

# Terapijska primjena fitoestrogena u kobilu

---

Perić, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:025163>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-15**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI STUDIJ  
VETERINARSKA MEDICINA

Ivana Perić

Terapijska primjena fitoestrogena u kobilama

Zagreb, 2024.

Ime i prezime studenta: Ivana Perić

Odjel klinika Veterinarskoga fakulteta

Klinika za porodništvo i reprodukciju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Predstojnik: prof. dr. sc. Tugomir Karadjole, redoviti profesor trajni izbor

Mentorice: prof. dr. sc. Nikica Prvanović Babić, redovita profesorica

izv. prof. dr. sc. Iva Getz, izvanredna profesorica

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Juraj Grizelj
2. prof. dr. sc. Nikica Prvanović Babić
3. izv. prof. dr. sc. Iva Getz
4. prof. dr. sc. Silvijo Vince (zamjena)

Rad sadržava 42 stranice, 8 slika i 61 literaturni navod.

## ZAHVALA

Riječima je teško izraziti zahvalnost koju osjećam u trenutku završavanja svog diplomskog rada. Roditelji, moj glavni oslonac, bezuvjetna ljubav i podrška. Mami, koja je u meni „hranila“ ljubav prema životinjama od samog rođenja. Tati koji se potrudio da odlazak, kao i život u Zagrebu bude moguć. Sestri koja je svojim uspjehom potakla i moj osobni uspjeh. Hvala mom zaručniku, za svaku riječ podrške, pogotovo u kasne sate, dan prije ispita. Hvala baki i didi koji su također uvijek bili tu, posebno didi, jer je uvijek znao reći: „Završit ćeš ti taj fakultet, pa ćeš lijepo biti svoj čovjek!“. Hvala cijeloj mojoj obitelji i hvala onima koji su to postali u zadnjih nekoliko godina! Hvala mojim profesoricama, mentorici prof. dr. sc. Nikici Prvanović Babić, i komentorici, izv. prof. dr. sc. Ivi Getz. Prije svega, na prihvaćanju prijedloga teme ovog diplomskog rada, ali i za strpljenje, svaki savjet i vjetar u leđa.

## POPIS SLIKA

Slika 1. Četiri glavna razreda fitoestrogena _____	3
Slika 2. Shema spolnih organa kobile _____	6
Slika 3. "Bliskanje", karakteristični znak estrusa _____	8
Slika 4. Neurohormonalna regulacija spolnog ciklusa kobilica _____	10
Slika 5. Kemijska struktura 17 $\beta$ - estradiola, estriola i estrona _____	11
Slika 6. Strukturna građa izoflavona pronađenih u leguminozama _____	15
Slika 7. Prstasta konopljika (lat. <i>Vitex agnus- castus</i> ) _____	20
Slika 8. Kemijska građa 17 $\beta$ - estradiola i resveratrola _____	22

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA .....	2
2.1. FITOESTROGENI .....	2
2.1.1. Podjela fitoestrogena i njihovo podrijetlo .....	2
2.1.2. Povijesna primjena fitoestrogena .....	4
2.2. ANATOMSKA GRAĐA REPRODUKTIVNIH ORGANA KOBILE .....	5
2.3. SPOLNI CIKLUS KOBILA .....	7
2.3.1. Znakovi estrusa .....	8
2.4. HORMONALNA REGULACIJA SPOLNOG CIKLUSA KOBILA .....	9
2.4.1. Estrogeni .....	10
2.4.2. Kemijske osobine estrogena .....	10
2.4.3. Djelovanje estrogena i estrogeni receptori .....	11
2.5. MEHANIZAM DJELOVANJA FITOESTROGENA .....	13
2.6. UTJECAJ FITOESTROGENA IZ HRANE .....	14
2.6.1. Metabolizam i metabolički utjecaj fitoestrogena na životinjski organizam .....	14
2.6.2. Antioksidativni i imunomodulatorni učinak .....	15
2.6.3. Učinak na reproduktivne organe i funkciju .....	15
2.6.4. Utjecaj fitoestrogena na mužjake .....	16
2.7. DOSADAŠNJE SPOZNAJE O PRIMJENI FITOESTROGENA U KONJA .....	18
2.7.1. Prstasta konopljika (lat. <i>Vitex agnus-castus</i> ) .....	18
2.8. KOBILE KAO MODELI HUMANE REPRODUKCIJE .....	21
2.8.1. Utjecaj resveratrola u obliku dodatka prehrani na metaboličke i reproduktivne sposobnosti pretilih kobila .....	21
3. ZAKLJUČCI .....	27
4. LITERATURA .....	28
5. SAŽETAK .....	34

6. SUMMARY.....	35
7. ŽIVOTOPIS.....	36

## 1. UVOD

Posljednjih godina, zanimanje za alternativnim metodama terapije u humanoj, ali i veterinarskoj medicini, znatno je poraslo. Jedna od alternativnih metoda terapije jest i fitoterapija koja predstavlja medicinsku praksu utemeljenu na znanosti. Fitoestrogeni, kao što im i samo ime govori, biljne su komponente čije djelovanje oponaša ili utječe na djelovanje estrogena u tijelu, i baš zbog toga, predmet su proučavanja, posebno u humanoj medicini. Zbog svojih mogućih terapijskih svojstava, ovim spojevima potrebno je pridodati veću pažnju, posebno u smislu moguće zamjene ili dopune trenutnim terapijskim metodama. Fitoestrogeni su lako dostupni, s obzirom da se nalaze u mnogim biljkama, posebno u onima koji služe kao hrana domaćim životinjama. Najčešće se radi o leguminozama kao što su soja i crvena djetelina, ali ima ih i u drugim biljkama kao što je na primjer, lan. Zadnjih godina, u Hrvatskoj raste interes za uzgoj konja i bavljenje konjičkim sportom. Reproductivno zdravlje kobilica kao i opće zdravstveno stanje, vrlo je važan temelj za navedeno. Kobile često pate od hormonskih i metaboličkih poremećaja, koji izravno, ali i neizravno utječu na njezino reproductivno zdravlje, reproductivnu sposobnost, ponašanje i vladanje, posebno pri radu, što otežava mogućnost bavljenja sportskim aktivnostima. Terapijska primjena fitoestrogena, kao potpuna zamjena ili kao nadopuna klasičnim hormonskim terapijama, mogla bi imati brojne koristi, u smislu smanjenja mogućih nuspojava trenutnih terapija, lakše primjene i prirodnijeg utjecaja na sam organizam, ali i smanjenja troškova liječenja.

Ovaj pregledni rad pružit će uvid u dosadašnja istraživanja provedena na različitim vrstama životinja, ali i opisati primjenu fitoestrogena u veterinarskoj medicini. Dat će se pregled istraživanja koja su proučavala utjecaj fitoestrogena na reproductivno zdravlje, ponašanje, te utjecaj na opće zdravlje drugih domaćih životinja i kobilica. Cilj ovog rada ukratko je predstaviti trenutna saznanja o fitoestrogenima i njihovim mogućim terapijskim učincima na opće i reproductivno zdravlje kobilica. Cilj je potaknuti još veći interes za primjenom alternativnih terapija u veterinarskoj medicini, ali i u humanoj medicini, s obzirom da kobile mogu poslužiti kao animalni modeli za humanu reproductivnu. Fitoterapija je dio naše svakodnevice i u širokoj je upotrebi, iako toga možda i nismo uvijek svjesni. Poznavanje mehanizama djelovanja, utjecaja fitoestrogena na organizam, kao i pravilna upotreba istih, mogu značajno pridonijeti općem i reproductivnom zdravlju ovih važnih i plemenitih životinja.



## 2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

### 2.1. FITOESTROGENI

Fitoestrogeni (FE), kao što im samo ime govori, predstavljaju estrogenu slične tvari, porijeklom iz biljaka. Kemijska građa fitoestrogena pokazuje veliku sličnost sa kemijskom građom estradiola, ženskog spolnog hormona. S obzirom na sličnosti kemijske građe, mehanizmi djelovanja također im se podudaraju (GAŠPAREVIĆ-IVANEK, 2003.). Učinci fitoestrogena su dvojak, oni mogu djelovati estrogeno, ali i anestrogeno. S obzirom na ovakvo djelovanje, naslućujemo kako postoje različite skupine, ali i podskupine fitoestrogena koje djeluju putem složenih mehanizama i ispoljavaju različite učinke (ZAO i MU, 2011.). Vežući se na estrogene receptore, djeluju aktivirajući ili inaktivirajući određene gene, uz napomenu kako su im učinci manje potentni od učinaka prirodnog, endogenog estrogena. Kao sekundarni metaboliti biljaka, FE imaju ulogu u obrani tih istih biljaka od predatora, poglavito biljojeda, rezultirajući njihovom smanjenom reprodukcijom sposobnošću, osobito u muških jedinki (WYSE i sur., 2022.).

#### 2.1.1. Podjela fitoestrogena i njihovo podrijetlo

Postoje različite podjele i klasificiranja fitoestrogena, prema nekim autorima, dijele se u dvije osnovne skupine, izoflavonoide i lignane. Izoflavonoidi se dijele u dvije podskupine koje čine izoflavoni i kumestani. Izoflavonima su bogate mahunarke, osobito soja, i to sojino zrno koje je dosta zastupljeno u ishrani domaćih životinja, a od kojega se radi i brašno kao i sojine pahuljice za ljudsku konzumaciju. Od izoflavona, ganistein i daidzein su najpoznatiji. Kumestani dijele sličnost sa izoflavonima, a najčešće ih se može izolirati iz crvene djeteline i izdanaka grahorica. Jedna od aktivnih tvari kumestana jest kumestrol, koji uz genistein, u *in vitro* istraživanjima, ima najbliži učinak sa 17 β- estradiolom. Lignani čine drugi značajan izvor fitoestrogena iz skupine izoflavonoida, uglavnom se nalaze u vlaknima bogatim biljkama, i to u sjemenu biljaka, a najzastupljeniji su u sjemenkama lana (GAŠPAREVIĆ-IVANEK, 2003.).

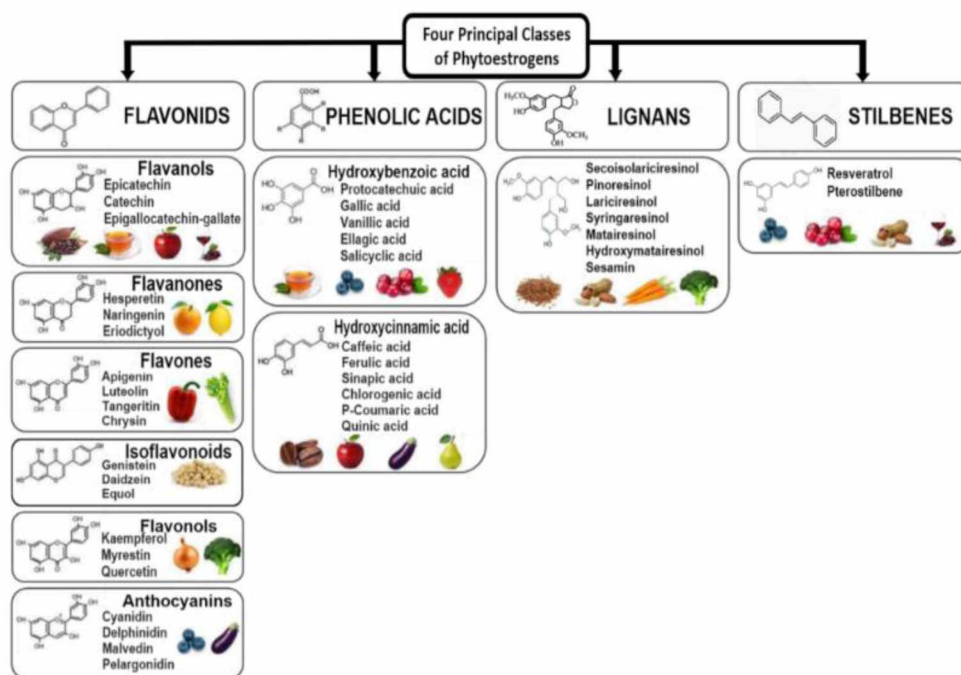
Međutim, LEPHART (2021.) ih dijeli na ova 4 osnovna razreda kako je prikazano i na slici 1:

1. Flavonoidi
2. Fenolne kiseline
3. Lignani
4. Stilbeni

Flavonoidi imaju zatim šest podrazreda, a to su flavanoli, flavanoni, flavoni, izoflavonoidi, flavonoli i antocijanini.

Fenolne kiseline imaju samo dva podrazreda, hidroksibenzojeva kiselina i hidroksicimetna kiselina.

Postoji nekoliko lignana i stilbena, međutim, najpoznatiji stilben jest resveratrol (LEPHART, 2021.).



**Slika 1.** Četiri glavna razreda fitoestrogena, njihovi podrazredi, primjeri kemijskih struktura i njihovih mogućih izvora (LEPHART, 2021.).

### 2.1.2. Povijesna primjena fitoestrogena

Fitoterapija, odnosno liječenje biljem, postoji od kada postoji i čovjek. Od samih početaka empirijske arhaične medicine, preko narodne medicine, samostanske medicine sve do današnje znanstveno potkrijepljene fitofarmacije. Kako se razvijala opća fitofarmacija kroz povijest, tako se razvijala i uže specijalizirana fitofarmacija u svrhu liječenja ženskih bolesti. U staro kineskoj medicini za liječenje ginekoloških bolesti koristio se cimet, posebno kod ginekoloških krvarenja. Cimet sadržava male količine fitoestrogena iz grupe izoflavonoida (DENNEHEY, 2006.). U Staroj Grčkoj bilo je dobro poznato djelovanje biljke konopljike, čije je djelovanje bilo anafrodizijačno, a danas se ova biljka koja sadržava apigenin, koristi u ublažavanju simptoma menopauze, liječenju kronične zdjelice boli, dizmenoreje i predmenstrualnog sindroma. U doba Srednjeg vijeka, isticala se samostanska medicina. Uz samostane su se nalazili vrtovi u kojima su se uzgajale ljekovite biljke, a imali su i ljekarne u kojima su se pripremali biljni pripravci. Predstavnica samostanske medicine bila je Sv. Hildegard iz Bingena, napisala je mnoga djela vezana uz opću fitofarmaciju, ali sa posebnim naglaskom na reproduktivno zdravlje žena (HABEK, 2020.). Odmah iza Gutenbergovog otkrića tiskarskog stroja, 1485., tiskana je prva knjiga na njemačkom jeziku, *Garten des Gesundheit*, što je predstavljalo početak renesansnog doba fitoterapije (HEINRICH, 2005.). Najpoznatiji renesansni liječnik, Paracelzus, koji je u 16-om stoljeću napisao djelo *Pharmaceutica* u kojem govori o mnogo biljaka i njihovom ljekovitom djelovanju na organizam općenito, ali i reproduktivno zdravlje. Poznato je da su žene toga doba konzumirale bazilikum, kao afrodizijak, koji ima estrogeno djelovanje, a u narodnoj medicini se koristio kao galaktogog. Današnja medicina, znanošću potkrijepljena, dokazuje kako su brojni biljni pripravci zaista djelotvorni. Biljke koje dokazano djeluju kao selektivni modulatori estrogenih receptora, pa se često koriste u svrhu olakšavanja simptoma klimakterija u žena, jesu primjerice lan i noćurak. Od drugih ljekovitih „ženskih“ biljaka, koje se već stoljećima koriste u ginekologiji i znanstveno je dokazan njihov učinak, jesu: majčina dušica (lat. *Thymus vulgaris*), stolisnik (lat. *Sempervivum tectorum*), konopljika (lat. *Vitex agnus castus*), lan (lat. *Linum usitatissimum*) i kamilica (lat. *Matricaria recuita*) (HABEK, 2020.).

## 2.2. ANATOMSKA GRAĐA REPRODUKTIVNIH ORGANA KOBILE

MAKEK i sur. (2009.) u svojoj knjizi pod nazivom *Rasplođivanje konja*, detaljno opisuju anatomsku građu spolnih organa kobile, navodeći uz građu i razlike u odnosu na druge vrste domaćih životinja. Reproductivni organi kobile, kranio-kaudalno, sastoje se od: dva jajnika (lat. *ovarium*), dva jajovoda (lat. *tuba uterina*), maternice, rodnice i stidnice, a što je prikazano na slici 2.

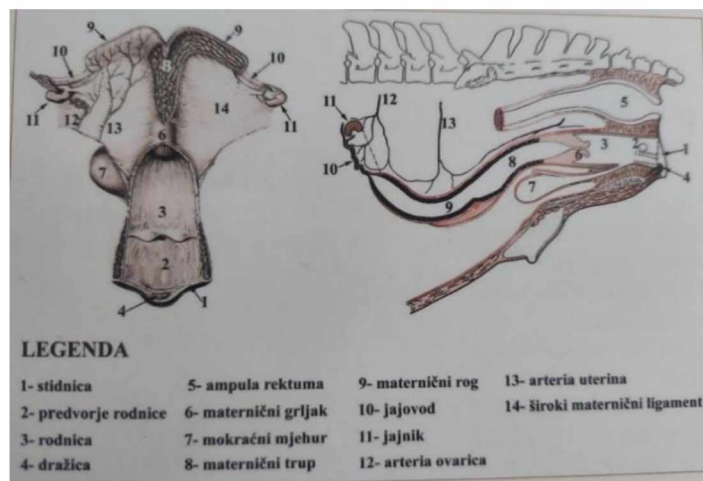
Jajnici imaju dvije funkcije, prva jest sazrijevanje i otpuštanje zrelih jajnih stanica, dok je druga funkcija proizvodnja i izlučivanje ženskih spolnih hormona (endokrina funkcija). Smještaj jajnika osigurava zaštitu ovih vitalnih reproduktivnih organa, oni se nalaze u sublumbalnom području trbušne šupljine, u ravnini sa četvrtim ili petim lumbalnim kralješkom. Kaudalno od bubrega, za otprilike udaljenost šake, i otprilike za jednaku toliku udaljenost lateralno od medijalne ravnine. Veličina i oblik jajnika su promjenjivi, u ovisnosti o fazi spolnog ciklusa. U anestrusu, jajnici su graholikog oblika dugi oko četiri i pol centimetra, široki između dva i pol i četiri centimetra. Početkom proestrusa i daljnjim napredovanjem spolnog ciklusa, veličina i oblik jajnika se mijenjaju, ovisno o razvoju cikličkih tvorbi. Drugačije od ostalih ženki domaćih životinja, u kojih jajnike prekriva samo zametni epitel, u kobila jajnike većinom prekriva peritoneum, osim na području ovulacijske jame (lat. *fossa ovarii*) koja se nalazi na slobodnom rubu jajnika. Ovulacijska jama predstavlja jedino mjesto na kojem je moguća ovulacija Graafovih folikula, odnosno zrelih jajnih stanica, za razliku od drugih domaćih životinja, kojima je ovulacija jajne stanice moguća cijelom površinom jajnika. MAKEK i sur. (2009.) ukazuju na to da ovu razliku uvjetuje različita histološka građa, u vidu koje je samo ovulacijska jama prekrivena zametnim epitelom, a ostatak peritonealnom serozom. Dakle, odmah ispod seroze nalazi se sloj krvnih žila i živaca (lat. *zona vasculosa*), mjesto u kojem nema folikula, a u središtu se nalazi zametni, odnosno germinativni sloj (lat. *zona parenchymatosa*). Zbog ovakve histološke građe, kažemo da kobile imaju takozvani inverzni tip jajnika. Različiti stadiji nezrelih folikula smješteni su po cijeloj unutrašnjosti jajnika, dok se zreliji, tercijarni folikuli razvijaju u blizini ovulacijske jame, u kojoj sazriju. Predovulacijski, Graafovi folikuli, promjera u prosjeku pet centimetara često prominiraju na površini jajnika. Za razliku od Graafovih folikula koji se mogu palpirati, žuta tijela su u samom jajniku i ne mogu se palpirati, za razliku od žutih tijela krave ili krmače.

Na jajnike se nastavlja jajovod koji je prema jajniku otvoren ljevkasto i prekriven je resicama (lat. *fimbriae ovaricae*) čija je uloga prihvat ovulirane jajne stanice. Jajovodi su tanki i zavijeni, dugi su 25 do 30 centimetara. Uloga jajovoda jest osiguravanje optimalnih uvjeta za

oplodnju i ranu fazu razvoja zametka. Jajovodi povezuju jajnike i maternicu koja je po tipu dvorožna, bez pregrade (lat. *uterus bicornis non subseptus*), zbog čega je njezina vanjska veličina jednaka unutarnjoj.

Maternica se sastoji od tri dijela, rogova (lat. *cornua uteri*), tijela (lat. *corpus uteri*) i vrata (lat. *cervix uteri*). Rogovi maternice se prema maternici podižu dorzolateralno, potpuno su smješteni u trbušnoj šupljini, dugi su 18 do 25 centimetara, širine 3 do 4 centimetra. Šupljina tijela maternice veća je s obzirom na to da se radi o maternici bez pregrade (lat. *septum*). Tijelo je dugo oko 20 centimetara, a široko oko 10 centimetara. Samo prednji dio trupa maternice, odnosno njezino dno, smješteno je na ulazu u zdjelicu. Maternicu od rodnice odvaja vrat maternice, stožastog oblika, dug oko 6,5 centimetara, širok oko 4 centimetra. Cerviks je pod utjecajem estrogenih hormona spontano otvoriti. Zbog jednostavnosti građe vrata maternice, u bilo kojoj fazi spolnog ciklusa, pa čak i u graviditetu, moguće ga je otvoriti, zbog čega treba biti osobito pažljiv pri dijagnostici ždrebnosti. U fazi estrusa, izlučuje bezbojnu rastezljivu sluz, a tijekom graviditeta, ta sluz postaje gusta, ljepljiva i sivkasta, oblikuje sluzni čep i na taj način štiti plod.

Kopulatorni organ čine rodnica (lat. *vagina*) i stidnica (lat. *vulva*). Kaudalno će rodnica prijeći u predvorje rodnice između kojih se nalazi himen, odnosno djevičanska opna. Djevičanska opna je u omica vrlo dobro razvijena, za razliku od drugih domaćih životinja. Sa predvorjem, rodnica je duga oko 30 centimetara. I konačno, vanjski spolni organ čini stidnica koju zatvaraju stidne usne (lat. *labiae vulvae*). Dorzalni spoj usana je ušiljen, a ventralni je zaobljen, za razliku od većine drugih domaćih životinja. U ventralnom spoju stidnih usana nalazi se dražica, odnosno klitoris. Središnje, na glaviću dražice, nalazi se klitoralni sinus dubine oko 1 centimetar, kraj kojega se nalaze dva manja udubljenja (MAKEK i sur., 2009.).



**Slika 2.** Shema spolnih organa kobile (MAKEK i sur., 2009.)

### 2.3. SPOLNI CIKLUS KOBILA

Osim anatomske građe reproduktivnih organa, MAKEK i sur. (2009.) detaljno opisuju i fiziologiju rasplodivanja kobila. Od samog početka spolnog sazrijevanja, preko spolnog ciklusa, obilježja spolnog ciklusa, do neurohormonalne regulacije spolnog ciklusa kobile.

Spolna zrelost omice započinje u dobi od 12 do 18 mjeseci starosti, na što veliki utjecaj ima mjesec u kojemu su se oždrijebile. MAKEK i sur. (2009.) navode kako omice koje su se oždrijebile kasno u proljeće ili početkom ljeta, sa svojim prvim estrusom započinju u njihovoj trećoj godini života, kada su stare već 24 do 28 mjeseci. Osim klimatskih uvjeta, ključni čimbenici koji će odigrati važnu ulogu i odrediti početak spolne zrelosti jesu hranidba i način držanja.

Kobile su sezonski poliestrične životinje, tjeranje se ponavlja u pravilnim vremenskim intervalima, ako naravno, nisu ostale ždrebne. Sezonska poliestričnost govori kako na njihov ciklus utjecaj ima sezona, odnosno godišnje doba, što je određeno duljinom trajanja dana. Poticaj za početkom cikličke aktivnosti jajnika uvjetovan je produžavanjem trajanja dana krajem zime i u rano proljeće. Prosječno trajanje spolnog ciklusa u većine kobila iznosi 18 do 24 dana. Ovisno o fazi, a razlikujemo ih 5, zapažamo i određene promjene u vladanju, ali i na spolnim organima.

Prva faza naziva se proestrus (lat. *prooestrus*), i u toj fazi dolazi do početka cikličkih promjena, primarno rasta i razvoja Graafovog folikula, ali i bujanja sluznice maternice. Nakon proestrusa slijedi faza estrusa, faza koja je vlasnicima, ali i ljudima koji u to vrijeme rukuju sa kobilama, najuočljivija. Znakovi tjeranja su vrlo izraženi, u toj fazi kobile dopušta skok pastuhu, odnosno spremna je za umjetno osjemenjivanje. Prosječno trajanje estrusa, na vrhuncu sezone, iznosi 5 do 6 dana, uz moguća odstupanja, od 3 do 10 dana. 24 do 36 sati prije nego kobile prestanu pokazivati znakove estrusa, doći će do ovulacije. Nakon estrusne faze, slijedi faza metestrusa, u toj fazi dolazi do razvoja periodičnog žutog tijela. Ova faza se još naziva i pregravidna faza. Slijedi diestrus, obilježen aktivnošću, odnosno cvatom žutog tijela. Ukoliko nije došlo do koncepcije, krajem ove faze, doći će do luteolize, odnosno regresije žutog tijela, ali i endometrija. Završnu fazu spolnog ciklusa predstavlja anestrus, odnosno faza mirovanja spolnih organa koja traje do ranog proljeća, odnosno novog početka spolnog ciklusa.

MAKEK i sur. (2009.) naglašavaju kako se u kliničkom smislu razlikuju samo estrus, obilježen vanjskim znakovima tjeranja, koji se naziva još i folikularna faza, i diestrus, poznat još i kao lutealna faza. Estrus, odnosno folikularna faza znakovita je zbog utjecaja estrogenih

hormona koji uzrokuju želju za parenjem, dok je diestrus dominantno pod utjecajem progesterona čija je uloga pripremanje uvjeta za prihvataj oplodene jajne stanice, odnosno zametka (MAKEK i sur., 2009.).

### 2.3.1. Znakovi estrusa

Bez prisutnosti pastuha, vjerojatnije je da kobile neće pokazivati izraženije znakove estrusa. U kobila koje su u doticaju sa pastusima, javljaju se dobro izraženi pokazatelji. Kobile su vrlo često nemirne, zbog čega je otežan rad s njima. Često prilaze pastusima, okrećući stražnji kraj prema njima, dižu rep i šire stražnje noge. U takvom stavu, kobile često čine ritmičke pokrete stidnice, „bliskaju“, kao što je prikazano na slici 3., izlažući na taj način klitoris, ali i uriniraju manje količine urina, uz kojeg se izlučuju i manje količine estrusne sluzi. Osim karakterističnog položaja tijela, ovo razdoblje obilježeno je i specifičnim izrazom lica u kobila. Dolazi do opuštanja mišića lica, blago spuštaju glavu sa ušima okrenutim na stranu. Značajan pokazatelj estrusa, u svakom slučaju jest, dopuštanje skoka pastuhu, dok će kobile u diestrusu pokušavati udariti pastuha, ispoljavat će agresivno ponašanje, i proizvoditi karakteristične zvukove kojima pokušava odbiti pastuha (CROWELL-DAVIS, 2007.).



**Slika 3.** "Bliskanje", karakteristični znak estrusa (TUCKER, 2015.)

## 2.4. HORMONALNA REGULACIJA SPOLNOG CIKLUSA KOBILA

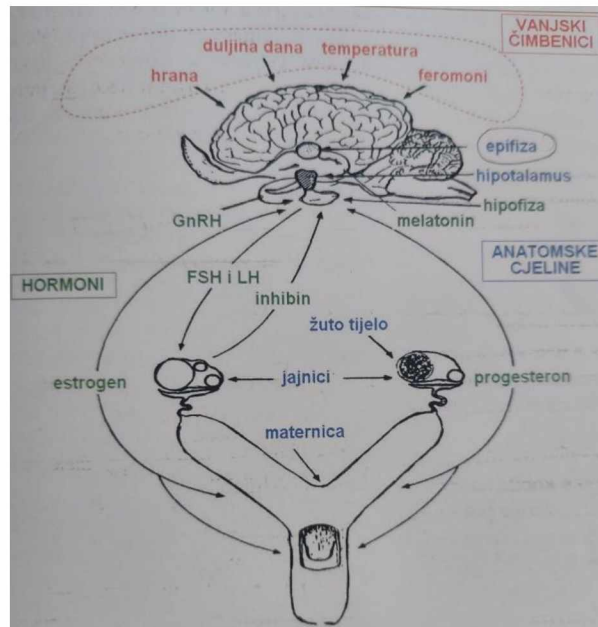
NAGY i sur. (2000) u svom radu opisuju uvjetovanost okolišnih čimbenika na spolni ciklus kobile. Početak spolnog ciklusa, odnosno cikličke aktivnosti jajnika, u kobila je, s obzirom da se radi o vrsti u koje je pojavnost spolnog ciklusa usko vezana uz godišnje doba, pod utjecajem okolišnih čimbenika, primarno duljine svjetlosnog režima, odnosno dana, ali i temperature, i ne manje važne, prehrane i kondicije. Duljina dana predstavlja najvažniji faktor koji utječe na početak cikličke aktivnosti jajnika. Važnu ulogu u cijelom procesu ima epifiza. Ona je ta koja okolišne podražaje, primarno svjetlost, pretvara u hormonske signale. Za vrijeme mraka, epifiza izlučuje melatonin (NAGY i sur., 2000). Melatonin djeluje na način da inhibira izlučivanje gonadotropnih releasing hormona, odnosno GnRH koji se izlučuju iz hipotalamusa, u periodima kada su noći dulje od dana. Produžavanjem dana, odnosno skraćivanjem noći, dolazi do slabijeg lučenja melatonina, pa samim time i do prestanka inhibiranja GnRH, i njihovog pojačanog izlučivanja. Dakle, na samom početku ove sprege, nalaze se ekstrapotalamički centri, primarno kora velikog mozga koja prima vanjske podražaje i prenosi ih gonadama, od hipotalamusa, preko hipofize, pa sve do jajnika. GnRH iz hipotalamusa koji će se izlučivati zbog okolnih čimbenika, djelovat će na hipofizu koja će početi izlučivati gonadotropne hormone koji zatim izravno djeluju na jajnike. Gonadotropni hormoni najznačajniji u regulaciji spolnog ciklusa su folikulostimulirajući hormon, FSH, i luteinizirajući hormon, odnosno LH. GnRH se izlučuje skokovito, i dok god postoji jedan skok sekrecije dnevno, kobila će biti u anestrusu. Produžavanje svjetlosnog dana, prestat će inhibicija melatonina na izlučivanje GnRH, povećat će se skokovita sekrecija istoga, i to na dva do četiri skoka dnevno, čime dolazi do oslobađanja gonadotropina FSH. Kada se GnRH počne skokovito izlučivati u razmaku od otprilike 2 sata, ili kraće, oslobađat će se LH i tada će doći do ovulacije.

FSH će na jajnicima potaknuti rast jajnih stanica i uzrokovati njihovo sazrijevanje, uz to, potaknut će i sintetiziranje estrogenih receptora, djeluje kao poticaj na aktivnost aromataze koja će androgene pretvoriti u estrogene te će potaknuti stvaranje inhibina koji povratnom spregom usporava sekreciju FSH, a u zrelom folikulu potiče stvaranje LH- receptora.

LH je ključan za potpuno dozrijevanje jajne stanice, potiče ovulaciju i stvaranje žutog tijela. Žuto tijelo će zatim izlučivati progesteron koji će inhibitorno, negativnom povratnom spregom utječe na skokovito izlučivanje LH. Progesteron je steroidni hormon kojega izlučuju transformirane granulosa stanice koje se formiraju unutar novonastale šupljine ostale nakon ovulacije folikula. One tvore žuto tijelo (lat. *corpus luteum*) koje ostaje aktivno do otprilike 14-og dana ciklusa i luči progesteron. Progesteron dominira u diestrusu, a njegova koncentracija



dostiže svoj maksimum otprilike 6 dana nakon ovulacije. Od otprilike 14-og do 16-og dana, njegova koncentracija počne naglo padati, sve do idućeg ciklusa. Razgradnjom žutog tijela pod utjecajem prostaglandina,  $\text{PGF}_2\alpha$ , završava lutealna faza ciklusa. Ovaj prostaglandin počinje izlučivati endometrij između 13. i 16. dana od ovulacije. (MAKEK i sur., 2009.). Na slici broj 4., shematski je prikazana neurohormonalna regulacija spolnog ciklusa kobilu.



**Slika 4.** Neurohormonalna regulacija spolnog ciklusa kobilu (MAKEK i sur., 2009.)

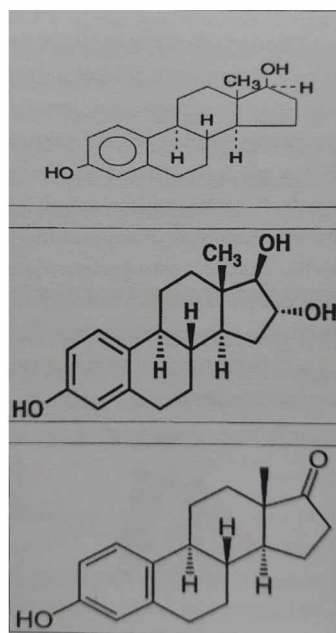
#### 2.4.1. Estrogeni

Od 6. do 10. dana koncentracija estrogena u perifernom krvotoku raste, a svoju najveću koncentraciju će dosegnuti otprilike 1 do 2 dana prije ovulacije. U obliku estradiola, estrogeni nastaju iz stanica thece interne predovulatornog folikula. Upravo su estradioli utječu na promjene u ponašanju koje su vezane uz sam estrus, ali osim na ponašanje, djeluju na mnogo toga, ponajprije na opuštanje grlića maternice, aktivnost mišićnice maternice ali u poticanje porasta luteinizirajućeg hormona (MAKEK i sur., 2009.). Kao primarno ženski spolni hormoni, estrogeni su hormoni koji utječu na razvoj ženskih spolnih organa, ali utječu i na sekundarne spolne karakteristike. Osim ovih učinaka, djeluju i na gustoću kostiju (GAMULIN, 2018.).

#### 2.4.2. Kemijske osobine estrogena

Estrogeni su steroidni hormoni sa 18 ugljikovih atoma i jednim aromatiziranim prstenom A. Biološka aktivnost hormona uvjetovana je fenolnim prstenom i hidroksilnom

skupinom na 17-om ugljikovom atomu. Ukoliko se substituenti nalaze na nekom drugom ugljikovom atomu, dolazi do smanjenja biološke aktivnosti (ČVORIŠĆEC i ČEPELAK, 2009.). Tri su osnovna prirodna estrogena, to su estron, estradiol i estriol. Njihova kemijska struktura prikazana je na slici 5. Estradiol je dominantni oblik estrogena u estrusu (ŽARAK, 2011.). S obzirom na položaj substituenta na ugljikovom atomu, estradiol je biološki najaktivniji oblik estrogena (ČVORIŠĆEC i ČEPELAK, 2009.). Najvjerojatnije jest da se 17 $\beta$ -estradiol i estron mogu međusobno pretvarati jedan u drugog. Jajnici izlučuju i jednog i drugog, a iz njih u jetri nastaje estriol, koji je, vrlo slabe biološke aktivnosti. TOMAŠKOVIĆ i suradnici u svojoj knjizi navode kako tijekom graviditeta posteljica proizvodi i do 300 puta više estrogena nego što to proizvode jajnici za vrijeme estrusa. Najvažniji hormon zaslužan za sekundarne spolne karakteristike jest 17 $\beta$ -estradiol, njega uglavnom izlučuju jajnici i žuto tijelo, a u mužjaka, u malim količinama, izlučuju ga testisi, ali i nadbubrežne žlijezde (TOMAŠKOVIĆ i sur., 2007.).



**Slika 5.** Kemijska struktura 17  $\beta$  - estradiola, estriola i estrona (SAMARDŽIJA i sur., 2010.)

### 2.4.3. Djelovanje estrogena i estrogene receptori

Estrogeni utječu na metaboličke procese, morfološke promjene, ali i na ponašanje jedinke. Primarno su oni ženski spolni hormoni, međutim, u mužjaka također imaju važnu ulogu u određenim procesima. Estrogeni značajno utječu na spolni ciklus, ali i na prenatalni razvoj ploda, posebno pri spolnoj diferencijaciji (LANGE i sur., 2003). Primarno, estrogeni djeluju reguliranjem transkripcije određenih gena koji su osjetljivi na hormonsko djelovanje, preko

staničnih receptora čija je aktivnost regulirana vezanjem tog istog steroidnog hormona za njega. Estrogeni djeluju vezanjem na dvije vrste receptora, estrogen receptor alfa ( $\alpha$ ER) i estrogen receptor beta( $\beta$ ER) (DeMAYO i sur., 2002.).  $\alpha$ ER su primarno izraženi u theca stanicama jajnika, maternici, mliječnoj žlijezdi, vagini i kostima, a u mužjaka u prostati i testisima, dok su  $\beta$ ER eksprimirani u granulosa stanicama, prostati, testisima, slezeni, mokraćnom mjehuru i plućima.

Primarno, estrogena funkcija usmjerena je na maternicu i vaginu, no postoje i druga tkiva koja sadržavaju estrogene receptore i posredstvom kojih estrogeni ispoljavaju svoj učinak, a to su mliječna žlijezda, kosti, središnji živčani sustav, masno tkivo i krvožilni sustav.

Maternica i vagina prolaze kroz cikličke promjene koje su izravno povezane sa serumskom koncentracijom estradiola. Pri odsustvu estrogena, višeslojni skvamozni epitel sluznice vagine je tanak i sastoji se od samo jednog reda stanica iznad bazalnog sloja. Na porast estrogena, ove stanice odgovaraju proliferacijom, što dovodi do porasta slojeva, ali dolazi do zadebljanja stanica širenjem njihove citoplazme i dolazi do pojačane sinteze glikogena u njima. Endometrij također prolazi kroz cikličke promjene u ovisnosti o koncentraciji serumskog estradiola. U folikularnoj fazi, endometrij zadebljava, a broj materničnih žlijezda se povećava.

Rast kostiju i povećanje njihove gustoće, povezan je sa koncentracijama estrogena i u muških i ženskih jedinki. Pri nižim koncentracijama rast i razvoj kostiju je induciran, dok pri višim koncentracijama estrogena dolazi do inhibiranja rasta kostura. Međutim, estrogeni su zaslužni i za smanjenje koštane resorpcije, pa kosti ostaju čvrste. Dakle, estrogen je ključan u postizanju optimalne gustoće kostiju, jer zadržavaju integritet kosti.

Na središnji živčani sustav, uz progesteron, estrogeni djeluju negativnom povratnom spregom inhibirajući lučenje FSH i LH iz hipofize, kao i GnRH (ALONSO i ROSENFILED, 2002.).

## 2.5. MEHANIZAM DJELOVANJA FITOESTROGENA

Kako je opisano u početku ovog diplomskog rada, fitoestrogeni su prirodne tvari, porijeklom od biljaka, a zbog svoje kemijske strukture slične estradiolu, ispoljavaju estrogene učinke. Iako imaju estrogenu djelovanje, primjena fitoestrogena u ljudi ne uzrokuje nuspojave koje bi primjena sintetskih estrogena mogla uzorkovati. Autor VIGGIANI i njegovi suradnici, u radu objavljenom 2019. godine navode kako su istraživanja diljem svijeta posljednjih 4 desetljeća dovela do spoznaje o pozitivnim učincima hrane bogate fitoestrogenima. U ljudi, fitoestrogeni se koriste u prevenciji razvoja srčanih bolesti, ali i za olakšavanje simptoma menopauze. Nekolicina istraživanja potvrdila je i pozitivan utjecaj fitoestrogena na određene tumore osjetljive na hormonalne promjene. Ovakva biološka aktivnost povezana je sa vezanjem fitoestrogena na  $\beta$ ER, koji inhibitorno djeluju na  $\alpha$ ER i učinke estrogena putem tog receptora, kao što je stimulacija proliferacije stanica (VIGGIANI i sur., 2019.).

Mehanizam bioaktivnog djelovanja fitoestrogena povezan je sa vezanjem istih na estrogene receptore (ER), a afinitet različitih skupina fitoestrogena određen je njihovom strukturalnom građom. Većina ih ima malen afinitet vezanja za ER, međutim svejedno ispoljavaju estrogene ili anestrogene učinke. Kako je u ovom radu već navedeno, estrogeni djeluju putem dva unutarstanična receptora,  $\alpha$ ER i  $\beta$ ER.  $\alpha$ ER je podtip receptora koji se primarno nalazi u tkivima mliječne žlijezde, maternice, cerviksa vagine i drugih reproduktivnih organa, dok se  $\beta$ ER podtip receptora nalaze u jajniku, slezeni, timusu, plućima, a u mužjaka u prostati i testisima (ZAO i MU, 2011.). Izoflavon genistein, na primjer, ima 20 do 30 puta veći afinitet vezanja za  $\beta$ ER, nego za  $\alpha$ ER, a oduzimanjem jedne hidroksilne skupine genisteinu, nastaje daidzein, koji ima vrlo nizak afinitet vezanja za oba estrogene receptora. Upravo taj veći afinitet za  $\beta$ ER povezan je sa odsustvom nuspojava koje se kod primjene estrogena mogu javiti. Zbog svojih učinaka na ER, fitoestrogeni se nazivaju selektivnim modulatorima estrogene receptora (VIGGIANI i sur., 2019.).

## **2.6. UTJECAJ FITOESTROGENA IZ HRANE**

Neke biljke koje se nalaze u ispaši sadrže fitoestrogene, a tu se posebno ističu različite vrste leguminoza, koje su bogate izoflavonima i kumestanima. WYSE i sur. (2022.), u svom radu opisuju utjecaj fitoestrogena na stoku koja pase na pašnjacima, a ukratko opisuju i utjecaje na konje, koji su uglavnom negativni.

Utjecaj fitoestrogena na reproduktivne sposobnosti ovih životinja, ovisi, prije svega, o duljini izloženosti, količini unesenih fitoestrogena, ali i starosti i zdravstvenom stanju životinja. U ovom radu, fitoestrogeni su opisani i kao nesteroidne komponente biljaka, koje djelujući na središnji živčani sustav, induciraju estrus. Fitoestrogeni koji su najviše proučavani jesu izoflavoni, a njihova koncentracija visoka je u leguminozama, posebno u crvenoj djetelini. Daidzein, formononetin i genistein najčešći su izoflavoni koje životinje unose putem ishrane. Genistein i daidzein, kao i estradiol, mogu imati i negativan i pozitivan utjecaj, ovisno o koncentraciji. U nižim koncentracijama mogu biti promotori rasta životinja, dok u višim koncentracijama mogu uzrokovati reproduktivne poremećaje. U usporedbi sa izoflavonima koji imaju neznatne utjecaje na estrusni ciklus, kumestani imaju veći potencijal inhibiranja estrusa, a tu se posebno ističe kumestrol kao važan sastojak leguminoza, posebno lucerne i bijele djeteline. Kumestrol se ponaša slično estradiolu, a apliciran parenteralno može spriječiti ovulaciju. Lignani, klasificirani kao neizoflavonoidi, djelovanje temelje na antioksidativnom i protuupalnom učinku (WYSE i sur., 2022.).

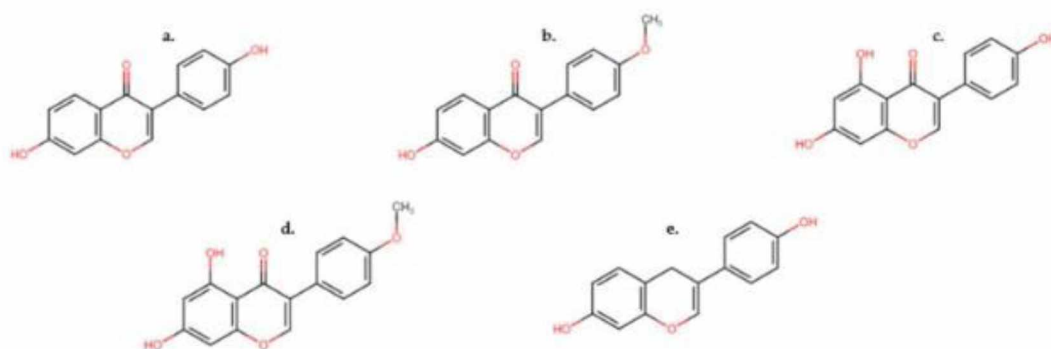
Stariji radovi upućuju na negativan utjecaj fitoestrogena na goveda, u vidu neplodnosti i estrogenizacije koja se očituje oticanjem mliječnih žlijezda, oticanjem vulve iz koje se cijedi mukozni iscjedak, i povećanjem maternice. U mnogo krava otkrivene su ciste na jajnicima, kao i poremećaji ponašanja povezani sa neredovitim ciklusima, nimfomanijom, ali i anestrijom. Takva stanja su znala potrajati tjednima i mjesecima nakon prestanka unosa fitoestrogena putem hrane, međutim, vratila se fiziološka funkcija jajnika (ADAMS, 1995.).

### **2.6.1. Metabolizam i metabolički utjecaj fitoestrogena na životinjski organizam**

Fitoestrogeni, u biljkama su primarno u obliku glikozida i nemaju estrogene učinke. Različitim procesima kao što su demetilacija, metilacija, hidroksilacija u probavnom sustavu, nastaju estrogeno-aktivni oblici. Za razliku od drugih fitoestrogena, kumestrol ima estrogeno djelovanje i prije djelovanja metaboličkih procesa na njega.

U sisavaca, fitoestrogeni se vežu na ER gdje utječu na brojne regulatorne procese. Afinitet vezanja na ER prikazanaje ovim redosljedom: 17 $\beta$  estradiol > kumestrol > genistein > equol > daidzein > biokanin A. Na slici 6., prikazana je strukturna građa izoflavona koji se najčešće mogu pronaći u leguminozama- daidzeina, formononetina, genisteina, biokanina A i equola.

Equol nastaje u buragu preživača metaboliziranjem genisteina i daidzeina (WYSE i sur., 2022.). Biokanin A je izoflavon izoliran iz crvene djeteline (WANG i sur., 2008.).



**Slika 6.** Strukturna građa izoflavona pronađenih u leguminozama, (a) daidzein, (b) formononetin, (c) genistein, (d) biokanin A, (e) equol (WYSE i sur., 2022.)

### 2.6.2. Antioksidativni i imunomodulatorni učinak

Prema istraživanjima provedenima na preživačima, fitoestrogeni imaju antioksidativni i imunomodulatorni učinak (MUSTONEN i sur., 2014.). Daidzein (izoflavon) u serumu znatno povećava koncentracije imunoglobulina G (IgG), M (IgM), i A (IgA) (ZHAO i sur., 2017.). Proučavan je i učinak daidzeina i njegovog pozitivnog učinka osovinu hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda koja je zaslužna za regulaciju reprodukcije. Iako nedovoljno proučeno, postoji i mogućnost kako daidzein stimulira proizvodnju limfocita i protutijela.

### 2.6.3. Učinak na reproduktivne organe i funkciju

Izlaganje visokoestrogenoj hrani, u kritičnim fazama razvoja, kao što je početak spolnog sazrijevanja i sazrijevanje spolnih organa, može uzrokovati nastanak komplikacija koje će imati utjecaj na kasniju reproduktivnu funkciju i reproduktivno zdravlje (CEDERROTH i sur.,

2010.). Ovisno o dozi i reproduktivnom statusu životinja, u krava, u slučaju jednog istraživanja, ovisi hoće li fitoestrogeni imati pozitivan ili negativan učinak. U krava i junica neki od negativnih učinaka fitoestrogena jesu: prolazna neplodnost, pojačano nakupljanje tekućine i povećanje maternice, nimfomanija i drugi znakovi slični onima uzrokovanim cističnim promjenama na jajnicima (WYSE i sur., 2022.). U goveda je također ustanovljeno kako izoflavoni uzrokuju „tiho tjeranje“, odnosno inhibiraju znakove estrusa ( ZDUNCZYK i sur., 2002.).

Neka istraživanja, uspoređujući krave i ovce sa kobilama, ukazuju na to da fitoestrogeni u kobila mogu uzrokovati iste negativne učinke, kao što su prolazna neplodnost, u nekim slučajevima već u 14 dana konzumacije lucerne u većim količinama. Nakon tih 14 dana u svih 8 kobila na kojima je provedeno istraživanje došlo je do izostanka ovulacije i edema maternice (SZOSTEK i sur., 2016.). FERREIRA- DIAS i sur. (2013.), u svom radu također opisuju nastanak edema maternice i izostanak ovulacije u kobila hranjenih lucernom. U oba ova slučaja, 2 do 3 tjedna nakon uklanjanja lucerne iz prehrane, jajnici su se ponovno vratili svojoj cikličkoj aktivnosti i edem maternice se povukao (SZOSTEK i sur, 2016.; FERREIRA- DIAS i sur., 2013.).

#### **2.6.4. Utjecaj fitoestrogena na mužjake**

GLOVER i ASSINDER., u svom radu iz 2006., na mužjacima štakora kao modelima, zaključuju da izloženost fitoestrogenima, posebno ekvolu i izoflavonima, u prvim danima života, može narušiti ekspresiju gena u testisima i na taj način dovesti do reproduktivnih problema u zreloj dobi. POOL i suradnici u svom istraživanju iz 2021., navode kako izoflavoni u ovnova imaju izravan utjecaj na funkciju sperme. U laboratorijskim uvjetima, pokazalo se kako su već i niže koncentracije ovih fitoestrogena povezane sa preranom kapacitacijom spermija, gubitkom akrosomalne kape i ometanjem akrosomske reakcije, a budući da je sve od navedenog ključno za oplodnju, negativno djeluje na istu (POOL i sur., 2021.).

Međutim, istraživanje na bikovima, autora MILLER, H. D., iz 2015., ukazuje na moguće pozitivne učinke fitoestrogena na plodnost bikova. Istraživanje sugerira kako fitoestrogeni mogu povećati veličinu skrotuma i testisa, kao i broj spermija, u bikova koji još nisu spolno zreli. Drugo istraživanje iz 2018., autora RUNYAN i suradnika, opisuje poboljšanje kvalitete sperme i poboljšanje tjelesne kondicije u bikova koji su kroz duže vrijeme hranjeni sojom koja je bogati izvor fitoestrogena. Međutim, autor ovog istraživanja iz 2018. navodi kako

su potrebna dodatna istraživanja kako bi se razlučilo je li taj pozitivan učinak na kvalitetu sperme bio uzrokovan fitoestrogenima ili jednostavno proteinski bogatom sojom.

MACIAS-GARCIA i suradnici, u istraživanju iz 2015., proučavali su utjecaj genisteina na spermu pastuha. Dodavanjem genisteina u spermu, *in vitro*, nisu opazili značajne promjene. Genistein također nije utjecao na motilitet ili akrosomalnu reakciju odmah, ili sat vremena nakon dodavanja u spermu. Iz ovog istraživanja, da se zaključiti kako je pozitivan utjecaj genisteina na spermu vrsno specifična pojava, a moguće da postoje i pasminske razlike s obzirom na njegov utjecaj (WYSE i sur., 2022.).



## 2.7. DOSADAŠNJE SPOZNAJE O PRIMJENI FITOESTROGENA U KONJA

Upotreba biljnih preparata u veterinarskoj medicini je u usponu, a vlasnici ih često koriste i bez preporuke veterinara. Vlasnici nalaze lako dostupne informacije o određenim biljnim preparatima, a izvori takvih informacija su upitni, kao i točnost istih. Do takvih preparata je relativno lako doći, bez potrebnog veterinarskog recepta. Veterinari se sve više educiraju o fitoterapiji, iako, postoji malo dostupnih tečajeva, pa od toga proizlazi nedostatak znanja i nesigurnost pri primjeni biljnih preparata. Osim toga, postoji vrlo malo istraživanja usko vezanih za primjenu biljnih preparata u konja, a većina dostupnih informacija temelji se na anegdotalnim primjerima.

Dosta biljnih preparata prikladno je za primjenu u konja, s obzirom da su konji biljojedi. Neka od istraživanja provedenih na drugim vrstama životinja mogu biti primjenjiva i na konje, ali svako treba uzeti u obzir vrsno specifičan utjecaj nekih biljaka.

Kako se veterinari sve više u današnje vrijeme educiraju o upotrebi biljnih preparata u terapijske svrhe, preporuka biljaka i biljnih preparata sve je češća. Biljni preparati uspješno se koriste samostalno, ali i u kombinaciji sa već poznatim, konvencionalnim preparatima (HARMAN, 2007.).

Prstasta konopljika (lat. *Vitex agnus-castus*), kamilica (lat. *Matricaria recuitita*), božur (lat. *Paeonia*), malina (lat. *Rubus idaeus*), kantarion (lat. *Hypericum perforatum*), verbena (lat. *Verbena officinalis*) i lan (lat. *Linum*) česti su sastojci preparata koji služe kao dodaci prehrani posebno za kobile. Zajedničko svim ovim biljkama jest to da u većim ili manjim količinama sadrže fitoestrogene.

Određene biljke mogu se konjima davati cijele, u neprerađenom stanju, ili im se mogu davati pojedini dijelovi biljke, prerađeni određenim postupcima, pa je tako na primjer, korjenaste biljke najbolje davati u obliku praška (HARMAN, 2007.).

### 2.7.1. Prstasta konopljika (lat. *Vitex agnus-castus*)

Ekstrakti ploda prstaste konopljike često se koriste za olakšavanje predmenstrualnih simptoma u ljudi. Ova biljka pripada porodici Verbenaceae, a naziva se još i divlji papar ili monaška konopljika. Monaška konopljika naziv je koji je ovoj biljci dodijeljen zbog upotrebe ove biljke, u obliku osušenih plodova kako bi se smanjila seksualna želja redovnika. Na slici 7., prikazano je stablo, list i cvijet prstaste konopljike. U upotrebi je više od 2500 tisuće godina,

a koristila se u Egiptu, Grčkoj, Iranu i Rimu za liječenje različitih ginekoloških problema u žena. U današnje vrijeme, s obzirom na hormonsko djelovanje, terapijska primjena ove biljke vrlo je raširena. Često se koristi za različite menstrualne probleme u žena, ali i kao antiepileptik, sedativ, antikonvulziv i antiafrodizijak. Europska agencija za lijekove odobrila je pozitivne učinke prstaste konopljike na regulaciju menstrualnog ciklusa i predmenstrualnog sindroma, kao i na mastalgiju u žena (NIROUMAND i sur., 2018.).

Iako točan mehanizam djelovanja ove biljke u kobila nije u potpunosti proučen, njezina upotreba u terapijske svrhe sve je češća, navodi DARANI (2020.) u svom članku. Upotreba u terapijske svrhe je sve češća zbog brojnih pozitivnih iskustava veterinarima i vlasnika konja koji su vidjeli pozitivne učinke pri primjeni konopljike. Danas se preparati prstaste konopljike u kobila najčešće koriste u svrhu poboljšanja vladanja i ublažavanja simptoma vezanih uz estrusno ponašanje što objašnjava članak autorice CRANDELL (2016.).

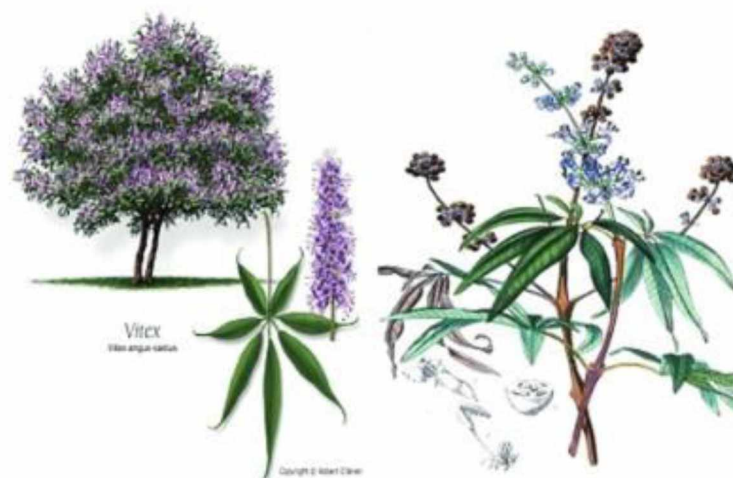
Glavne aktivne komponente prstaste konopljike su flavonoidi, skupina fitoestrogena kojoj pripadaju i izoflavonoidi, a sastoje se od kasticina, apigenina, vitexina, izovitexina i ostalih komponenti. Osim navedenih, jedna od sastavnih komponenti jest i linolenska kiselina, koja, iako ne pripada fitoestrogenima, ima moguće estrogeno djelovanje s obzirom na mogućnost vezanja na estrogene receptore (NIROUMAND i sur., 2018.).

- **Hormonalna regulacija i uravnoteženo vladanje-** DARANI (2020.) smatra kako bi istraživanje koje je provedeno na ženka miša moglo poslužiti kao model istraživanja na kobilama. Istraživanje je pokazalo kako ekstrakt konopljike stimulira dopaminske receptore oponašajući povećanu aktivnost dopaminergičkih receptora. Također, djeluje na smanjenje aktivnosti prolaktina, što rezultira povećanom proizvodnjom luteinizirajućeg hormona (LH), kao i povećanom razinom folikulostimulirajućeg hormona (FSH). Više razine FSH, uzrokuju i povećanje razine estrogena. Osim što uzrokuje porast estrogena, povećava i razinu progesterona, što dokazano ima smirujuću učinak na kobile (AHANGARPOUR, 2016.). U mužjaka miša, visoke doze ekstrakta konopljike uzrokovale su smanjenje LH, pa samim time i smanjenje testosterona (AHANGARPOUR i sur., 2016.). DARANI (2020.) također navodi kako bi ovaj zaključak mogao objasniti učinak konopljike na smanjenje agresivnosti u pastuha. Konopljiku se ne preporuča davati gravidnim kobilama, kao ni kobilama u laktaciji, zbog potencijalnih hormonalnih učinaka (HARMAN, 2002.).

Osim utjecaja na reproduktivni sustav i ponašanje, prstasta konopljika ima i druge brojne pozitivne učinke na organizam općenito. Navedeni učinci većinom su ispitani kod miševa, ali pretpostavlja se kako bi rezultati mogli biti primjenjivi i na kobile.

- **Protuupalni učinak** - u miševa, ekstrakt konopljike smanjuje upalu i bol povezanu sa upalom (RAMEZANI i sur., 2010.).
- **Antioksidativni učinak** - flavonoidi (fitoestrogena komponenta) učinkovito neutraliziraju slobodne radikale (AHANGARPOUR i sur., 2016.).
- **Smanjenje negativnih učinaka stresa na organizam** - ekstrakt konopljike uzrokuje smanjenu proizvodnju adrenokortikotropnog hormona, što može pripomoći održavanju kortizola u fiziološkim granicama (ŠOŠIĆ-JURJEVIĆ i sur., 2016.).
- **Podržava zdravlje koštanog sustava** - u kastriranih mužjaka miševa, konopljika ima osteoprotektivni učinak, što pomaže zaštititi kostiju od oštećenja ili degeneracije (SEMISCH i sur., 2009.).

**Doziranje-** DARANI (2020.) daje upute o doziranju. Odgovarajuća doza ovisi o obliku biljnog preparata, stanju konja, njegovoj tjelesnoj težini i razlogu zbog kojeg se ovakva terapija daje. Potrebno je pratiti upute o doziranju koje je naveo proizvođač. Okvirna doza, ukoliko se radi o suhoj mljevenoj prstastoj konopljici, iznosi 10 grama dnevno na 500 kg tjelesne mase konja, odnosno između 5 i 20 grama na 500 kilograma na dan. Preporuka je početi sa 5 grama dnevno sa postepenim povećanjem doze do željenog učinka.



**Slika 7.** Prstasta konopljika (lat. *Vitex agnus-castus*) (NIROUMAND i sur., 2018.)

## **2.8. KOBILE KAO MODELI HUMANE REPRODUKCIJE**

CATANDI i sur. (2024.) u svom radu opisuju metaboličke promjene folikula u kobilama, a povezane su sa njihovom pretilošću. Istraživali su utjecaj pretilosti na reproduktivno zdravlje kobilama. Pretilost u ljudi sve je češća tema i predstavlja javnozdravstveni problem. Pretilost u kobilama, slično kao u ljudi, vodi nizu metaboličkih poremećaja kao što su metabolički sindrom i inzulinska rezistencija (JOHNSON i sur., 2009.; HOLBROOK i sur., 2012.). Osim metaboličkih poremećaja, pretilost utječe i na reproduktivno zdravlje.

Ovo istraživanje ukazuje na to da kobile mogu poslužiti kao vjerodostojni modeli za istraživanje humane reprodukcije. Zbog niza sličnosti u reproduktivnoj fiziologiji, uzimajući u obzir hormonalnu signalizaciju i regulaciju ciklusa, ali i postupke umjetne inseminacije koji se rutinski provode i u kobilama i u ženama.

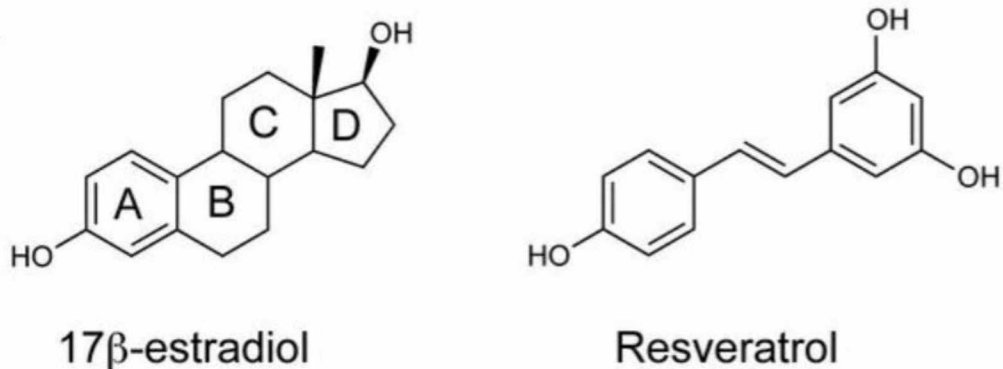
Koristeći kobile kao model istraživanja, CATANDI i sur. (2019. i 2020.), u svojim radovima opisali su negativan utjecaj starosne dobi kobile na aerobni i anaerobni metabolizam jajne stanice. U narednim istraživanjima, CATANDI i sur. (2019. i 2022.) dokazali su da određeni dodatci prehrani u starijih kobilama, imaju pozitivan učinak na poboljšanje metabolizma u jajnim stanicama i ustanovljeno je smanjeno nakupljanje lipida u jajnim stanicama.

Ovakvi rezultati ukazuju na moguće pozitivne učinke kratkotrajne primjene određenih dodataka prehrani, u vidu poboljšanja plodnosti u starijih kobilama. Osim starost, ovi autori dovode u vezu pretilost kobilama na ishod graviditeta, kao i prijenos metaboličkih bolesti na potomstvo. Ovakve promjene povezane sa pretilosti majke, vjerojatno su posljedica nagomilavanja lipida u jajnoj stanici što dovodi do mitohondrijske disfunkcije i oksidativnog stresa granulosa stanica (ANDREAS i sur., 2021.). Neka istraživanja na ljudima, glodavcima, ali i kobilama pokazuju znatne pozitivne učinke određenih dodataka prehrani na stanični metabolizam.

### **2.8.1. Utjecaj resveratrola u obliku dodatka prehrani na metaboličke i reproduktivne sposobnosti pretilih kobilama**

Resveratrol je polifenolni derivat stilbena, jednog od razreda fitoestrogena. Nalazi se u kožici crvenog grožđa, vinu, jabukama, kikirikiju, borovnicama i brusnicama. Vjeruje se kako ovaj spoj ima izrazito kardioprotektivno djelovanje. Nekoliko istraživanja otkrilo je kako ljudi koji umjereno konzumiraju vino, imaju manju incidenciju pojave srčanih bolesti, u odnosu na one koji prekomjerno konzumiraju alkohol, pa tako i vino, ali i one koji ga uopće ne

konzumiraju (KOHLHASS, 2013.). Slika 8. prikazuje kemijske građe 17 $\beta$ - estradiola i resveratrola.



**Slika 8.** Kemijska građa 17  $\beta$  - estradiola i resveratrola (NWACHUKWU i sur., 2014.)

Japanski dvornik (lat. *Polygonum cuspidatum*), biljka koja u velikim koncentracijama sadrži resveratrol, prvi put je otkrivena među japanskim znanstvenicima početkom 80-tih godina prošlog stoljeća. Ova biljka je korištena u tradicionalnoj japanskoj medicini za liječenje različitih medicinskih stanja, kao što su gljivične infekcije, različiti dermatitisi, bolesti jetre, srca i hematološke bolesti (WENZEL i SOMOZA, 2005.).

Resveratrol ima brojne pozitivne biološke učinke (CUCCIOLLA i sur., 2007.):

- antioksidativni učinak
- protuupalni učinak
- estrogene učinke

LAGOUGE i sur. (2006.), u svom istraživanju na miševima, opisuju značajno smanjenje postotka tjelesne masti, ali i smanjenje epididimalnog, ingvinalnog i retroperitonealnog masnog tkiva nakon terapije resveratrolom. U nešto novijem istraživanju, također je, nakon tretmana resveratrolom, uočeno smanjenje tjelesne mase, visceralne masnoće, vrijednosti triglicerida, slobodnih masnih kiselina i glukoze u krvi, u usporedbi sa kontrolnom skupinom miševa koji nisu bili u terapiji (KIM i sur., 2011.).

Terapija resveratrolom, također je pokazala moguće pozitivne učinke u ljudi sa dijabetesom. Pozitivni učinci rezultat su zaštite  $\beta$ -stanica gušterače inhibicijom proupalnih citokina koji oštećuju ove stanice (LEE i sur., 2012.).

Iako je provedeno dosta istraživanja kako bi se razumjeli farmakološki i terapijski učinci ovog spoja, utjecaj na reproduktivnu sposobnost nije još u potpunosti poznat

(KOHLHAAS, 2013.). Dosadašnja istraživanja otkrivaju potencijalnu terapijsku primjenu kod sindroma policističnih jajnika u žena. *In vivo*, na kulturi stanica jajnika, otkriveno je inhibicijsko djelovanje resveratrola na rast stanica jajnika, preko smanjivanja međudjelovanja između αER i receptora za inzulinu sličan faktor rasta- 1 (IGF-1) (KANG i CHOI, 2012.). U istraživanju provedenom na nepretelim, spolno nezrelim miševima, terapija resveratrolom se očitovala u vidu zadebljanja endometrija (SINGH, 2011.), što može ukazivati na potencijalan pozitivan utjecaj na plodnost i graviditet (KOHLHAAS, 2013.).

S obzirom na to da je resveratrol fitoestrogen, može utjecati na transkripciju gena u tkivima osjetljivim na estrogen, kao što je endometrij maternice. Ovisno o omjeru fitoestrogena i estrogena u organizmu, učinak resveratrola bit će estrogen ili antiestrogen. Interakcija resveratrola i estrogena u ljudi će dominantno dovesti do antiestrogenih učinaka, dok će, zanimljivo, u ovaca, prevladati estrogeni učinci (KOHLHAAS, 2013.).

Istraživanja u konjogojstvu usmjerena su na bolje razumijevanje protuupalnih učinaka resveratrola, posebno u konja, odnosno kobilu starije dobi. Od posebnog značaja mogao bi biti i potencijalan učinak resveratrola na toleranciju glukoze, kao i osjetljivost na inzulin (ZAMBITO, 2011.).

KOHLHAAS (2013.), istražuje utjecaj resveratrola na metaboličko i reproduktivno zdravlje kobilu. Ciljevi ovog istraživanja bili su:

- 1) Procijeniti učinke resveratrola na parametre metaboličkog zdravlja u pretilih kobilu.
- 2) Procijeniti učinke resveratrola na reproduktivno zdravlje u pretilih kobilu.

Autorica je postavila hipotezu koja pretpostavlja da će oralna suplementacija resveratrolom pozitivno utjecati na metaboličke parametre, uz istovremeno poboljšanje reproduktivnog zdravlja, odnosno plodnosti. Za istraživanje su odabrane zdrave kobile, lakih pasmina, njih 21. Podijeljene u dvije skupine. Prvu skupinu činilo je njih 14, a one su smještene na 12 hektara mješovitog pašnjaka kojeg su činile livadna trava i bijela djetelina, imale su neograničen pristup hrani, vodi i skloništu. Ostalih 7 kobilu koje čine drugu skupinu, smjestili su u ispast od 2 hektara, sa neograničenim pristupom vodi i skloništu, a hranjene su livadnim sijenom kako bi zadržale odgovarajući indeks tjelesne kondicije (engl. *body condition score-BCS*) koji je iznosio  $5.5 \pm 0.5$  BCS. Zbog zdravstvenih razloga, 4 kobile su isključene prije početka istraživanja.

KOHLHASS (2013.) naglašava kako prijašnja istraživanja na nekim sisavcima, uključujući i ljude, resveratrol smatraju sigurnim za upotrebu.

Mjerenjem indeksa tjelesne kondicije, pretile kobile svrstane u su u 3 skupine. Prvu skupinu činile su kobile čiji je BCS  $7.4 \pm 0.3$ . U istraživanju ovo je bila kontrolna skupina pretelih kobila i bilo ih je 5. U drugoj skupini bilo ih je 5 i to je bila pretila skupina kobila čiji je BCS iznosio  $7.4 \pm 0.2$ , a davalo im se 5 grama resveratrola dnevno. Treću skupinu činile su nepretile kobile, točnije njih 5, također su bile kontrolna skupina, odnosno negativna kontrola, a njihov BCS iznosio je  $5.4 \pm 0.1$ .

Resveratrol se oralno aplicirao kobilama u obliku paste, a aplikacije je započela na dan ovulacije nakon izlaska iz zimskog anestrusa. Aplikacija resveratrola trajala je kroz 3 estrusna ciklusa. Za procjenu učinaka resveratrola na metaboličko zdravlje u ovih kobila, pratili su 3 pokazatelja metaboličke funkcije: morfometrijska mjerenja, toleranciju glukoze i cirkulirajuće biomarkere.

Morfometrijska mjerenja obuhvaćala su tjelesnu težinu, BCS, opseg vrata, visina, duljina i opseg tijela i debljina potkožnog masnog tkiva. Mjere su uzete prije početka istraživanja, na dan 6-8 i dan 19 svakog estrusnog ciklusa, dok su tjelesna težina i BCS mjereni i procjenjivani na tjednoj bazi kako bi se osigurao nepromjenjiv BCS. Tolerancija na glukozu pratila se testom tolerancije glukoze iz venske krvi, prije početka suplementacije i na dan 6-8 trećeg estrusnog ciklusa.

Od cirkulirajućih biomarkera, promatrani su TNF- $\alpha$  (engl. *tumor necrosis factor- alfa*) i IL-10 (engl. *interleukin- 10*). Uzorci krvi uzimani su na dan 6-8 i dan 19 svakog ciklusa. Kobile su ostale zdrave tijekom cijelog istraživanja, bez negativnih nuspojava kao posljedica suplementacije.

Za procjenu učinaka resveratrola na reproduktivnu sposobnost u pretelih kobila, pratili su se razlike u folikularnoj dinamici i koncentraciji steroidnih hormona, između kontrolne skupine i skupine suplementirane resveratrolom. Za uvođenje kobila u estrus apliciran im je pripravak progesterona sa kontroliranim otpuštanjem, dva puta, u razmaku od tjedan dana. Pratila se duljina svakog ciklusa, trajanje estrusa, najveći promjer žutog tijela i najveći promjer Graafovog folikula. Za praćenje koncentracija spolnih hormona, uzorci krvi prikupljali su se svaki drugi dan, sva 3 ciklusa.

Rezultati ovog istraživanja na žalost nisu potvrdili postavljenu hipotezu. Prema rezultatima istraživanja, nije bilo značajnih promjena u rezultatima morfometrijskih mjerenja u skupine suplementirane resveratrolom. Analiza testova tolerancije na glukozu također nije pokazala značajan utjecaj resveratrola, a koncentracije cirkulirajućih biomarkera, TNF- $\alpha$  i IL-

10, nisu se značajno promijenile. Što se tiče promatranih reproduktivnih parametara, također nisu zabilježene značajne razlike.

Autorica ovog istraživanja (KOHLHAAS, 2013.) navodi nekoliko mogućih razloga zbog kojih rezultati ovog istraživanja nisu opravdali postavljenu hipotezu. Navodi kako je postojala mogućnost pogrešaka u prikupljanju podataka, vezano uz razlike stručnosti osoba koje su radile ultrazvučne preglede. Također, razlike u dobi kobila i datumima zadnjeg ždrijebljenja mogle su otežati procjenu učinka na reproduktivne parametre. Također navodi kako nije provedena analiza sezonskih razlika u sastavu pašnjaka. Promjene u sastavu pašnjaka opisali su brojni drugi autori i potrebno ih je uzeti u obzir prilikom tumačenja rezultata istraživanja poput ovog.

SON i sur. (2023.) u svom radu opisuju promjene nutritivnih vrijednosti, ali i promjene u opterećenju pašnjaka različitim tvarima kao što su mikotoksini, pesticidi i fitoestrogeni u periodu proljeća i ljeta. Rezultati ovog istraživanja ukazuju na važnost upravljanja pašnjacima za konje, s obzirom da su u većini slučajeva baš oni glavina ishrane konja. Varijacije u sastavu pašnjaka, kao i u opterećenju određenim toksinima i biljnim metabolitima u različitim mjesecima, sugerira upotrebu pašnjaka za određene kategorije konja, u različitim periodima. Pa tako na primjer u ranoj fazi rasta biljaka, dakle u proljeće, pašnjaci obiluju leguminozama, veća je koncentracija sirovih bjelančevina, pa je ispaša u tom periodu pogodna za konje u razvoju i kobile u laktaciji. Međutim, više razine fitoestrogena u ovom periodu, porijeklom iz leguminoza, mogu i negativno utjecati na reproduktivno zdravlje.

KOHLHAAS (2013.) kao mogući nedostatak istraživanja navodi i nedostatke u kontroli unosa hrane u skupina koje su hranu uzimale *ad libitum*, odnosno bez ograničenja. Također, navodi kako nije provedena analiza koncentracije resveratrola u hrani koju su kobile konzumirale. Iako u ovom istraživanju nije dokazan utjecaj terapijske primjene resveratrola na metaboličke i reproduktivne parametre u kobila, potencijalne učinke još uvijek treba istraživati. S obzirom na to da su trenutno najviše istraživani učinci resveratrola na staničnoj razini, postoje znatna ograničenja u istraživanjima kao što je ovo, a koncentrirana su na procjenu parametara na razini cijelog organizma.

Jedan od tržišno najzanimljivijih učinaka resveratrola u drugih vrsta, jest njegova mogućnost da smanji postotak tjelesne masti, oponašajući učinke kalorijske restrikcije, bez podvrgavanja jedinke fizičkim mjerama za smanjenje tjelesne težine (KOHLHAAS, 2013.). Ova karakteristika bi posebno bila pogodna za liječenje gravidnih pretilih kobila sa pridruženom inzulinskom rezistencijom, a istovremeno povećanim energetske zahtjevima



zbog razvoja ploda (GEORGE i sur., 2011.). S obzirom na to da su istraživanja pokazala negativne učinke restrikcije hrane u graviditetu (OUSEY i sur., 2008.), ovakav učinak resveratrola vrijedan je daljnjeg proučavanja u svrhu terapijske primjene u gravidnih pretilih kobilu, zbog potencijalnih pozitivnih učinaka na metaboličko zdravlje, a istovremeno, bez negativnog utjecaja na održavanje graviditeta (KOHLHAAS, 2013.).

### 3. ZAKLJUČCI

1. Učinkovitost fitoestrogena - istraživanja su pokazala kako fitoestrogeni imaju značajan potencijal u terapijskoj primjeni u kobila, s naglaskom na potrebu za daljnjim istraživanjima.
2. Poboljšanje hormonalne ravnoteže i općeg zdravstvenog stanja - terapijska primjena fitoestrogena pomaže uspostavljanju hormonalne ravnoteže u kobila, što izravno doprinosi boljem općem zdravstvenom statusu i vitalnosti.
3. Protuupalni učinak - ovo je jedan od važnijih učinaka fitoestrogena, zbog toga su pogodni za terapiju različitih upalnih stanja u kobila.
4. Jednostavnost i sigurnost primjene - zbog jednostavnosti primjene, terapiju kobilama mogu davati i sami vlasnici, uz upute veterinara, bez opasnosti od moguće kontaminacije preparatima. Većinom se koriste praškasti oblici koji se po posebnom režimu dodaju u hranu.
5. Potreba za istraživanjima dugoročnih učinaka fitoestrogena - posebno bi bilo važno proučiti moguće međudjelovanje fitoestrogena i drugih lijekova, kao i dugoročne učinke na organizam konja.
6. Bez velikih negativnih učinaka - za razliku od sintetskih preparata koji se koriste u svrhu hormonske terapije, nuspojave primjene fitostrogena su minimalne, ili ih nema.

#### 4. LITERATURA

ADAMS N. R. (1995): Detection of Effects of Phytoestrogens on Sheep and Cattle. *J. Anim. Sci.* 73, 1509-1515.

AHANGARPOUR A., S.A. NAJIMI, Y. FARBOOD (2016): Effects of *Vitex agnus-castus* fruit on sex hormones and antioxidant indices in a D-galactose-induced aging female mouse model. *J. Chin. Med. Assoc.*, 79(11), 589-596, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcma.2016.05.006>

ALONSO L. C., R. L. ROSENFELD (2002): Oestrogens and puberty. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, Vol. 16, No. 1, 13-30.

ANDREAS, E., Y.E. WINSTANLEY, R.L.E. ROBKER , R. L. E (2021): Effect of obesity on the ovarian follicular environment and developmental competence of the oocyte. *Curr. Opin. Endocr. Metab. Res.* 18, 152–158.

CATANDI G.D., K.J. FRESA, M.H. CHENG, L.A., WHITCOMB, C.D. BROECKLING, T.W. CHEN, A.J. CHICCO, E.M. CARNEVALE (2024): Follicular metabolic alterations are associated with obesity in mares and can be mitigated by dietary supplementation. *Scientific reports* 14(1): 7571, [Internet], >raspoloživo na: [10.1038/s41598-024-58323-0](https://doi.org/10.1038/s41598-024-58323-0)

CATANDI, G., Y. OBEIDAT, A. CHICCO, T. CHEN, E. CARNEVALE (2019): Basal and maximal oxygen consumption of oocytes from young and old mares. *Reprod. Fertil. Dev.* 31, 208–208.

CATANDI, G., Y. OBEIDAT, A. CHICCO, T. CHEIN, E. CARNECALE (2020): Effects of maternal age on oxygen consumption of oocytes and in vitro-produced equine embryos. *Reprod. Fertil. Dev.* 32, 175–175.

CATANDI, G., Y. OBEIDAT, A. CHICCO, T. CHEIN, E. CARNEVALE (2022): Oocyte metabolic function, lipid composition, and developmental potential are altered by diet in older mares. *Reproduction.* 163, 183–198.

CEDERROTH C. R., J. AUGER, C. ZIMMERMANN. F. EUSTACHE, S. NEF (2010): Soy, phyto-oestrogens and male reproductive function: a review. *Int. J. Androl.*, 33 (2), 304-316.

CRANDELL, K. (2016): Chasteberry For Mare Behavior?. *Kentucky Equine Research*, [Internet], >raspoloživo na: <https://ker.com/equinews/chasteberry-mare-behavior/>

CROWELL- DAVIS, S. (2007): Sexual behavior of mares. ScienceDirect, Horm. Behav., 52, 12-17.

CUCCIOLLA, V., A. BORRIELLO, A. OLIVA, P. GALLETTI, V. ZAPPIA, F. DELLA RAGIONE (2007): Resveratrol: from basic science to the clinic. Cell Cycle, 6, 2495-2510.

ČVORIŠĆEC, D., I. ČEPELAK (2009): Štrausova medicinska biokemija, Medicinska naklada, Zagreb.

DARANI P. (2020): 5 Research-Backed Benefits of Chasteberry in Horses. MadBarn, [Internet], > raspoloživo na <https://madbarn.com/chasteberry-benefits-for-horses/> [5. travnja 2024.].

DEMAYO, F. J., B. ZHAO, N. TAKAMOTO, S. Y. TSAI (2002): Mechanisms of Action of Estrogen and Progesterone. Ann. N. Y. Acad. Sci., 955 (1), 48-59.

DENNEHEY, C. (2006): The Use of Herbs and Dietary Supplements in Gynecology: An Evidence-Based Review. J. Midwifery Womens Health, 51(6), 402–409.

FERREIRA- DIAS G., M. BOTELHO, A. ZAGRAJCZUK, M. R. REBORDAO, A. M. GALVAO, P. PINTO BRAVO, K. PIOTROWSKA- TOMALA, A. Z. SZOSTEK, W. WICZKOWSKI, M. PISKULA, M. J. FRADINHO, D. J. SKARZYNSKI (2013): Coumestrol and its metabolite in mares' plasma after ingestion of phytoestrogen-rich plants: Potent endocrine disruptors inducing infertility. Theriogenology, 80, 684-692.

GAMULIN, E. (2018): Biokemijski mehanizmi sinteze spolnih hormona u domaćih životinja. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Zagreb, Hrvatska.

GAŠPAREVIĆ- IVANEK, V. (2003): Fitoestrogeni. Medix 9, 90-94.

GEORGE, L. A., W. B. STANIAR, T. A. CUBITT, K. H. TREIBER, P. A. HARRIS, and R. J. GEOR (2011): Evaluation of the effects of pregnancy on insulin sensitivity, insulin secretion, and glucose dynamics in Thoroughbred mares. Am. J. Vet. Res., 72, 666-674.

GLOVER A., S. J. ASSINDER (2006): Acute exposure of adult male rats to dietary phytoestrogens reduces fecundity and alters epididymal steroid hormone receptor expression. J. Endocrinol. , 189(3), 565-573.

HABEK, D. (2020): Kratki povijesni osvrt na fitoterapiju u ginekologiji. Acta Med Croatica, 74, 65-68.

HARMAN J.C. (2007): Herbal Medicine in Equine Practice, Chapter 21, str. 411-439., Veterinary Clinical Uses of Medicinal Plants, 11830 Westline Industrial Drive St. Louis, Missouri 63146.

HEINRICH, M., J. KUFER, M. LEONTI (2005): Ethnobotanik und Pharmaziegeschichte - gemeinsame Herausforderungen und Aufgaben. Zeitsch. Phytother.; 26: 2.

HOLBROOK, T. C., T. TIPTON, D. McFARLANE (2012): Neutrophil and cytokine dysregulation in hyperinsulinemic obese horses. Vet. Immunol. Immunopathol. 145, 283–289. [https:// doi.org/10.1038/s41598-024-58323-0](https://doi.org/10.1038/s41598-024-58323-0)

JOHNSON, P. J., C.E. WIEDMEYER, N.T. MESSER, V.J. GANJAM (2009): Medical implications of obesity in horses—Lessons for human obesity. J. Diabetes Sci. Technol. 3, 163–174.

KANG, N., H., K.C. CHOI. (2012): Resveratrol, a natural food compound, suppressed the cell growth of BG-1 ovarian cancer cell induced by 17 $\beta$ -estradiol or bisphenol a through downregulating estrogen receptor  $\alpha$  and insulin-like growth factor-1 receptor. Reprod. Fertil. Dev., 25, 245.

KIM, S., Y. JIN, Y. CHOI, and T. PARK (2011): Resveratrol exerts anti-obesity effects via mechanism involving down-regulation of adipogenic and inflammatory processes in mice. Biochem. Pharmacol, 81, 1341-1351.

KOHLHAAS, K.S. (2013): Effects of resveratrol supplementation on metabolic health and reproductive performance in obese mares on pasture. Thesis submitted to the faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science In Animal and Poultry Sciences. Blacksburg, VA.

LAGOUGE, M., C. ARGMANN, Z. GERHART- HINES, H. MEZIANE, C. LERIN, F. DAUSSIN, N. MESSADEA, J. MILNE, P. LAMBERT, P. ELLIOT, B. GENY, M. LOAKSO, P. PULGSERVEN, J. AUWERX (2006): Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 (alpha). Cell, 127, 1109-1122.

LANGE, I. G., A. HARTEL, H. H. D. MEYER (2002): Evolution of oestrogen functions in vertebrates. J. Steroid Biochem. & Mol. Biol. 83 (2003), 219- 226.

- LEE, Y., K. JI-WON, E. LEE, Y. AHN, K. SONG, K. YOON, H. KIM, C. PARK, G. LI, Z. LIU, S. KO (2012): Chronic resveratrol treatment protects pancreatic islets against oxidative stress in db/db mice. *PLoS One.*, 11, 1-8.
- LEPHART, E.D., (2021): Phytoestrogens (Resveratrol and Equol) for Estrogen-Deficient Skin—Controversies/Misinformation versus Anti-Aging In Vitro and Clinical Evidence via Nutraceutical-Cosmetics. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, 22, 11218. <https://doi.org/10.3390/ijms222011218>
- MACIAS- GARCIA B., T. GUIMARAES, G. LOPES, A. ROCHA, L. GONZALEZ-FERNANDEZ (2015): Effect of genistein addition to equine sperm freezing extender. *J. Hellenic Vet. Med. Soc* (2018), 66(4), 241–248.
- MAKEK, Z., I. GETZ, N. PRVANOVIĆ, A. TOMAŠKOVIĆ, J. GRIZELJ (2009): Rasplodivanje konja. Veterinarski fakultet, Zagreb.
- MILLER, H.D. (2015): Effects of Isoflavones on the Spermatogenesis of Prepuberal Bovine Bulls. Master's Thesis, Angelo State University, San Angelo, TX, USA.
- MUSTONEN, E., S. TAPONEN, M. ANDERSSON, A. SUKURA, T. KATILA, J. TAPONEN (2014): Fertility and growth of nulliparous ewes after feeding red clover silage with high phyto-oestrogen concentrations. *Animal* 2014, 8, 1699–1705.
- NAGY, S., D. GUILLAUME, P. DAELS (2000): Seasonality in mares. *Anim. Reprod. Sci.*, Vol. 60-61, str. 245-262.
- NIROUMAND M.C., F. HEYDARPOUR, M.H. FARZAEI (2018): Pharmacological and Therapeutic Effects of *Vitex agnus-castus* L.: A Review. *Phcog Rev*, 12, 103-14.
- NWACHUKWU, J.C., S. SRINIVASAN, N.E. BRUNO, A.A. PARENT, T.S. HUGES, J.A. POLLOCK, O. GJYSHI, V. CAVETT, J. NOWAK, R.D. GARCIA-ORDONEZ, R. HOUTMAN, P.R. GRIFFIN, D.J. KOJETIN, J.A. KATZENELLENBOGEN, M.D. CONKRIGHT, K.W. NETTLES (2014): Resveratrol modulates the inflammatory response via an estrogen receptor- signal integration network, *eLife*, 3. <https://doi.org/10.7554/eLife.02057>
- OUSEY, J. C., A. L. FOWDEN, S. WISHER, and W. R. ALLEN (2008): The effects of maternal health and body condition on the endocrine responses of neonatal foals. *Equine Vet. J.*, 40, 673-679.

POOL K.R., T.C. KENT, D. BLACHE (2021): Oestrogenic metabolite equol negatively impacts the functionality of ram spermatozoa in vitro. *Theriogenology*

RAMEZANI M., GH. AMIN, E. JALILI (2010): Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of Hydroalcohol Extract of *Vitex agnus castus* Fruit. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 40, 624-626.

RUNYAN, C.A., S.C. YURRITA, J.W. DICKISON, M.W. SALISBURY (2018): Evaluation of age of dam and phytoestrogens on growth and semen quality measures in yearling bulls. *J. Anim. Sci.*, 96, 62.

SAMARDŽIJA, M., D. ĐURIČIĆ, T. DOBRANIĆ, M. HERAK, S. VINCE (2010): Rasplodivanje ovaca i koza. *Veterinarski fakultet, Zagreb*.

SEMISCH S., J. BOECKHOFF, J. WILLE, D. SEIDLOVA- WUTTKE, T. RACK, M.TEZVAL, , W. WUTTKE, K.M. STUERMER, E.K. STUERMER (2009): *Vitex agnus castus* as Prophylaxis for Osteopenia after Orchidectomy in Rats Compared with Estradiol and Testosterone Supplementation. *Phytother. Res.* 23, 851–858. DOI: 10.1002/ptr

SINGH M., S. PARENT, V. LEBLANC, E. ASSELIN (2011): Resveratrol modulates the expression of PTGS2 and cellular proliferation in the normal rat endometrium in an Akt-dependent manner. *Biol. Reprod.*, 84, 1045-1052.

SON, V., F. PENAGOS-TABARES, M. HOLLMANN, R. KHIAOSA-ARD, M. SULYOK, R. KRŠKA, Q. ZEBELI (2023): Changes in the nutrient profile and the load of mycotoxins, phytoestrogens, and pesticides in horse pastures during spring and summer in Austria. *J. Equine Vet. Sci.* Vol. 131, 104958. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2023.104958>

SZOSTEK A. Z., A. SADOWSKA, K. K. PIOTROWSKA- TOMALA, M. BOTELHO, M. J. FRADINHO, M. R. REBORDAO, G. M.- DIAS, D. J. SKARZYNSKI (2016): The Effect of Coumestrol on Progesterone and Prostaglandin Production in the Mare: In Vitro and In Vivo Studies. *Biol. Reprod.*, 95(3), 69 , 1–9.

ŠOŠIĆ- JURJEVIĆ B., V. AJDŽANOVIĆ , B. FILIPOVIĆ, S. TRIFUNOVIĆ, I. JARIĆ, N. RISTIĆ, V. MILOŠEVIĆ (2016): Functional morphology of pituitary -thyroid and -adrenocortical axes in middle-aged male rats treated with *Vitex agnus castus* essential oil. *Acta Histochemica*, Volume 118, Issue 7, 736-745. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2016.07.007>

- TOMAŠKOVIĆ, A., Z. MAKEK, T. DOBRANIĆ, M. SAMARDŽIJA (2007): Rasplodivanje krava i junica. Veterinarski fakultet, Zagreb.
- TUCKER, G. (2015): The Estrous Cycle. The Horse's Advocate, [Internet], >raspoloživo na: <https://www.thehorsesadvocate.com/horse-mare-estrous-cycle/>
- VIGGIANI M. T., L. POLIMENO, A. DI LEO, M. BARONE (2019): Phytoestrogens: Dietary Intake, Bioavailability, and Protective Mechanisms against Colorectal Neoproliferative Lesions. *Nutrients*, 11(8), 1709. <https://doi.org/10.3390/nu11081709>
- WANG Y., W. M. GHO, F. L. CHAN, S. CHEN, L. K. LEUNG (2008): The red clover (*Trifolium pratense*) isoflavone biochanin A inhibits aromatase activity and expression. *Br. J. Nutr.*, 99 (02). <https://doi.org/10.1017/S0007114507811974>
- WENZEL, E., V. SOMOZA (2005): Review: Metabolism and bioavailability of trans-resveratrol. *Mol. Nutr. Food Res.*, 49, 472-481.
- WYSE, J., S. LATIF, S. GURUSINGHE, J. MCCORMICK, L.A. WESTON, C.P. STEPHEN (2022): Phytoestrogens: A Review of Their Impacts on Reproductive Physiology and Other Effects upon Grazing Livestock. *Animal* 2022, 12, 2709. <https://doi.org/10.3390/ani12192709>
- ZAMBITO, J. L. (2011): Effects of resveratrol supplementation on glycemic response and oxidant status in moderately exercised mature quarter horse geldings. Masters Thesis. West Virginia Univ., Morgantown.
- ZDUNCZYK S., E. S. MWAANGA, J. MALECKI-TEPICHT, W. BARANSKI, T. JANOWSKI (2002): Plasma progesterone levels and clinical findings in dairy cows with post-partum anoestrus. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.*, 46, 79-86.
- ZHAO Y., H. X. ZHENG, Y. XU, N. LIN (2017): Research progress in phytoestrogens of traditional Chinese medicine. *Materia Medica*, 42(18), 3474-3487.
- ZHAO, E., Q. MU (2011) Phytoestrogen Biological Actions on Mammalian Reproductive System and Cancer Growth. *Sci. Pharm.* 79, 1–20.
- ŽARAK M. (2011): Utjecaj estrogena na rak dojke. Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno- matematički fakultet, Biološki odsjek, Zagreb, Hrvatska.



## 5. SAŽETAK

### TERAPIJSKA PRIMJENA FITOESTROGENA U KOBILA

Ivana Perić

Fitoestrogeni su estrogenima slične tvari biljnog porijekla. Kemijskom strukturom nalikuju endogenom estradiolu, pa zbog toga imaju slične mehanizme djelovanja, uz manje potentan učinak. Relativno oskudan broj istraživanja proučava primjenu u terapijske svrhe, iako postoje istraživanja na temelju kojih se može zaključiti o njihovim pozitivnim učincima. Fitoestrogeni se mogu koristiti kao potporna terapija za kontrolu ciklusa kod temperamentnih kobila u sportu, kao zamjena ili kao dopuna gestagenima. Zbog sve češće primjene fitoestrogena i takozvanih bioidentičnih hormona u humanoj medicini, kao nadomjesna terapija u postmenopauzi, a čiji je učinak još uvijek predmet istraživanja, smatra se da rezultati dobiveni na kobilama, mogu poslužiti kao animalni modeli za humanu reprodukciju. Osim pozitivnih učinaka na reproduktivno zdravlje, terapijska primjena fitoestrogena donosi brojne, potencijalne dobrobiti i na opće zdravlje. Izrazito protuupalno, imunomodularno i osteoprotektivno djelovanje, samo su od nekih istraženih i potvrđenih učinaka ovih biljnih spojeva. Neophodno je provoditi daljnja istraživanja, posebice o dugoročnim učincima fitoestrogena na organizam, kao i o interakcijama fitoestrogena i drugih lijekova. Brojni pozitivni učinci, jednostavnost, ali i sigurnost primjene fitoestrogena, prirodna zamjena sintetskim preparatima, činjenice su koje fitoestrogene čine atraktivnim izborom u terapijskoj primjeni. Međutim, primjena fitoestrogena preporučljiva je isključivo uz konzultaciju sa veterinarom.

Ključne riječi: fitoestrogeni,estrogeni, hormonalna ravnoteža, nadomjesna terapija, pozitivni učinci fitoestrogena

## 6. SUMMARY

### THERAPEUTIC APPLICATION OF PHYTOESTROGENS IN MARES

Ivana Perić

Phytoestrogens are plant-derived substances similar to estrogens. Their chemical structure resembles endogenous estradiol, which is why they have similar mechanisms of action, but with a less potent effect. Relatively few studies explore their therapeutic application, although existing research suggests positive effects. Phytoestrogens can be used as supportive therapy for cycle control in temperamental sport mares, either as a replacement or supplement to gestagens. Due to the increasing use of phytoestrogens and so-called bioidentical hormones in human medicine as replacement therapy in postmenopausal women, whose effects are still under investigation, it is considered that results obtained in mares could serve as animal models for human reproduction. Besides positive effects on reproductive health, the therapeutic application of phytoestrogens brings numerous potential benefits to general health. Their pronounced anti-inflammatory, immunomodulatory, and osteoprotective effects are just some of the researched and confirmed impacts of these plant compounds. It is essential to conduct further research, especially on the long-term effects of phytoestrogens on the organism, as well as on the interactions between phytoestrogens and other drugs. Numerous positive effects, simplicity, and safety of phytoestrogen application, as well as their natural substitution for synthetic preparations, make phytoestrogens an attractive choice in therapeutic use. However, the use of phytoestrogens is recommended exclusively in consultation with a veterinarian.

Keywords: phytoestrogens, estrogens, hormonal balance, replacement therapy, positive effects of phytoestrogens

## 7. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 6. lipnja 1998., u Osijeku. Osnovnu školu završila sam u Laslovu, a nakon završetka iste, upisujem Poljoprivrednu i veterinarsku školu u Osijeku, smjer veterinarski tehničar. Praktičnu nastavu u srednjoj školi obavljala sam u veterinarskoj ambulanti Ernestinovo, a svojevrijedno sam odradila i više od obavezne satnice praktične nastave. Maturirala sam i obranila završni rad na temu „Klinički pregled goveda“, sa odličnim uspjehom, 2017. godine, kada i upisujem Veterinarski fakultet u Zagrebu. Sve godine studija, upisivala sam kao redovan student. Na petoj godini studija, odabirem smjer „Farmske životinje i konji“. Stručnu praksu na šestoj godini fakulteta, odradujem u veterinarskoj stanici Đakovo, gdje većinu vremena provodim na terenu, uključujući i ergelu, a ostatak provodim u stanici učeći o liječenju malih životinja. Od osnovne škole, pa kroz cijelu srednju školu, aktivno sam se bavila jahanjem, a još od „malih nogu“ gajim posebnu ljubav prema konjima, posebno lipicanskoj pasmini.