelton E. 1977. Characterization of C-reactive protein and the complement subcomponent C1t as homologous proteins displaying cyclic pentameric symmetry (pentraxins). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(2):739-43.
- Otake K, Sugimoto T, Jinbo T, Honda M, Kitao S, Hayashi S, Shimizu M, Yamamoto S.1998. Physiological levels of C-reactive protein in normal canine sera. *Veterinary Research Communications*. 22(2):77-85.
- Otto CM. 2007. Clinical trials in spontaneous disease in dogs: a new paradigm for investigations of sepsis. *Journal of Veterinary Emergency and CriticalCare*, 17(4), 359-367.
- Owen WF, Lew NL, Liu Y, Lowrie EG, Lazarus JM. 1993. The urea reduction ratio and serum-albumin concentration as predictors of mortality in patients undergoing hemodialysis. *New England Journal of Medicine*, 329(14), 1001-1006.
- Palinivel K M, Selvasubramanian S, Nedunchellayan S. 2005. Treatment of clinical mastitis with cefquinome. *The Indian Veterinary Journal*, 82: 1313.
- Patnaik AK, Greenlee PG. 1987. Canine ovarian neoplasms: a clinicopathologic study of 71 cases, including histology of 12 granulosa cell tumors. *Veterinary Pathology*, 24(6), 509-14.
- Pelander L, Hagman R., Haggstrom J. 2008. Concentrations of cardiac Troponin I before and after ovariohysterectomy in 46 female dogs with pyometra. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 50, 8.
- Pepys MB, Hirschfield GM. 2003. C-reactive protein: a critical update. *Journal of Clinical Investigation*, 111(12), 1805-1812.
- Philip AGS, Mills PC. 2000. Use of C-reactive protein in minimizing antibiotic exposure: experience with infants initially admitted to a wellbaby nursery. *Pediatrics*, 106(1), 5.
- Pierce BL, Ballard-Barbash R, Bernstein L, Baumgartner RN, Neuhaus ML, Wener MH, Baumgartner KB, Gilliland FD, Sorensen BE, McTiernan A, Ulrich CM. 2009. Elevated

- Biomarkers of Inflammation Are Associated With Reduced Survival Among BreastCancer Patients. *Journal of Clinical Oncology*, 27(21), 3437-3444.
- Pietrantonio C, Minai OA, Yu NC, Maurer JR, Haug MT 3rd, Mehta AC, Arroliga AC. 2003. Respiratory failure and sepsis are the major causes of ICU admissions and mortality in survivors of lung transplants. *Chest*. 123(2):504-9.
- Plavec T, Celinsek B, Dolinar K, Pecar J, Nemec A, Butinar J. 2006. Haemostasis impairment in bitches with pyometra. *Acta Veterinaria-Beograd*, 56(5-6), 529-540.
- Pir Yagci I, Pekcan M, Polat I M, Kalender H, Macun H. 2016. Does serum anti-Müllerian hormone levels always discriminate presence of the ovaries in adult bitches? Comparison of two ELISA kits, *Reproduction in Domestic Animals*, 51(6):910-915.
- Place NJ, Hansen BS, Cheraskin J, Cudney SE, Flanders JA, Newmark AD, Barry B, Scarlett MJ. 2011. Measurement of serum anti-Müllerian hormone concentration in female dogs and cats before and after ovariohysterectomy, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(3):524-7.
- Plickert HD, Einspanier R, Arndt G, Brunnberg L. 2011. Evaluation of a canine C-reactive protein (CRP) point-of-care test, *Veterinary Clinical Pathology* 40(3):384-8.
- Portela-Gomes GM, Grimelius L, Wilander E, Stridsberg M. 2010. Granins and granin-related peptides in neuroendocrine tumours. *Regulatory Peptides*, 165(1), 12-20.
- Priego T, Granado M, de Caceres II, Martin AI, Villanua MA, Lopez- Calderon A. 2003. Endotoxin at low doses stimulates pituitary GH whereas it decreases IGF-I and IGF-binding protein-3 in rats. *Journal of Endocrinology*, 179(1), 107-117.
- Purvis D, Kirby R, 1994, Systemic inflammatory response syndrome: septic shock, *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 24(6):1225-47.
- Randels A. 2013. Systemic inflammatory response syndrome. *Veterinary technician*, 34(2), 1–7.
- Rau S, Kohn B, Richter C, Fenske N, Kuechenhoff H, Hartmann K, Haertle S, Kaspers B, Hirschberger J. 2007. Plasma interleukin-6 response is predictive for severity and mortality in canine systemic inflammatory response syndrome and sepsis. *Veterinary Clinical Pathology*, 36(3), 253-260.
- Reichler IM. 2009. Gonadectomy in cats and dogs: a review of risks and benefits. *Reproduction in Domestic Animals*, 44 (Suppl 2), 29-35.
- Reny JL, Vuagnat A, Ract C, Benoit MO, Safar M, Fagon JY. 2002. Diagnosis and follow-up of infections in intensive care patients: value of C-reactive protein compared with other clinical and biological variables. *Critical Care Medicine*, 30(3):529-35.
- Reynaud K, Fontbonne A, Saint-Dizier M, Thoumire S, Marnier C, Tahir MZ, Meylheuc T, Chastant-Maillard S. 2012. Folliculogenesis, ovulation and endocrine control of oocytes and embryos in the dog. *Reproduction in Domestic Animals*. 47 Suppl 6:66-9.
- Rietschel ET, Brade H.1992. Bacterial endotoxins. *Scientific American*, 267(2):54-61.
- Rikihiya Y, Yamamoto S, Kwak I, Iqbal Z, Kociba G, Mott J, Chichanasiriwithaya WJ. 1994. C-reactive protein and alpha 1-acid glycoprotein levels in dogs infected with *Ehrlichia canis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(4):912-7.
- Riley F, Zontine W. 1972. Further observations on the properties of dog C-reactive protein and the C-reactive protein response in the dog. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 80(5):698-703.

- Riley R.F, Coleman MK. 1970. Isolation of C-reactive proteins of man monkey, rabbit and dog by affinity chromatography on phosphorylated cellulose, *Clinica Chimica Acta*, 30, 2, 483-496.
- Robey FA, Liu TY. 1981. Limulin: a C-reactive protein from *Limulus polyphemus*. *Journal of Biological Chemistry*, 25;256(2):969-75.
- Rodriguez-Tarduchy G, Collins MKL, Garcia I, Lopezrivras A. 1992. Insulin-like growth factor-I inhibits apoptosis in IL-3 dependent hematopoietic-cells. *Journal of Immunology*, 149(2), 535-540.
- Rootwelt-Andersen V, Farstad W. 2006. Treatment of pyometra in the bitch: a survey among Norwegian small animal practitioners. *European Journal of Companion Animal Practice*, 16(2), 195-198.
- Ros L, Holst BS, Hagman R. 2014. A retrospective study of bitches with pyometra, medically treated with aglepristone. *Theriogenology*, 82: 1281-1286.
- Rosjo H, Nygard S, Kaukonen KM, Karlsson S, Stridsberg M, Ruokonen E, Pettila V, Omland T, Grp FS. 2012. Prognostic value of chromogranin A in severe sepsis: data from the FINNSEPSIS study. *Intensive Care Medicine*, 38(5), 820-829.
- Roy SK, Das B, Batabyal K. 2009. Antibiogram of pathogenic *Escherichia coli* isolated from canine pyometra cases. *Journal of Inter academia*. 13 (4): 481-483.
- Ru G, Terracini B, Glickman LT. 1998. Host related risk factors for canine osteosarcoma. *Veterinary Journal*, 156(1) 31-39.
- Rubio A, Boyen F, Tas O, Kitshoff A, Polis I, Van Goethem B, de Rooster H. 2014. Bacterial colonization of the ovarian bursa in dogs with clinically suspected pyometra and in controls. *Theriogenology*, 82(7), 966-971.
- Rupprecht CE, Hanlon CA, Slate D. 2006. Control and prevention of rabies in animals: paradigm shifts. *Developments in Biologicals*, 125, 103- 11.
- Rustamov O, Smith A, Roberts SA, Yates AP, Fitzgerald C, Krishnan M, Nardo LG, Pemberton PW. 2014. The measurement of anti-Müllerian hormone: a critical appraisal. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 99(3):723-32.
- Saadia R, Schein M. 1999. Multiple organ failure. How valid is the "two hit" model? *Journal of Accident & Emergency Medicine*. 16(3): 163–167.
- Sá Filho MFJM, Batista EOS, Lopes RNV, Visintin JA, Baruselli PS, Assumpção MEOA. 2014. Anti-Müllerian hormone concentration and antral ovarian follicle population in Murrah heifers compared to Holstein and Gyr kept under the same management. *Reproduction in Domestic Animals*, 49(6):1015-20.
- Salman MD, New JG, Jr Scarlett JM, Kass PH, Ruch-Gallie R, Hetts S. 1998. Human and animal factors related to relinquishment of dogs and cats in 12 selected animal shelters in the United States. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 1(3), 207-26.
- Sandholm M, Vasenius H, Kivisto AK. 1975. Pathogenesis of canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 167(11), 1006-1010.
- Sant Anna MC, Giordan LGP, Flaiban KKMC, Muller EE, Martins MI.M. 2014. Prognostic markers of canine pyometra. *Arquivo Brasileiro de Medicina veterinaria e zootecnia.*, 66(6), 1711–1717.
- Sato J, Yasuda J, Muraoka N, Sato R, Tomizawa N, Miyake Y, Okada K, Naito Y. 2002. High level of serum alkaline phosphatase activity and isoenzymes in cases of canine pyometra. *Journal of the Japan Veterinary Medical Association*, 55(6), 367-370.

- Sauerwein L, Brandstetter A, Pfaffl WM, Meyer HD, Möstl E, Handler J, Arbeiter K. 1998. Uterine Androgen Receptor mRNA Expression in Metestrus and Anestrus Bitches being healthy or suffering from Pyometra, *Dtsch Tierärztl. Wschr*, 105, 191-193.
- Schmidt EMS, Eckersall PD. 2015. Acute phase proteins as markers of infectious diseases in small animals. *Acta Veterinaria-Begrade*, 65:149-161.
- Schneider R, Dorn CR, Taylor DON. 1969. Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. *Journal of the National Cancer Institute*, 43(6), 1249-61.
- Schreiber G, Howlett G, Nagashima M, Millership A, Martin H, Urban J, Kotler L. 1982. The acute phase response of plasma-protein synthesis during experimental inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, 257(17), 271-277.
- Şenates E, Çolak Y, Erdem Ed, Yeşil A, Coşkunpinar E, Şahin Ö, Altunöz Me, Tuncer I, Kurdaş Övünç Ao. 2013. Serum Anti-Müllerian Hormone Levels Are Lower In Reproductive-Age Women With Crohn's Disease Compared To Healthy Control Women. *J Crohns Colitis*. 7:E29–34. Doi: 10.1016/J.Crohns.2012.03.003.
- Sevelius E, Tidholm A, Thoren-Toling K. 1990. Pyometra in the dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 26, 1, 33-38.
- Shike, H, Lauth X, Westerman ME, Ostland VE, Carlberg JM, Van Olst JC, Shimizu C, Bulet P, Burns JC. 2002. Bass hepcidin is a novel antimicrobial peptide induced by bacterial challenge. *European Journal of Biochemistry*, 269(8), 2232-2237.
- Shimada T, Ishida Y, Shimizu M, Nomura M. 2002. Monitoring C-reactive Protein in Beagle Dogs Experimentally Inoculated with Ehrlichia canis, *Veterinary Research Communications*, 26(3):171-7
- Shrive AK, Cheetham GM, Holden D, Myles DA, Turnell WG, Volanakis JE, Pepys MB, Bloomer AC, Greenhough TJ. 1996. Three dimensional structure of human C-reactive protein. *Nature Structural & Molecular Biology*. 3(4):346-54.
- Silva LBG, Castro-Junior IF, Cunha AP, Mota RA, Silva KPC, Pinheiro-Junior JW. 2004. Aetiological and therapeutic study of pyometra in bitches from the metropolitan region of Recife. Pernambuco State, Brazil. *A. Hora. Veterinaria.*, 24(139): 37-39.
- Sjaastad Øystein V, Hove K, Sand O. 2010. *Physiology of domestic animals 2. uppl*, Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Slauterbeck JR, Pankratz K, Xu KT, Bozeman SC, Hardy DM. 2004. Canine ovariohysterectomy and orchietomy increases the prevalence of ACL injury. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 429(429), 301-5.
- Smith AN. 2014. The Role of Neutering in Cancer Development. *Veterinary Clinics of North America-Small Animal Practice*, 44(5), 965-975.
- Sorenmo KU, Shofer FS, Goldschmidt MH. 2000. Effect of spaying and timing of spaying on survival of dogs with mammary carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(3), 266-70.
- Smith F. 2006. Canine pyometra. *Theriogenology*, 66: 610-612.
- Sorenmo KU, Shofer FS, Goldschmidt MH. 2000. Effect of spaying and timing of spaying on survival of dogs with mammary carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(3):266-70.
- Spielmann H, Liebsch M. 2001. Lessons learned from validation of in vitro toxicity test: from failure to acceptance into regulatory practice. *Toxicology in Vitro*. 15(4-5):585-90.

- Srithunyarat T, Bystrom E, Stridsberg M, Olsson U, Pettersson A. 2014. The correlation of chromogranin A in saliva and plasma in healthy dogs. In: Proceedings of Scientific Proceedings Veterinary Programme of BSAVA Congress, Birmingham, United Kingdom, 645-645.
- Stamey TA. 1971. Observations on the clinical use of nalidixic acid. *Postgraduate Medical Journal*, 47:Suppl:21-6.
- Stevenson CK, Kidney BA, Duke T, Snead ECR, Mainar-Jaime RC, Jackson ML. 2007. Serial blood lactate concentrations in systemically ill dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, 36(3), 234-239.
- Stocklin-Gautschi NM, Hassig M, Reichler IM, Hubler M, Arnold S. 2001. The relationship of urinary incontinence to early spaying in bitches. *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement*, 57, 233-6.
- Strage EM, Lewitt MS, Hanson JM, Olsson U, Norrvik F, Lilliehook I, Holst BS, Fall T. 2014. Relationship among Insulin Resistance, Growth Hormone, and Insulin-Like Growth Factor I Concentrations in Diestrus Swedish Elkhounds. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(2), 419-428.
- Strage EM, Lewitt MS, Lilliehook I, Strom Holst B, Jones B. 2011. Evaluation of an IGFBP-blocked ELISA for measuring IGF-I in canine serum. In: Proceedings of European Society for Veterinary Clinical Pathology (ESVCP) 13th Annual Congress, Dublin, Ireland, 587-587.
- Suffredini AF, Fantuzzi G, Badolato R, Oppenheim JJ, O'Grady NPJ. 1999. New insights into the biology of the acute phase response. *Clinical Immunology*, 19(4):203-14.
- Stone EA, Littman P, Robertson L, Bovée KC. 1988. Renal dysfunction in dogs with pyometra, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 15;193(4):457-64.
- Stridsberg M, Pettersson A, Hagman R, Westin COH. 2014. Chromogranins can be measured in samples from cats and dogs. *BMC Research Notes*, 7(1), 4.
- Stridsberg M, Eriksson B, Öberg K, Janson E. 2004. A panel of eleven -specific radioimmunoassays against different parts of the human chromogranin A molecule. *Regulatory Peptides*, 117, 219-227.
- Stridsberg M, Eriksson B, Oberg K, Janson ET. 2003. A comparison between three commercial kits for chromogranin A measurements. *Journal of Endocrinology*, 177(2), 337-341.
- Stridsberg M, Houge Angeletti R, Helle K. 2000. Characterisation of Nterminal chromogranin A and chromogranin B in mammals by regionspecific radioimmunoassays and chromatographic separation methods. *Journal of Endocrinology*, 165, 703-714.
- Ström Holst B, Larsson B, Rodriguez-Martinez H, Lagerstedt AS, Linde-Forsberg C. 2001. Prediction of the oocyte recovery rate in the bitch, *Journal of Veterinary Medicine. A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, 48(10):587-92.
- Ström Holst B, Dreimanis U. 2015. Anti-Müllerian hormone: A potentially useful biomarker for the diagnosis of canine Sertoli cell tumours, July *BMC Veterinary Research* 11(1):166
- Sugiura K, Nishikawa M, Ishiguro K, Tajima T, Inaba M, Torii R. 2004. Effect of ovarian hormones on periodical changes in immune resistance associated with estrous cycle in the beagle bitch. *Immunobiology*, 209: 619–267.

- Sun D, Aikawa N. 1999. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome and the evaluation of SIRS criteria as a predictor of severity in patients hospitalized through emergency services, *The Keio Journal of Medicine*, 48(1):28-37.
- Taupenot L, Harper KL, O'Connor DT. 2003. Mechanisms of disease – the chromogranin-secretogranin family. *New England Journal of Medicine*, 348(12), 1134-1149.
- Teunissen GHB. 1952. The development of endometritis in the dog and the effect of oestradiol and progesterone on the uterus. *Acta Endocrinologica*, 9(4), 407-20.
- Themmen APN, Kalra B, Visser JA, Kumar A, Svjani G, de Gier J, Jaque S. 2016. The use of anti-Müllerian hormone as diagnostic for gonadectomy in dogs. *Theriogenology*, 86(6), 1467-1474 18.
- Theurl M, Schgoer W, Albrecht K, Jeschke J, Egger M, Beer AGE, Vasiljevic D, Rong S, Wolf AM, Bahlmann FH, Patsch JR, Wolf D, Schratzberger P, Mahata SK, Kirchmai R. 2010. The Neuropeptide Catestatin Acts As a Novel Angiogenic Cytokine via a Basic Fibroblast Growth Factor-Dependent Mechanism. *Circulation Research*, 107(11), 1326-1335.
- Thrusfield MV. 1985. Association between urinary-incontinence and spaying in bitches. *Veterinary Record*, 116(26), 695-695.
- Tillett WS, Francis T. 1930. Serological reactions in pneumonia with a nonprotein somatic fraction of *Pneumococcus*. *The Journal of Experimental Medicine*, 52(4), 561-71.
- Timmins AC, Cotterill AM, Hughes SCC, Holly JM., Ross RJM, Blum W, Hinds CJ. 1996. Critical illness is associated with low circulating concentrations of insulin-like growth factors-I and -II, alterations in insulin-like growth factor binding proteins, and induction of an insulin-like growth factor binding protein 3 protease. *Critical Care Medicine*, 24(9), 1460-1466.
- Trasch K, Wehrend A, Bostedt H. 2003. Follow-up examinations of bitches after conservative treatment of pyometra with the antigestagen aglepristone. *Journal of Veterinary Medicine Series a-Physiology Pathology Clinical Medicine*, 50(7), 375-379.
- Trevejo R, Yang M, Lund EM. 2011. Epidemiology of surgical castration of dogs and cats in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238(7), 898-904.
- Tsumagari S, Ishinazaka T, Kamata H, Ohba S, Tanaka S, Ishii M, Memon MA. 2005. Induction of canine pyometra by inoculation of *Escherichia Coli* into the uterus and its relationship to reproductive features. *Animal Reproduction Science*, 87: 301-308.
- Tsutsui T, Kirihara N, Hori T, Concannon PW. 2007. Plasma progesterone and prolactin concentrations in overtly pseudopregnant bitches: A clinical study. *Theriogenology*, 67: 1032-1038.
- Turna Yilmaz O , Fatma Toydemir ST, Kirsan I, Gunay Ucmak Z, Caliskan Karacam E. 2015. Anti-Müllerian hormone as a diagnostic tool for ovarian remnant syndrome in bitches, *Veterinary Research Communications*, 39(3):159-62.
- Tvarijonaviciute A, Eralp O, Kocaturk M, Yilmaz Z, Ceron JJ. 2011. Adiponectin and IGF-1 are negative acute phase proteins in a dog model of acute endotoxaemia. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 140(1-2), 147-151.
- Ulutas PA, Musal B, Kiral F, Bildik A. 2009. Acute phase protein levels in pregnancy and oestrus cycle in bitches. *Research in Veterinary Science*, 86(3):373-6.

- Vandeplassche M, Coryn M, De Schepper J. 1991. Pyometra in the bitch: Cytological, bacterial, histological and endocrinological characteristics. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 60: 207-211.
- Verstegen J, Dhaliwal G, Verstegen-Onclin K. 2008. Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: advances in treatment and assessment of future reproductive success. *Theriogenology*, 70: 364-374.
- Ververidis HN, Boscos CM, Stefanakis A, Saratsis P, Stamou AI, Krambovitis E. 2004. Serum estradiol-17 β , progesterone and respective uterine cytosol receptor concentrations in bitches with spontaneous pyometra. *Theriogenology*, 62(3-4), 614-623.
- Wadås B, Kühn I, Lagerstedt AS, Jonsson P. 1996. Biochemical phenotypes of *Escherichia coli* in dogs: comparison of isolates isolated from bitches suffering from pyometra and urinary tract infection with isolates from faeces of healthy dogs, *Veterinary Microbiology*, 52(3-4):293-300
- Waters DJ, Kengeri S, Clever B, Booth JA, Maras AH, Schlittler DL, Hayek MG 2009. Exploring mechanisms of sex differences in longevity: lifetime ovary exposure and exceptional longevity in dogs. *Aging Cell*, 8(6), pp. 752-755.
- Watts JR, Wright PJ, Whithear KC. 1996. Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. *The Journal of Small Animal Practice*, 37: 54-60.
- Weiss SL, Fitzgerald JC, Pappachan J, Wheeler D, Jaramillo-Bustamante JC, Salloo A, Singhi SC, Erickson S, Roy JA, Bush JL, Nadkarni VM, Thomas NJ, Sepsis Prevalence Outcomes, T. & Pediat Acute Lung Injury Sepsis, I. 2015. Global Epidemiology of Pediatric Severe Sepsis: The Sepsis Prevalence, Outcomes, and Therapies Study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 191(10), 1147-1157.
- Wessels BC, Wells MT. 1989. Antiendotoxins immunotherapy for canine pyometra endotoxemia. *J Am An Hosp Ass* 25: 455.
- Wetmore JB, Lovett DH, Hung AM, Cook-Wiens G, Mahnken JD, Sen S, Johansen KL. 2008. Associations of interleukin-6, C-reactive protein and serum amyloid A with mortality in haemodialysis patients. *Nephrology*, 13(7), 593-600.
- Wheaton LG, Johnson AL, Parker AJ, Kneller SK. 1989. Results and complications of surgical-treatment of pyometra- a review of 80 cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 25(5), pp. 563-568. Whitehead, M.L. (2008). Risk of pyometra in bitches treated for mismating with low doses of oestradiol benzoate. *Veterinary Record*, 162(23), 746-9.
- Whicher J, Bienvenu J, Monneret G. 2001. Procalcitonin as an acute phase marker. *Annals of Clinical Biochemistry*, 38(Pt 5):483-93.
- Whitehead ML. 2008. Risk of pyometra in bitches treated for mismating with low doses of oestradiol benzoate. *Veterinary Record*, 162: 746-9.
- Wilkinson JS. 1960. Spontaneous diabetes mellitus. *Veterinary Record*, 72, 548-554.
- Wilson BS, Lloyd RV. 1984. Detection of chromogranin in neuroendocrine cells with a monoclonal antibody. *The American Journal of Pathology*, 115(3):458-68.
- Yamamoto S, Shida T, Miyaji S, Santsuka H, Fujise H, Mukawa K, Furukawa E, Nagae T, Naik M. 1993. Changes in serum Creactive protein levels in dogs with various disorders and surgical traumas. *Veterinary Research Communications*, 17(2), 85-93.

- Yamamoto S, Tagata K, Nagahata H, Ishikawa Y, Morimatsu M, Naiki M. 1992. Isolation of canine C-reactive protein and characterization of its properties. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 31;30(4):329-39.
- Yamamoto S, Shida T, Okimura T, Otabe K, Honda M, Ashida Y, Furukawa E, Sarikaputi M, Naiki M. 1994. Determination of C-reactive protein in serum and plasma from healthy dogs and dogs with pneumonia by ELISA and slide reversed passive latex agglutination test, *Veterinary Quarterly*, 16(2):74-7.
- Yamashita K, Fujinaga T, Miyamoto T, Hagio M, Izumisawa Y, Kotani T. 1994. Canine acute phase response- relationship between serum cytokine activity and acute phase protein in dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 56(3), 487-492.
- Yentis SM, Soni N, Sheldon J. 1995. C-reactive protein as an indicator of resolution of sepsis in the intensive-care unit. *Intensive Care Medicine*, 21(7), 602-605.
- Yule TD, Roth MB, Dreier K, Johnson AF, Palmer Densmore M, Simmons K, Fanton R. 1997. Canine parvovirus vaccine elicits protection from the inflammatory and clinical consequences of the disease. *Vaccine*, 15(6-7), 720-729.
- Zhang D, Lavaux T, Voegeli AC, Lavigne T, Castelain V, Meyer N, Sapin R, Aunis D, Metz-Boutigue MH, Schneider F. 2008. Prognostic value of chromogranin a at admission in critically ill patients: A cohort study in a medical intensive care unit. *Clinical Chemistry*, 54(9), 1497-1503.
- Zhang G, Sun X, Lv H, Yang X, Kang X. 2012. Serum amyloid A: a new potential serum marker correlated with the stage of breast cancer. *Oncology Letters*, 3(4), 940-944.
- Zink MC, Farhooody P, Elser SE, Ruffini LD, Gibbon TA, Rieger RH. 2011. Evaluation of the risk and age of onset of cancer and behavioral disorders in gonadectomized Vizslas. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 244(3), 309-319.
- Zouki C, Beauchamp M, Baron C, Filep J G. 1997. Prevention of In vitro neutrophil adhesion to endothelial cells through shedding of L-selectin by C-reactive protein and peptides derived from C-reactive protein, *Journal of Clinical Investigation*, 1;100(3):522-9.

Biografija kandidata

Veterinarski fakultet završio je 1996. godine prosečnom ocenom 8,23. Poslediplomske studije iz Kliničke patologije i terapije, završio je 2002. god. sa prosečnom ocenom 9,91. Iste godine nagrađen je za rezultate na poslediplomskim studijama. Magistarski rad pod naslovom " Uticaj prirodnog zeolita na bazi klinoptilolita na kvalitativne i kvantitativne promene proteinemije teladi u neonatalnom periodu" odbranio je 2004. god. na Katedra za bolesti papkara, Fakulteta Veterinarske medicine, i od 2000-2003. god bio je asistent na predmetima Bolesti papkara i Opšta klinička dijagnostike. Od 2004 do danas je zaposlen na Evidensia Djursjukhuset Malmö, u Švedskoj, a od 2010. god jedan od osnivača Grundare Evidensia Djursjukhuset Group, a od 2011. god radi kao medicinski ekspert (Medical board Evidensia IVC), za ispitavanja, istraživanja i reprodukciju (Expert Group Laboratory analyser and Reproduktion Evidensia IVC). Od 2014. godine je rukovodilac banke semena. Član je Švedskog udruženja veterinarara, Švedskog udruženja veterinarara male prakse, Švedske ekspertske grupe reprodukcije malih životinja, Član evropskih udruženja veterinarara reprodukcije, saradnik za egzaminaciju biomedicinskih profila, saradnik na ispitivanju medicinske opreme namenjene za upotrebi u veterinarskoj medicini.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani Dušan Janković

broj upisa 2016/5022

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

**ANALIZA KONCENTRACIJE IZABRANIH HEMATOLOŠKIH PARAMETARA C-
REAKTIVNOG PROTEINA I ANTIMILEROVOG HORMONA KUJA SA PIOMETROM**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis doktoranda

U Beogradu, _____

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Dušan Janković

Broj upisa 2016/5022

Studijski program Doktorske studije

Naslov rada

ANALIZA KONCENTRACIJE IZABRANIH HEMATOLOŠKIH PARAMETARA C-
REAKTIVNOG PROTEINA I ANTIMILEROVOG HORMONA KUJA SA PIOMETROM

Mentor Slobodanka Vakanjac

Potpisani _____

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis doktoranda

U Beogradu, _____

Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

ANALIZA KONCENTRACIJE IZABRANIH HEMATOLOŠKIH PARAMETARA C-
REAKTIVNOG PROTEINA I ANTIMILEROVOG HORMONA KUJA SA PIOMETROM

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo

2. Autorstvo - nekomercijalno

3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade

4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima

5. Autorstvo – bez prerade

6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, _____

1. Autorstvo - Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. Autorstvo – nekomercijalno. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. Autorstvo - nekomercijalno – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. Autorstvo - nekomercijalno – deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. Autorstvo – bez prerade. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima. Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.