

# Stanični i humoralni mehanizmi nastanka rupture prednjih križnih ligamenata u pasa

---

Vinter, 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:178:828309>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-13**



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*

DIPLOMSKI RAD

Ivana Vinter

Stanični i humoralni mehanizmi nastanka rupture  
prednjih križnih ligamenata u pasa

Zagreb, 2024.

Ivana Vinter

Klinika za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Predstojnik: prof. dr. sc. Dražen Vnuk, redoviti profesor u trajnom izboru

Mentor: izv. prof. dr. sc. Ozren Smolec

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Ivan Folnožić
2. prof. dr. sc. Mario Kreszinger
3. izv. prof. dr. sc. Ozren Smolec
4. doc. dr. sc. Marija Lipar (zamjena)

Rad sadržava 51 stranicu, 11 slika, 60 literaturnih navoda.

## ZAHVALA

Iako je kraj studija ponekad djelovao kao iščekivanje Godota, uz pomoć dragih ljudi konačno sam ovdje.

Iskreno zahvaljujem svojim roditeljima i baki na bezuvjetnoj ljubavi, podršci i razumijevanju koje su mi pružili tijekom studiranja. Hvala vam što ste uvijek vjerovali u mene, bili uz mene kroz sve izazove te svojim nesebičnim zalaganjem i odricanjem omogućili mi da ostvarim svoje ciljeve. Vaša pomoć i podrška su me neprestano motivirali, a vaša prisutnost bila je moj najveći oslonac. Ova postignuća ne bih mogla ostvariti bez vas, i zauvijek ću vam biti zahvalna na svemu.

Također, zahvaljujem mojem zaručniku Ivanu na podršci, ohrabrenju i razumijevanju. Hvala ti što si uvijek znao kad je vrijeme za pauzu uz kavu. Zahvaljujem i najboljoj prijateljici Marleni, kao i svim ostalim prijateljima i kolegama koji su sa mnom dijelili radosti, izazove i trenutke opuštanja. Vaša vjera u mene pomogla mi je da ne odustanem i uspješno završim ovo poglavlje života.

Od srca zahvaljujem svome mentoru, izv. prof. dr. sc. Ozrenu Smolecu, na stručnom vođenju, podršci i korisnim savjetima tijekom izrade ovog diplomskog rada. Njegova predanost i volja da podijeli svoje znanje dali su ovom radu dodatnu vrijednost. Hvala mu što je vjerovao u mene i pomagao mi da rastem, ne samo kao studentica, već i kao osoba.

*Mama, tata, Maks, ovo je za vas.*

## POPIS PRILOGA

Slika 1. Kranijalni (A) i kaudalni (B) prikaz koljenog zgloba u pasa .....	3
Slika 2. Kaudolateralni prikaz ligamenata i meniskusa lijevog koljenog zgloba psa.....	4
Slika 3. Kaudalni prikaz vaskularne opskrbe koljenog zgloba u pasa.....	9
Slika 4. Inervacija koljenog zgloba u pasa. (A) medijalna strana, (B) lateralna strana.....	10
Slika 5. Konformacija koljenog zgloba i nefiziološka konformacija koljenog zgloba s kranijalnim pomakom tibije .....	12
Slika 6. Humoralni imunološki odgovor u pasa s bolesti križnog ligamenta .....	24
Slika 7. Stanični imunološkog odgovora u pasa s bolesti križnog ligamenta.....	26
Slika 8. Shematski prikaz pozicije infrapatelarnog masnog jastučića.....	35
Slika 9. Prikaz izvođenja testa prednje ladice .....	38
Slika 10. Osteotomija niveliranja tibijalne ploče.....	39
Slika 11. Kranijalizacija goljениčne kvрге.....	40

## KRATICE

FGF – (engl. *fibroblast growth factor*), čimbenik rasta fibroblasta

Ig – imunoglobulin

IGF – (engl. *insulin-like growth factor*), inzulinu sličan čimbenik rasta

IGFBP – (engl. *insulin-like growth factor-binding protein*), inzulinu sličan čimbenik rasta-vezujući protein

IL – interleukin

m. – (lat. *musculus*), mišić

MMP – (engl. *matrix metalloproteinases*), matriksne metaloproteinaze

n. – (lat. *nervus*), živac

NMES – (engl. *neuromuscular electrical stimulation*), neuromuskularna električna stimulacija

OA – osteoartritis

PGE2 – prostaglandin E2

RA – reumatoidni artritis

TENS – (engl. *transcutaneous electrical nerve stimulation*), transkutana električna stimulacija živaca

Th – (engl. *T helper cells*), T pomoćničke stanice

TGF- $\beta$  – (engl. *transforming growth factor  $\beta$* ), transformacijski čimbenik rasta  $\beta$

TIMP – (engl. *tissue inhibitors of metalloproteinases*), tkivni inhibitori metaloproteinaza

TNF- $\alpha$  – (engl. *tumor necrosis factor*), čimbenik nekroze tumora

TPLO – (engl. *tibial plateau leveling osteotomy*), osteotomija niveliranja tibijalne ploče

TRAP – (engl. *tartrate-resistant acid phosphatase*), alkalna fosfataza otporna na tartarat

TTA – (engl. *tibial tuberosity advancement*), kranijalizacija goljenične kvrge

TTO – (engl. *triple tibial osteotomy*), trostruka tibijalna osteotomija

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. ANATOMIJA KOLJENOG ZGLOBA .....</b>	<b>3</b>
2.1. Anatomija snopova vlakana .....	5
2.2. Funkcionalna anatomija .....	5
2.3. Mikroanatomija i ultrastrukture .....	7
2.4. Mikrovaskularna opskrba .....	9
2.5. Inervacija .....	10
<b>3. PATOGENEZA BOLESTI KRANIJALNIH KRIŽNIH LIGAMENATA ..</b>	<b>12</b>
3.1. Biomehanika koljenog zgloba .....	15
3.2. Etiopatogeneza .....	17
3.3. Predisponirajući čimbenici .....	18
3.3.1. Pasmina i tjelesna težina .....	19
3.3.2. Starost .....	19
3.3.3. Spol .....	20
3.3.4. Genetika .....	20
3.3.5. Deformacije koljena .....	21
3.3.6. Traumatske ozljede .....	21
<b>4. IMUNOPATOLOŠKI MEHANIZMI RUPTURA PREDNJIH KRIŽNIH LIGAMENATA .....</b>	<b>23</b>
4.1. Humoralno posredovan imunološki odgovor .....	24
4.2. Stanično posredovan imunološki odgovor .....	25
<b>5. CITOKINI I UPALA ZGLOBOVA .....</b>	<b>28</b>
5.1. Proupalni citokini .....	28
5.2. Protuupalni citokini .....	30
5.3. Citokini uključeni u Th1 i Th2 diferencijaciju .....	30
<b>6. IMUNOREGULATORNI MEHANIZMI .....</b>	<b>31</b>

6.1.	Inhibitori citokina.....	31
6.2.	Čimbenici rasta.....	31
<b>7.</b>	<b>PROTEOLITIČKA RAZGRADNJA TKIVA.....</b>	<b>33</b>
<b>8.</b>	<b>ULOGA INFRAPATELARNOG MASNOG JASTUČIĆA .....</b>	<b>35</b>
<b>9.</b>	<b>KLINIČKI PRISTUP PSIMA S BOLESTIMA KRIŽNIH LIGAMENATA</b>	<b>38</b>
	<b>38</b>	
9.1.	Ortopedski pregled .....	38
9.2.	Liječenje bolesti kranijalnih križnih ligamenata .....	39
9.3.	Postoperativni pristup i procjena bolesti kranijalnih križnih ligamenata .....	40
<b>10.</b>	<b>ZAKLJUČAK.....</b>	<b>43</b>
<b>11.</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>44</b>
<b>12.</b>	<b>SAŽETAK.....</b>	<b>49</b>
<b>13.</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>50</b>
<b>14.</b>	<b>ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>51</b>



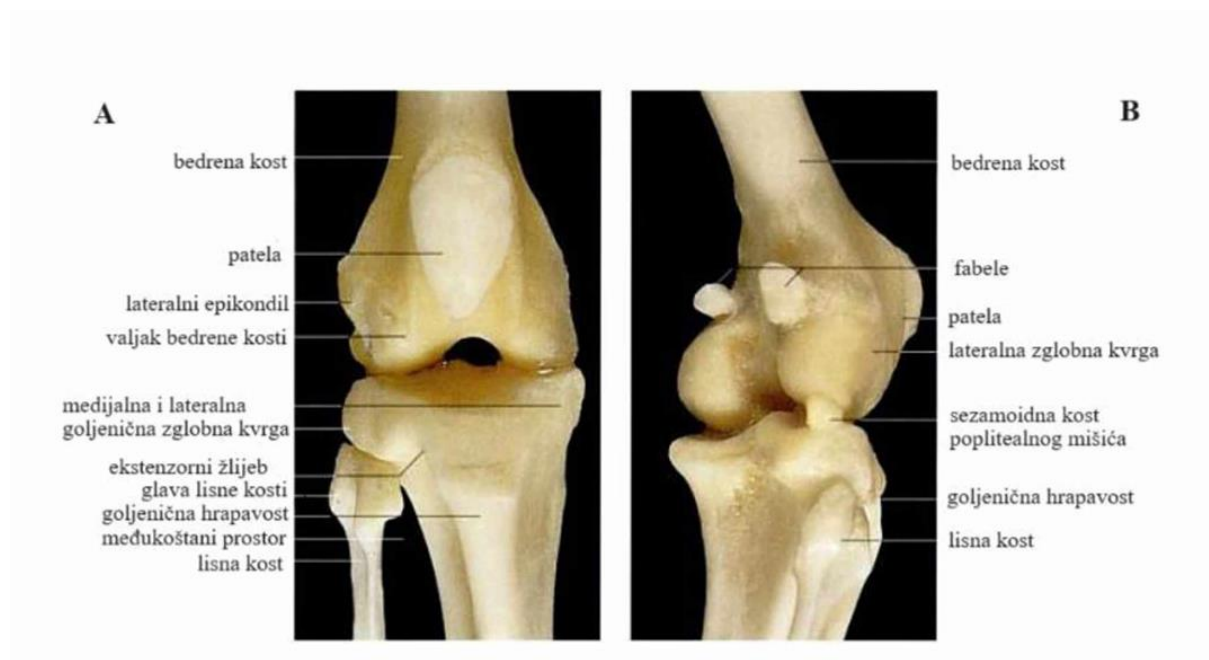
## 1. UVOD

Bolesti križnih ligamenata, osobito kranijalnih križnih ligamenata, predstavljaju jednu od najčešćih ortopedskih patologija u pasa. Ove ozljede značajno remete stabilnosti koljenog zgloba, što rezultira značajnom boli i smanjenom funkcionalnošću zgloba. Ruptura kranijalnog križnog ligamenta dovodi do biomehaničkih promjena koje izazivaju nestabilnost zgloba, povećano trenje među zglobnim površinama, te ubrzan razvoj osteoartritisa. Upravo iz tih razloga, pravovremena dijagnostika i primjena odgovarajuće terapije od iznimne su važnosti kako bi se spriječile dugoročne posljedice. Koljeni zglob pasa jedan je od najkompleksnijih zglobova tijela, čiji pravilan rad ovisi o integritetu svih njegovih dijelova. Strukturalne karakteristike ligamenata i njihova funkcionalna anatomija omogućuju zglobu da podnosi i pravilno raspoređuje sile koje nastaju tijekom kretanja. Ruptura križnog ligamenta uvelike utječe na tu ravnotežu, a uzroci ove ozljede mogu biti različiti – od biomehaničkih do imunoloških čimbenika. Patogeneza bolesti kranijalnih križnih ligamenata je složena i uključuje brojne mehanizme. Biomehanika koljena značajno se mijenja nakon ozljede, a deformacije zgloba i abnormalne sile koje djeluju na strukture unutar koljena dodatno pogoršavaju kliničku sliku. Osim mehaničkih čimbenika, važno je razumijeti i etiopatogenezu bolesti, kao i predisponirajuće čimbenike koji utječu na rizik od rupture. Određene pasmine pasa, poput labradora, retrievera i rotvajlera, genetski su predisponirane za razvoj ove patologije, dok tjelesna težina i starost također imaju važnu ulogu. Osim biomehaničkih aspekata, sve više se istražuju i imunopatološki mehanizmi uključeni u razvoj i progresiju rupture križnih ligamenata. Križni ligamenti nisu samo pasivne strukture koje stabiliziraju zglob, već su i metabolički aktivna tkiva koja sudjeluju u različitim imunološkim reakcijama. Oštećenje ligamenta može potaknuti lokalni imunološki odgovor koji uključuje aktivaciju različitih imunoloških stanica i proizvodnju proupalnih citokina, što dovodi do kronične upale zgloba. Citokini, kao ključni posrednici upale, imaju središnju ulogu u regulaciji imunoloških odgovora u zglobovima zahvaćenim rupturom kranijalnih križnih ligamenata. Ravnoteža između proupalnih i protuupalnih citokina od presudne je važnosti za kontrolu upale i sprječavanje daljnje razgradnje tkiva. Neravnoteža ovih molekula može dovesti do prekomjerne degeneracije zglobnog tkiva, što značajno otežava proces zacjeljivanja i potiče razvoj sekundarnih komplikacija poput osteoartritisa. Osim citokina, proteolitička razgradnja tkiva i uloga infrapatelarnog masnog jastučića sve su češće predmet istraživanja u kontekstu bolesti križnih ligamenata. Proteolitički enzimi, poput metaloproteinaza, potiču razgradnju kolagenih vlakana, dok infrapatelarni masni jastučić može djelovati kao važan izvor proupalnih čimbenika u

zglobu. Ove komponente igraju značajnu ulogu u kroničnom upalnom procesu i degenerativnim promjenama koje prate rupture kranijalnih križnih ligamenata. Konačno, klinički pristup psima s bolestima križnih ligamenata zahtijeva sveobuhvatan ortopedski pregled i procjenu stanja, kako bi se odabrao najprikladniji terapijski plan. Ortopedski pregled uključuje procjenu hoda, palpaciju zgloba i izvođenje specifičnih testova za otkrivanje nestabilnosti zgloba. Liječenje može biti konzervativno ili kirurško, ovisno o težini ozljede, a postoperativna rehabilitacija ključna je za vraćanje funkcionalnosti zgloba i sprječavanje razvoja daljnjih komplikacija.

## 2. ANATOMIJA KOLJENOG ZGLOBA

Koljeni zglob (lat. *articulatio genus*) složeni je inkongruentni i nepotpuno valjkasti zglob koji nastaje artikulacijom distalnog femura, proksimalne tibije i patele (Slika 1). Čine ga femorotibijalni (lat. *articulatio femorotibialis*) i femoropatelni zglob (lat. *articulatio femoropatellaris*).



Slika 1. Kranijalni (A) i kaudalni (B) prikaz koljenog zgloba u pasa  
(izvor: KÖNIG I LIEBICH, 2009.)

Zbog anatomske značajke, kao i biomehaničkih svojstava spada u najsloženije zglobove. Kako bi se premostila nepodudarnost zglobnih površina, između kondila femura i tibije nalaze se menisci (Slika 2) kao polumjesečasti umeci vezivne hrskavice, čija gibljivost omogućava da konkavno zglobno tijelo prati konveksno zglobno tijelo (KÖNIG i LIEBICH, 2009.).



Slika 2. Kaudolateralni prikaz ligamenata i meniskusa lijevog koljenog zgloba psa

(izvor: KÖNIG i LIEBICH, 2009.)

Vrlo važne zglobne strukture koje ovako kompleksnom, a iznimno važnom zglobu daju kraniokaudalnu stabilnost, su ligamenti. U ligamente koljena ubrajaju se: lateralni i medijalni kolateralni ligamenti, kranijalni i kaudalni križni ligamenti te kosi zakoljeni ligament. Križni su ligamenti pozicionirani u interkondilarnoj jami femura. Kranijalni križni ligament proteže se od interkondilarnog područja lateralnog bedrenog kondila do centralnog interkondilarnog područja tibije, dok se kaudalni križni ligament proteže od interkondilarnog područja medijalnog bedrenog kondila do poplitealnog usjeka tibije. Uloga ovih ligamenata je čvrsto povezivanje femura i tibije, a morfološki i funkcionalno spadaju u dinamičke strukture. Zbog svojeg ukriženog smještaja ovi su ligamenti u ranijoj medicinskoj literaturi nazvani križnim ligamentima. Križni ligamenti, zajedno s masnim tkivom, gotovo potpuno ispunjavaju distalne femoralne interkondilarne prostore, pri čemu se i kranijalni i kaudalni križni ligament prihvaćaju na interkondilarno područje tibije (EVANS i CHRISTENSEN, 1979.). Križni ligamenti svojim anatomskim i prostornim položajem, omogućavaju kraniokaudalnu i aksijalnu stabilnost koljenog zgloba u čitavom rasponu kretnji. Kranijalni križni ligament ujedno je i najranjiviji ali i najvažniji ligament koljenog zgloba. Anatomija, fiziologija i biomehanika kranijalnog križnog ligamenta minimalno se razlikuju između vrsta. Za samu dijagnostiku, kao i tretiranje rupture križnih ligamenata, neophodno je temeljito poznavanje anatomije koljenog zgloba kao i anatomije samih križnih ligamenata.

## 2.1. Anatomija snopova vlakana

Križni ligamenti nisu građeni u formi jednostrukih konfiguracija kolagenih vlakana, već se, i u ljudi i u pasa, radi o isprepletenim vlaknima. S obzirom na vlastita vezna mjesta, pseći se kranijalni i kaudalni križni ligamenti dijele u dvije funkcionalne komponente. Kranijalni križni ligament počinje na lateralnom dijelu femoralnog kondila nakon čega se proteže dijagonalno preko zglobnog prostora i prihvaća se na kranijalnom dijelu interkondilarnog područja tibijalnog platoa. Kranijalni se križni ligament kreće spiralno kranijalno, medijalno i distalno, povijajući se prema van dok prolazi od femura do tibije tvoreći pritom dva odvojena svežnja. S obzirom na mjesto pričvršćivanja na tibijalnu ploču ovi se dijelovi nazivaju kraniomedijalni i kaudolateralni. Kraniomedijalni dio složeniji je i duži, a polazi proksimalno s bedrene kosti i pričvršćuje se na kranijalnom tibijalnom dijelu. Vlakna kaudolateralne komponente imaju ravniji smjer. Ona potječu iz najlateralnijeg područja pričvršćivanja lateralnog femoralnog kondila a vežu se na najkaudalniji dio tibijalnog područja pričvršćivanja (HEFFRON i CAMPBELL, 1978.). Vezna mjesta ovih komponenti kranijalnog križnog ligamenata izravno utječu na njihovo opuštanje i zatezanje prilikom rotacija koje su dio normalnog funkcionalnog raspona pokreta koljenog zgloba. Prilikom ekstenzije koljenog zgloba, duga se os kranijalnog križnog ligamenta ravna s dugom osi bedrene kosti dok su pritom femoralni spojevi i kraniomedijalne i kaudolateralne komponente zategnute i gotovo okomite na zglobnu površinu. S druge strane, prilikom fleksije koljenog zgloba, kraniomedijalna komponenta kranijalnog križnog ligamenta se zakrivljuje i uvija oko kaudolateralne komponente, a femoralno se vezno mjesto pomiče distalno i kaudalno. Promjene vezane uz vezna mjesta na femuru prilikom fleksije izravno djeluju na povećanje napetosti kraniomedijalne komponente. Na jednak se način objašnjava i opuštanje vlakana kaudolateralne komponente, s obzirom da se koštana vezna mjesta približavaju u fleksiji koljena, što kaudolateralnu komponentu čini opuštenijom u fleksiji. Kaudalni je križni ligament nešto duži i deblji u odnosu na kranijalni križni ligament te se također sastoji od dvije komponente čije su funkcije isto tako recipročne pri različitim kutovima fleksije, u ovisnosti o mjestu pričvršćivanja (HARARI, 1993.). Slično kao i kod kranijalnog križnog ligamenta, kranijalna je komponenta napeta u fleksiji dok u ekstenziji ona labavi, a za kaudalnu komponentu vrijedi obrnuto.

## 2.2. Funkcionalna anatomija

Funkciju koljena upotpunjuje statička potpora koju pružaju koštane i mišićno-tetivne strukture meniskusa i ligamenata dok stabilnosti zgloba pridonose i mišićne sile (KORVICK i sur., 1993.). Specifične funkcije križnih ligamenata proizlaze iz njihovog anatomskeg položaja.

Iako se glavne funkcije drugih intra i periartikularnih struktura i ligamenata razlikuju od onih koje imaju križni ligamenti, njihova je uloga u ograničavanju kretnji koljenog zgloba u različitim ravninama, sinergistička. Kranijalni križni ligament stabilizira učinak tibije na femur tijekom čitavog opsega kretnji, stvaranjem otpora silama koje bi uzrokovale kranijalni pomak tibije u odnosu na femur kao i, u manjoj mjeri, stvaranjem otpora silama koje bi uzrokovale tibijalnu rotaciju tijekom fleksije koljenog zgloba (SLOCUM i DEVINE., 1998.). Kod pasa obje komponente križnih ligamenata djeluju neovisno i drugačije. Svaka promjena kuta zgloba utječe na napetost vlakana te dok su neka vlakna opterećena, druga nisu. Ova značajka omogućuje kranijalnom križnom ligamentu izdržljivost prilikom naprezanja u različitim osima normalnog opsega kretnji. U ovisnosti o kutu fleksije varira i udio zajedničkog doprinosa podnošenju različitog opterećenja. Kod koljena koje je u ekstenziji, čitav kranijalni križni ligament je napet prilikom čega obje komponente ograničavaju kranijalni pomak tibije u odnosu na femur. Uslijed ovakvog sinergističkog djelovanja, izolirane lezije pojedinih dijelova kranijalnog križnog ligamenta ne moraju nužno uzrokovati nastanak klinički vidljive nestabilnosti. U usporedbi s ljudskim koljenom, kod pasa je najveća ekstenzija koljena daleko manja od 180 stupnjeva. Tijekom cijelog raspona kretnji, kranio-medijalna je komponenta napeta i ima glavnu ulogu u stabilizaciji koljenog zgloba. S druge strane, opuštenu kaudolateralnu komponentu vrlo slabo ograničava jednosmjerno kranijalno provođenje sila, štoviše, pridonosi isključivo u slučaju oštećenja ili istegnuća kranio-medijalnog pojasa (WINGFIELD i sur., 2000.). Ostale zglobne strukture, u manjoj mjeri utječu na kranio-kaudalnu stabilnost prilikom fleksije. Kako se koljeno flektira, tako se i križni ligamenti spiralno omotavaju jedan oko drugog. Prilikom većeg naprezanja ligamenata ograničava se mogućnost unutarnje rotacije tibije u odnosu na femur. Nasuprot tome, prilikom ekstenzije koljena lateralni kolateralni ligament se steže, a lateralni se kondil femura pomiče kranijalno, što uzrokuje vanjsku rotaciju tibije. Tijekom ekstenzije, medijalni i lateralni kolateralni ligamenti ograničavaju rotaciju (HULSE i SHIRES, 1985.). Kod pasa, križni ligamenti nemaju ograničavajući učinak na vanjske rotacije. Prilikom vanjskih rotacija tibije križni ligamenti počinju se odmotavati uz prateće smanjenje napetosti. Također, kod pasa se aksijalna tibijalna rotacija koljenog zgloba povezuje s varus-valgus rotacijom. Kod stabilnog koljenog zgloba kolateralni ligamenti predstavljaju primarne strukture koje utječu na bočna ograničenja prilikom ograničene pokretljivosti zgloba te pritom oni dijele svoju funkciju s ostalim pripadajućim zglobnim strukturama i ligamentima. Zajednička uloga križnih ligamenata očituje se u ograničavanju varus i valgus luksacija/angulacija. Opterećenje ovih ligamenata tijekom medijalnog i lateralnog otvaranja zglobnog prostora povećava se u ovisnosti o stupnju fleksije,

s obzirom da se kolateralni ligamenti opuštaju kako se koljeno flektira (MONAHAN i sur., 1984.). Kako kod ljudi, tako i kod pasa, križni ligamenti preuzimaju primarnu ulogu u slučajevima gubitka potpore kolateralnih ligamenata. Kod ljudi, u punoj hiperekstenziji, križni ligamenti samostalno mogu zaustaviti otvaranje zgloba. Pri djelovanju varus sila, kranijalni križni ligament mora se oduprijeti silama većim od onih kojima se odupire kaudalni križni ligament, iako su ove sile puno slabije u odnosu na one kojima su podložni lateralni kolateralni ligamenti. Prekomjernu ekstenziju sprječava napetost križnih ligamenata, prilikom čega kranijalni križni ligament djeluje kao ograničenje sa svojim komponentama koje su zategnute u punoj ekstenziji. S obzirom da kaudolateralna komponenta trpi najveću napetost u ekstenziji, ona čini glavni čimbenik u ograničavanju hiperekstenzije dok se kaudalna komponenta može smatrati samo čimbenikom sekundarnog ograničavanja. Pojava hiperfleksije koljena uglavnom je ograničena uslijed kontakta bedrenih mišića i *m. gastrocnemiusa*. Tijekom normalnog stava, kut koljenog zgloba u pasa iznosi 140 stupnjeva. Zavijenost križnih ligamenata pritom sprječava kolaps koljenog zgloba tijekom stajanja. Kontrakcija kvadricepsa pri ovakvom kutu fleksije uzrokovala bi kranijalnu tibijalnu luksaciju, no intaktni kranijalni križni ligamenti to sprječavaju. Kranijalnom dijelu koljenog zgloba odgovarajuću potporu pružaju mišići i tetiva patele, dok kaudalnom dijelu dodatnu potporu pružaju *m. poplitealis*, mišići stražnje lože i *m. gastrocnemius*. Stabilizaciji zglobova doprinosi sinergistička kompresija zgloba i rad mišića. Kranijalni križni ligament rezervni je mehanizam koji ne podliježe naprezanju dok se kranijalnom tibijalnom potisku suprotstavlja kaudalno povlačenje *m. biceps femorisa* i skupine mišića stražnje lože (SLOCUM i DEVINE, 1988.). Samo u iznimnim slučajevima, kada su aktivne sile ovih mišića nedovoljne za sprječavanje kranijalnog pomaka tibije, kranijalni će križni ligament omogućiti pasivno zadržavanje. Međutim, ovakva savršena ravnoteža ne postoji uvijek. U usporedbi s kranijalnim križnim ligamentom, važnost kaudalnog križnog ligamenta pri stabilizaciji koljenog zgloba daleko je manja te se prevencija kaudalnog pomaka tibije čini jedinom primarnom ulogom ovog ligamenta.

### 2.3. Mikroanatomija i ultrastrukture

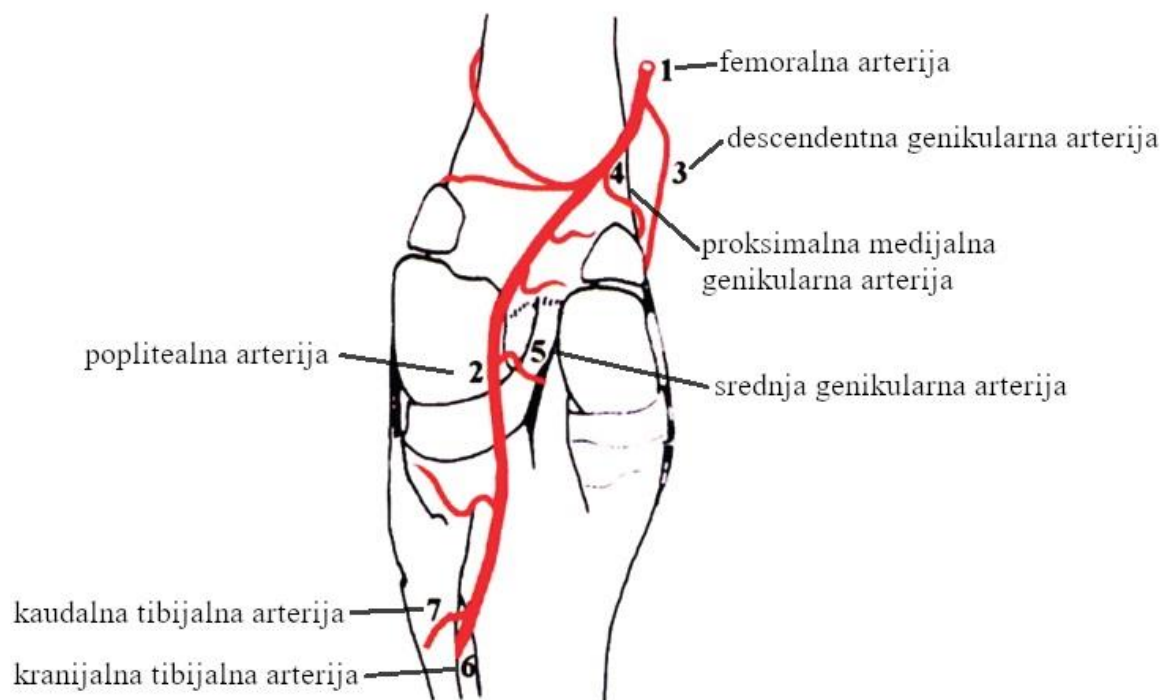
I kranijalni i kaudalni križni ligament prekriva ujednačen nabor sinovijalne membrane koji nepotpuno dijeli koljeni zglob u sagitalnoj projekciji. Sinovijalno se tkivo potom nastavlja i preko rogova meniskusa. Ovakve se epiligamentne membrane sastoje pretežno od gustog vezivnog tkiva, malih fibroblasta, nekolicine adipocita i intime, a tanak se subintimalni sloj jasno razlikuje. Intima se sastoji od jednog sloja sinoviocita, a subintimalni sloj od areolarnog tkiva koje sadrži i nešto vaskularnih struktura. Iako križni ligamenti spadaju u intraartikularne

zglobne strukture, sinovijalna ih ovojnica čini ekstrasinovijalnim strukturama zaštićenim od degradirajućih učinaka sinovijalne okoline (VASSEUR i sur., 1985.). Sinovijalna ovojnica koja pokriva kranijalni križni ligament polazi od kaudalnog interkondilarnog usjeka, a proteže se do kranijalne strane tibijalnog spoja gdje epiligamentarno tkivo komunicira sa naborom distalne zglobne čahure. S druge strane, kaudalni križni ligament je obavijen s dva nabora sinovijalne membrane. Kranijalna ovojnica polazi proksimalno s kranijalne strane zglobne čahure, a kaudalni nabor potječe od kaudalnog dijela zglobne čahure. Mikroarhitektura ovih ligamenata prilično je složena. Svaka od komponenata je multifascikularne strukture te se sastoji od velikog broja valovitih fascikularnih podjedinica. Kada se radi o kranijalnim križnim ligamentima pasa, postoji velika različitost u veličini eliptoidnih fascija. One mogu biti sastavljene od jedne do deset subfascija koje dijeli labavo endoligamentozno tkivo, a koje čine snopovi kolagenih vlakana (YAHIA i DROUIN, 1989.). Svaki je snop položen na način da je izometrično tijekom kretnji koljenog zgloba. Svaka će promjena položaja koljenog zgloba drugačije utjecati na različita vlakna. Pojedinačna vlakna mijenjaju duljinu ravnanjem njihovog nabora. Ova promjena nije vidljiva na općoj anatomskoj razini no potvrđuje se histološki. Kolagena vlakna, na mjestima koštanih spojeva kranijalnih križnih ligamenata, nisu raspoređena sasvim usporedno s uzdužnom osi ligamenata, a specifično kod mlađih životinja, hrskavične stanice prodiru u kranijalni križni ligament. Na mjestima kontakta križnih ligamenata, veća je gustoća kolagenih vlakana koja su usmjerena tangencijalno na površinu umjesto usporedno s uzdužnom osi. Ova vlakna zadržavaju ovakav položaj čak i kada se križni ligamenti uvijaju jedan oko drugog. Vlakna čine fibrili koji se sastoje od kolagenih podjedinica. Unutarnji su kolageni fibrili gotovo ravni, dok je uvijanje fibrila najizraženije na fascikularnoj periferiji. Na elektronskom mikroskopu kolagena su vlakna ujedno i najmanje vidljive strukture. Kranijalni križni ligament predstavlja heterogeno sastavljenu strukturu koju čini izvanstanični matriks sastavljen od makromolekula vrlo specifičnog rasporeda. Makromolekula koja prevladava u građi ovog ligamenta je kolagen. Kolagen tipa 1 čini 90% sadržaja kranijalnog križnog ligamenta, dok ostatak sačinjava kolagen tipa 3 (WILDEY i MCDEVITT, 1998.). Ove molekule proizvode fibroblasti rahlog potpornog vezivnog tkiva. Stanice se nalaze u dugim usporednim snopovima između kolagenih vlakana, a njihove su osi usporedne s okolnim kolagenim vlaknima. Neurovaskularne komponente prate isti longitudinalni smjer. Izuzev fibroblasta, staničnu populaciju čine i različiti stadiji stanica nalik hondrocitima (MUIR i sur., 2005.).



## 2.4. Mikrovaskularna opskrba

Vaskularizaciju središta koljenog zgloba osigurava ogranak srednje genikularne arterije (Slika 3).



Slika 3. Kaudalni prikaz vaskularne opskrbe koljenog zgloba u pasa

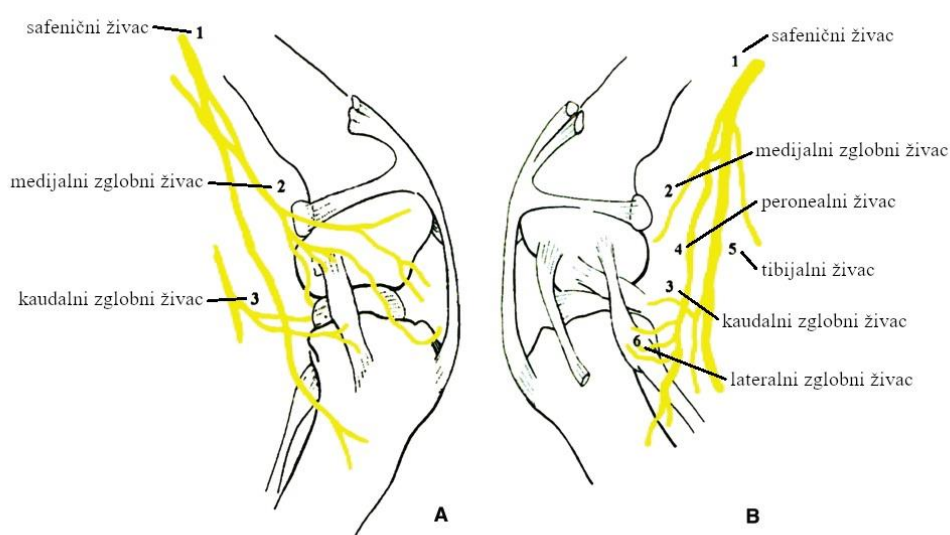
(izvor: DE ROOSTER i sur., 2006.)

Ona proizlazi iz poplitealne arterije, nakon čega prodire u kaudalnu zglobnu čahuru te prolazi kraniodistalno u interkondilarnu fossu između križnih ligamenata. Vaskularne strukture koje opskrbljuju proksimalne dijelove kranijalnog križnog ligamenta su mnogobrojnije i većeg promjera u odnosu na one na tibijalnoj strani. Većina ovih vaskularnih struktura grane su srednje genikularne arterije dok su neke i grane distalnih genikularnih arterija. Isto tako, kada se radi o vaskularnoj opskrbi kaudalnih križnih ligamenata, većina vaskularnih struktura također potječe od grana srednje genikularne arterije, kao i grana drugih genikularnih arterija. Glavni izvor žila kao i put isporuke hranjivih tvari čine infrapatelarni masni jastučić i dobro prokrvljena sinovijalna opna (KOBAYASHI i sur., 2006.). Križni ligamenti mogu preuzeti hranjive tvari i iz sinovijalne tekućine, pasivnim putem. Opskrba ovih ligamenata krvlju pretežno potiče iz mekih tkiva. Sinovijalne krvne žile arboriziraju, čineći finu mrežu epiligamentoznih žila koje oblažu ove ligamente čitavom njihovom dužinom. Općenito

govoreći, vaskularni se raspored kao i strukturalne karakteristike ne razlikuje značajno kod ovih ligamenata (KOBAYASHI i sur., 2006.). U unutrašnjosti ovih ligamenata, okolo i uzduž snopova kolagenih vlakana, proteže se endoligamentozna vaskularna mreža. Veće krvne žile, obično jedna arterija koju prate dvije vene, prate longitudinalni smjer i leže usporedno s kolagenim fascijama. Isključivo kapilare koje se granaju od longitudinalnih endoligamentoznih žila, a koje teku u poprečnom smjeru, okružuju kolagene snopove. Općenito je središnjost kranijalnih ligamenata slabije vaskularizirana u usporedbi s ostatkom ligamenata. Između ekstra i intraligamentoznih krvnih mreža postoje anastomoze. Epiligamentozne krvne žile prodiru poprečno u križne ligamente. Njihove se grane granaju i anastomoziraju s endoligamentoznim žilama. Komunikacija s endoligamentoznim žilama je prilično loša, posebice na tibijalnom spoju kranijalnih križnih ligamenata gdje većina endostalnih krvnih žila završava u subhondralnoj petlji umjesto da pređu ligamentno-koštane spojeve. Mreža sinovijalnih i epiligamentoznih žila koja okružuje kaudalne križne ligamente opsežnija je u odnosu na vaskularni pleksus koji opskrbljuje kranijalne križne ligamente, no, unutarnja je opskrba kaudalnih križnih ligamenata oskudnija u odnosu na opskrbu kranijalnih ligamenata. Endostalne vaskularne komunikacije, iako rijetke, prisutne su proksimalno i distalno.

## 2.5. Inervacija

Iz safeničnog živca izlaze tri glavna zglobna živca koja inerviraju periartikularno tkivo koljenog zgloba pasa, a to su n. tibialis i n. peroneus communis (Slika 4).



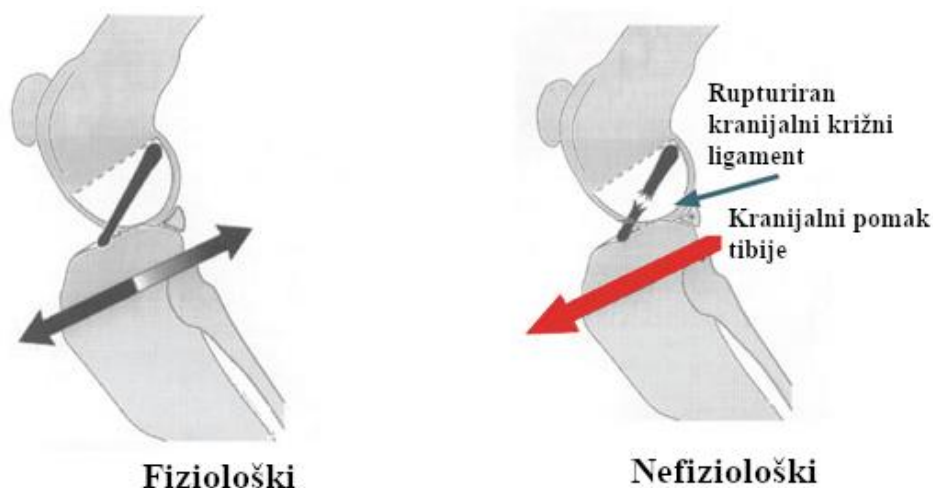
Slika 4. Inervacija koljenog zgloba u pasa. (A) medijalna strana, (B) lateralna strana

(izvor: DE ROOSTER i sur., 2006.)

Živčani se snopovi nalaze na femoralnom kraju križnih ligamenata. U pasa je medijalni zglobni živac, koji se grana od safenoznog živca u području sredine bedra, glavni put inervacije koljenog zgloba. Neki od njegovih ogranaka prolaze kroz infrapatelarni masni jastučić te potom završavaju ili u proksimalnima/distalnim spojevima križnih ligamenata ili unutar rogova meniskusa. Ostale grane medijalnog zglobnog živca prolaze kranijalno kroz zglobnu čahuru kako bi osigurale dostatnu inervaciju femoralnog hvatišta kaudalnih križnih ligamenata. Prisutnost kaudalnog zglobnog živca različito je zastupljena u pasa. Njegove grane mogu ili izravno nastati iz tibijalnog živca ili iz mišićnih grana. Kaudalni zglobni živac dopire do kaudalnog dijela zglobne čahure gdje može komunicirati s granama medijalnog zglobnog živca. U razini glave fibule, lateralni se zglobni živac grana od *n. peroneusa communis* duboko do *m. biceps femoris* i opskrbljuje lateralnu stranu koljenog zgloba. Živci se smještaju unutar bogato vaskulariziranog sinovijalnog tkiva koje prekriva križne ligamente. Iz perifernih sinovija aksoni zrače prema središtu ligamenata (YAHIA i sur., 1992.). Unutar križnih ligamenata, većina živaca prolazi uz epiligamentarne i endoligamentarne krvne žile u interfascikularnim areolarnim prostorima. Smatra se da je njihova funkcija primarno povezana s autonomnom živčanom regulacijom protoka krvi i percepcijom boli. Senzorna mreža križnih ligamenata ima važnu ulogu u neurosenzornom sustavu oko koljenog zgloba, što omogućava informacije o kretanjama zgloba, položaju, kao i štetnim čimbenicima. Mehanoreceptori koji su smješteni blizu površine križnih ligamenata reagiraju na uzdužno rastezanje i deformacije ligamenata. S druge strane, mehanoreceptori koji se nalaze u unutrašnjosti križnih ligamenata aktiviraju lokalne refleksne obrasce za zaštitu ligamenata od pucanja i upozoravaju na moguća oštećenja zglobova. Refleksnim se lukovima potiču mišićne grupe na kontrakciju s ciljem sprječavanja ozljeda ligamenata uzrokovanih ekstremnim pokretom. Pritom, stvar nije u svjesnoj percepciji, nego reakciji na mehanički izazvane električne signale. Ovim snažnim refleksom senzorni sustav križnih ligamenata može pridonijeti funkcionalnoj stabilnosti zglobova modificiranjem krutosti okolnog mišićja. Sami križni ligamenti smatraju se relativno neosjetljivima na bol, iako se manji osjećaj boli može prenijeti manjom populacijom slobodnih živčanih završetaka koji se granaju u križnim ligamentima (SCHUTTE i sur., 1987.).

### 3. PATOGENEZA BOLESTI KRANIJALNIH KRIŽNIH LIGAMENATA

Ruptura kranijalnog ili anteriornog križnog ligamenta spada u najčešća ortopedska stanja u veterinarskoj medicini. Mehanizmi nepoznate etiologije postupno slabe intraartikularne strukture koje na kraju popuštaju što za posljedicu ima nestabilnost zgloba, osteoartritične promjene, bol i disfunkciju. Prekomjieran, nefiziološki kraniokaudalni pomak tibije u odnosu na femur naziva se "kranijalni pomak" te je važan dijagnostički pokazatelj pri sumnji na rupturu križnih ligamenata (Slika 5).



Slika 5. Konformacija koljenog zgloba i nefiziološka konformacija koljenog zgloba s kranijalnim pomakom tibije

(Slika je preuzeta sa: <https://poshdogkneebrace.com/solutions/>)

Tako kranijalna pokretljivost tibije u odnosu na femur ukazuje na rupturu kranijalnog križnog ligamenta dok kaudalni pomak tibije ukazuje na rupturu kaudalnog križnog ligamenta. Vrlo je važna uloga ovog ligamenta u stabilnosti i biomehanici femoralno-tibio-patelarnog zgloba, a funkcionalna nepravilnost izravno ozbiljno utječe na kvalitetu života pacijenta s obzirom da uzrokuje nestabilnost zgloba, što dovodi do nastanka teških i progresivnih degenerativnih promjena koje potom ograničavaju normalnu dnevnu aktivnost. Najvažniji etiološki čimbenik pritom je strukturalno slabljenje uzrokovano degenerativnim promjenama ovog ligamenta. Ruptura križnih ligamenata može se liječiti konzervativno ili kirurški, a donošenje odluke o vrsti liječenja pritom ovisi o dobi pasa, zdravstvenom stanju, stupnju nestabilnosti zgloba, kao i troškovima liječenja. Općenito su preporučene kirurške metode liječenja koje za cilj imaju stabilizaciju hiperobilnog zgloba. Iako su metode kirurškog liječenja značajno napredovale, osteoartritične promjene, iako učinkovito ublažene operacijom,

svejedno su prisutne i idu u progresiju. Uloga se fizioterapijskih postupaka, kako kod ljudi, tako i kod pasa, svodi na svladavanje boli, povratak fiziološkog opsega kretnji zgloba, periartikularno i mišićno jačanje i ispravak proprioceptivnog deficita. Fizioterapija ima vrlo važnu ulogu u oporavku funkcionalnosti ozlijeđenog ekstremiteta, kao i za povratak u normalnu svakodnevnu i sportsku aktivnost. Kada govorimo o bolestima križnih ligamenata pasa ustvari govorimo u stanju kod kojeg kao posljedica postupne degeneracije ovih ligamenata dolazi do njihove rupture. Daljnjom progresijom ova bolest može rezultirati oštećenjima meniskusa, ali i razvojem osteoartritisa. Kranijalni križni ligament je ključan stabilizator koljenog zgloba, a njegovo je puknuće vrlo često uzrok hromosti kod pasa. Ruptura ovog ligamenta može biti posljedica traume, no kod većine pasa do rupture dolazi u uvjetima normalnog opterećenja uslijed već postojećih progresivnih patoloških promjena, vrlo često i bilateralno. Ovakvo se stanje teško dijagnosticira s obzirom da psi u ranoj fazi bolesti križnih ligamenata mogu imati palpatorno stabilan koljeni zglob. Poznavanjem normalne mikroanatomije suptilne se promjene mogu otkriti u ranoj fazi bolesti križnih ligamenata, što olakšava odabir odgovarajućih potrebnih kirurških ili medicinskih postupaka. Točno razumijevanje snopova vlakana, kao i funkcionalne anatomije, imperativ je kada se radi o rekonstrukcijama kojima se želi uspostaviti normalna fiziologija zgloba. Cilj ovakvih, rekonstruktivnih metoda, ne bi trebao biti nužno samo ublažavanje postojeće nestabilnosti nestabilnog koljenog zgloba, već i što točnije oponašanje normalne kinematike. Osim biomehaničke funkcije nedvojbeno su važne i proprioceptivne funkcije ovog ligamenta s ciljem prevencije oštećenja zglobova, kao i radi odabira adekvatne postoperativne rehabilitacije. Bolesti križnih ligamenata uglavnom su multikauzalne etiologije bez ijednog čimbenika koji bi odgovarao svim aspektima njihove progresije. Nadalje, kod različitih se podskupina bolesti križnih ligamenata patogeneze mogu razlikovati. Klinička je slika kod starijih pacijenata, sjedilačkog načina života izraženija nego kod mladih, aktivnih pasa. Opterećenja kojima podliježu ovi ligamenti mogu biti pod utjecajem nekoliko čimbenika. Strmi tibijalni platoi mogu biti predisponirajući čimbenik za nastanak ruptura ovih ligamenata, no i ne moraju. Poznate činjenice su kako na strukturalna svojstva kranijalnih ligamenata utječu dob kao i tjelesna težina pasa (VASSEUR i sur., 1985.). Tako kod starijih pasa i pasa s prekomjernom tjelesnom težinom do degenerativnih promjena dolazi ranije. Kod pasa s rupturom prednjih križnih ligamenata obično se uočavaju upalne promjene na sinovijalnim membranama, epiligamentima ali i sinovijalnoj tekućini (HAYASHI i sur., 2003.). Upalne promjene koje prate bolesti križnog ligamenta, zahvaćaju cijeli zglob, posebno sinovijalnu membranu. Sinovitis je prisutan već i prije nego što ligamenti izgube svoju funkciju, što je znak ranog i kontinuiranog upalnog procesa. U kasnijim fazama sinovijalna membrana

sadrži većinom mononuklearne stanice. Prisutni su brojni B i T-stanični limfociti, plazma stanice i makrofagi aktivirani tartrat-rezistentnom kiselom fosfatazom (TRAP). Razmjer upalnih promjena u korelaciji je s razinom degenerativnih promjena unutar križnog ligamenta (DÖRING i sur., 2017.). Bilo kako bilo, tip i količina sinovijalnih staničnih infiltrata znakovi su imunološkog odgovora. Upala se uglavnom javlja u ranoj fazi razvoja bolesti križnih ligamenata ali i prije razvoja nestabilnosti zgloba. Isto tako, epiligamentozne sinovijalne membrane u tom slučaju otkrivaju brojne rupe koje omogućuju infiltraciju križnih ligamenata sinovijalnom tekućinom (KOBAYASHI i sur., 2006.). Brojni čimbenici poput upale zglobova, mehaničkog opterećenja, mikroozljeda ligamenata, ali i ishemija, mogu utjecati na stanični metabolizam rezultirajući na taj način promjenama matriksa. Progresivno mehaničko preopterećenje smanjuje tipičnu naboranu strukturu kolagenskih fibrila koja je vidljiva kod intaktnih kranijalnih križnih ligamenata, dok daljnje preopterećenje vodi prema prekidu kontinuiteta fascija ligamenata. Smatra se da su vaskularni mehanizmi važni u patofiziologiji ovih bolesti. Smanjenje dotoka krvi u središnji dio ovih ligamenata vodi do tkivne hipoksije, a mikroozljede nadalje rezultiraju dodatnim slabljenjem središnje supstance ligamenata. Kao odgovor na hipoksiju epiligamentoznog tkiva javljaju se opsežni reparativni procesi koji ne uspijevaju premostiti mjesto ozljede (HAYASHI i sur., 2003.). Na protok krvi u ovim ligamentima utječe poremećaj zglobne tekućine, a endotelna barijera između krvi i ligamenata nije vrlo učinkovita. Imunoposredovani čimbenici također mogu imati ulogu u degradaciji ovih ligamenata. Upala unutar sinovija u pasa s rupturom križnih ligamenata barem je djelomično imunološki posredovana. Intaktni križni ligamenti se zbog zaštitnog sloja sinovije doduše smatraju ekstrasinovijalnim strukturama. Kolagen tipa 1 obično je skriven od imunološkog nadziranja te stoga ima potencijal da djeluje kao samoantigen kada, uslijed mikroozljeda, dođe do njegovog izlaganja. Intaktni križni ligament je zaštićen od zglobne šupljine tankom sinovijalnom membranom (epiligament). U slučajevima rupture ove membrane na početku bolesti zgloba, degenerirani kolageni fibrili tipa 1 izlažu se sinovijalnoj tekućini i mogu izazvati (auto)imuni odgovor. Cirkulirajuća antikolagenska antitijela mogu doprinijeti nastanku bolesti kontralateralnog križnog ligamenta. Lokalni stanični odgovori pokreću kaskade citokina i degeneraciju kolagenog matriksa. Čvrsti dokazi ukazuju na to kako rupturi ligamenta prethodi klinički relativno tiho i progresivno razdoblje degeneracije kolagenog matriksa, što utječe na strukturno slabljenje intraartikularnih struktura ali i ligamenata. Nastale upalne promjene progresivno utječu na cijeli zglob (DÖRING i sur., 2017.). Antitijela na kolagen tipa 1 pronalaze se u sinovijalnoj tekućini pasa s rupturom kranijalnog križnog ligamenta (DE ROOSTER i sur., 2000.). Klinički dokazi ukazuju i na postojeće biokemijske procese.

Slabljenje kolagena može biti uzrokovano biokemijskim čimbenicima, kao što su kolagenaze i želatinaze. Ekspresija matriksnih metaloproteinaza koje mogu razgraditi kolagen proučavaju se kod pasa s bolestima križnih ligamenata. Matriks metaloproteinaze postupno razgrađuju križni ligament, a čimbenici koji pogoduju su hipoksija tkiva i imunološki posredovane upalne promjene. Mikromorfološke studije, na potpuno ili djelomično rupturiranim ligamentima, utvrdile su transformaciju fibroblasta u sferoidne stanice, nekrozu fibroblasta i fibrohrskavičnu metaplaziju. Detektiranje MMP-a može ponuditi novi terapijski pristup kod ovakvih bolesti (MUIR i sur., 2005.). Protuupalna medicinska terapija može možebitno usporiti daljnju degeneraciju ligamenata, degradaciju zahvaćenog zgloba, a na kraju i prevenirati rupturu kontralateralnog koljenog zgloba.

### 3.1. Biomehanika koljenog zgloba

Jednako kao kod ljudi, tako i kod pasa, s obzirom na svoj položaj između kuka i skočnog zgloba, femoro-tibio-patelarni zglob ima vrlo važnu ulogu u zdjelničnom ekstremitetu (NEUMANN, 2017.). Zahvaljujući meniskusima smještenim između femoralnog i tibijalnog kondila, koljeni zglob apsorbira i podupire tjelesnu težinu dok tijekom kretanja omogućuje prijenos opterećenja prema koksofemoralnom zglobu. Koljeni zglob je u mogućnosti izvođenja šest stupnjeva slobodnih kretanja u tri projekcije: sagitalnoj (fleksija/ekstenzija i kranio-kaudalan pomak), transverzalnoj (intra i ekstra-tibijalna rotacija i srednje do lateralni pomak) i frontalnoj (adukcija/abdukcija i ventro-dorzalan pomak) (TORRES, 2020.). S obzirom na to, uloga je križnih ligamenata, kako kod ljudi tako i kod pasa, sljedeća: ograničavanje hiperekstenzije i tibijalne intrarotacije oko svoje osi te sprječavanje kaudo-kranijalnog pomaka tibije u odnosu na femur (DE ROOSTER i COMERFORD, 2018.). Prema klasičnom biomehaničkom modelu (pasivnom ili statičkom) femoro-tibio-patelarnog zgloba, intra i periartikularne strukture odgovorne su za stabilnost koljena te je jedini pokret koji je dopušten fleksija ili ekstenzija u sagitalnoj ravnini. Stabilnost zgloba rezultat je ravnoteže djelovanja intra i periartikularnih struktura i sila koje djeluju na koljeno, sila reakcije tla i sila koje proizlaze iz mišićne kontrakcije. Pod opterećenjem težine tijela, ove sile koje proizlaze iz kaudo-distalnog nagiba zglobne površine, stvaraju kranijalno usmjerenu silu koja se naziva kranijalni tibijalni potisak. Kranijalni tibijalni potisak se postupno povećava s povećanjem nagiba tibijalnog platoa. Smjer kranijalnog tibijalnog pomaka i posljedični manji ili veći stres križnih ligamenata, mijenjaju se s obzirom na kut između patelarnog ligamenta i tibijalnog platoa. Kranijalni tibijalni potisak se neutralizira kada ovaj kut iznosi 90 stupnjeva. Najnoviji biomehanički modeli dovode u vezu rupturu križnih ligamenata s postojanjem sila odgovornih za neprestan stres ovih ligamenata što

rezultira daljnjim slabljenjem i parcijalnom ili potpunom rupturom. Pasmine koje su predisponirane za razvoj ovakvih ozljeda su one s prirodnom hiperekstenzijom zdjelčnih udova, kao što su bokseri i chow chow kod kojih je rezultat veći stres na ligamente, što je isto tako određeno povećanim funkcionalnim nagibom tibijalnog platoa (ZINK i JEAN CARR, 2018.). Novije studije analize hoda omogućile su razvoj trenutnih tehnika izvođenja osteotomije kojima je krajnji cilj neutralizirati kranijalni tibijalni potisak i vratiti ravnotežu sila koje djeluju na koljeni zglob. Kinetičke i kinematičke analize omogućuju istraživanje uloge anatomskih struktura koje čine koljeni zglob i njihovih biomehaničkih svojstava (TORRES, 2020.). Kroz različite razine sila, kinetička analiza omogućuje procjenu sila koje djeluju na razini ekstremiteta, a posljedično i na razini samog zgloba. Sile koje djeluju na razini zgloba mijenjaju se u ovisnosti o fazama hoda: maksimalan im je učinak u fazi stava dok su na nuli u stazi zamaha. Na ovaj se način mogu otkriti i minimalne varijacije sila reakcije tla, naglašavajući čak i najmanju hromost koju je inače, kliničkim pregledom, teško ustanoviti (ZINK i JEAN CARR, 2018.). Kinematičkom analizom omogućena je procjena promjene kuta, položaja i brzine koljenog zgloba tijekom kretanja. Kod pasa s rupturom prednjih križnih ligamenata, tijekom cijelog se ciklusa hodanja zahvaćeno koljeno doima savijenijim, dok kuk i tarzalni zglob, kao kompenzacijski učinak, djeluju ekstenzirani u stavu. Pretpostavka je kako je ograničena ekstenzija koljena adaptacijski mehanizam kojim se pas koristi u svrhu rasterećenja udova te smanjenja boli i nestabilnosti. S druge strane, prilikom fleksije ekstremiteta aktiviraju se tetive te se na taj način nastoji stabilizirati tibija i spriječiti njezin kranijalni pomak. Veća subluksacija tibije u odnosu na femur prisutna je kod velikog broja pasa s rupturom prednjih križnih ligamenata, što je vidljivo u fazi stajanja, dok tijekom same faze zamaha položaj ostaje gotovo nepromijenjen (KOWALESKI i sur., 2018.). Smatra se kako je pomak tibije rezultat aktivacije mišića kvadricepsa koji sinergistički s tjelesnom težinom i nagibom tibijalnog platoa uzrokuje nastanak sile s posljedičnim kaudokranijalnim pomakom tibije. Ovakve rupture značajno ne utječu na vanjsku rotaciju koljena, no ograničavaju unutarnju rotaciju. Nedostatak značajne promjene u vanjskoj i unutarnjoj rotaciji posljedica je utjecaja i ostalih čimbenika poput geometrije kostiju, mišićnih sila i ograničenja mekog tkiva. Prilikom gubitka funkcije križnih ligamenata, kolateralni ligamenti preuzimaju ulogu alternativnog sustava koji sprječava kranijalnu subluksaciju tibije. Međutim, posljedično rupturi prednjih križnih ligamenata, pojedini psi imaju tendenciju držanja koljena u blago flektiranom položaju, a pritom kolateralni ligamenti nisu sposobni zaustaviti kranio-medijalno proklizavanje lateralnog kondila tibije, što i rezultira unutarnjom rotacijom tibije (TINGA i sur., 2018.).



### 3.2. Etiopatogeneza

Sama etiopatogeneza rupture ovih ligamenata nije potpuno razjašnjena. Vjerovalo se kako isključivo traume uzrokuju rupturu prednjih križnih ligamenata, no tijekom daljnjih godina dokazano je kako rupturu mogu nastati i spontano tijekom fiziološkog opterećenja uslijed degenerativnih promjena struktura zglobova. Razotkrivanje i razumijevanje patomehanizama ove upalne i degenerativne bolesti zglobova poprilično je izazovno zbog svojeg dvofaznog tijeka. Dok je početna faza razvoja ovih bolesti klinički gotovo neprimjetna, u pozadini dolazi do progresivne degradacije kolagenskog matriksa križnog ligamenta. Ovakav slijed događaja na kraju uzrokuje strukturna oštećenja, najčešće u srednjem dijelu ligamenta već i u normalnim, svakodnevnim okolnostima. Pritom razvijena nestabilnost zgloba pogoršava postojeće upalne i degenerativne promjene. Iako se kirurškim metodama liječenja može usporiti progresija sekundarnog osteoartrisa, primarni, temeljni proces osteoartritične bolesti nastavlja se i u većini slučajeva onemogućava potpuni oporavak. Nakon određenog vremena ova bolest zahvati i kontralateralni zglob (MUIR i sur., 2011.). Akutne rupturu javljaju se kod pasa neovisno o pasmini i njihovoj dobi kao posljedica slučajnih traumatskih ozljeda. Do progresivnog smanjenja elastičnosti i mehaničke otpornosti križnih ligamenata dovode degenerativne promjene, koje potom ligamente čine izrazito osjetljivima čak i na najmanje traume, kao što su one uzrokovane svakodnevnim fiziološkim opterećenjem koljena. Neki od ostalih uzroka koji uzrokuje slabljenje ligamenata i predisponiraju ih na rupturu su i hrskavična metaplazija, gubitak fibroblasta, kao i gubitak normalne građe kolagenih vlakana. Kod pacijenata s ovakvom ozljedom uočena je slaba ekspresija kolagena tipa 1, veća ekspresija kolagena tipa 2 i kolagena tipa 3, također, uočen je i velik broj fibroblasta sa izraženim perinuklearnim aureolama. Nedostatak kolagena tipa 1 vodi smanjenju vlačne čvrstoće degeneriranih ligamenata, dok na hondroidnu metaplaziju fibroblasta ukazuje prisutnost kolagena tipa 2. Istraživanja degenerativnih promjena kranijalnih križnih ligamenata sugeriraju na strukturne promjene nastale remodeliranjem ligamenata i fiziološkim prilagodbama na stres koji je uzrokovan mehaničkim opterećenjem, različitim mikroozljedama uslijed konformacijskih anomalija, ali i hipoksije uzrokovane ishemijom. No mnoge od ovih promjena smatraju se i fiziološkim uslijed starenja životinje. Iako je dob jedan od predisponirajućih čimbenika nastanka spontanih ruptura, potrebno je i međudjelovanje drugih čimbenika. Neki autori navode kako rupturama križnih ligamenata prethodi razvoj upalnih procesa koji utječu na promjenu sastava ligamenata, ali i smanjenje njegove mehaničke otpornosti (DOOM i sur., 2008.). Također, brojna istraživanja idu u prilog hipotezi kako su upalni procesi imunološki

posredovani s obzirom da je utvrđen visok titar autoprotutijela na kolagen tipa 1 u sinovijalnoj tekućini ozlijeđenih pacijenata. Unatoč činjenici da su ovi ligamenti prekriveni sinovijalnom membranom, oni su ekstrasinovijalno izolirani od djelovanja imunološkog sustava. U slučaju ozljede, izloženi kolagen može djelovati kao autoantigen, pokrećući na ovaj način čitavu kaskadu upalne reakcije s otpuštanjem antitijela i makrofaga. Međutim, do ruptura neće nužno doći kod svih pasa s utvrđenim visokim titrom autoantitijela u sinovijalnoj tekućini zbog čega se uloga autoantitijela mora detaljnije istražiti ali i razmatrati s ostalim etiopatogenetskim faktorima. U progresivnoj denegeraciji ligamenata posredovati mogu i biomedijatori upale. Strukturna svojstva ovih ligamenata određena su sastavom i prirodom izvanstaničnog matriksa, kao i kolagenom čiji promet je definiran njegovom sintezom i razgradnjom. U ovim mehanizmima proteaze poput katepsina i metaloproteinaza matriksa (MMP) koje uključuju kolagenaze (MMP-1, MMP-8 i MMP-13), stromelizine (MMP-3 i MMP-10) i želatinaze (MMP-2 i MMP-9) imaju vrlo važnu ulogu (COMERFORD, 2018.). Za primjer, dokazana je znatno viša koncentracija MMP-2 u pasa s rupturom križnih ligamenata u usporedbi sa psima čiji su ligamenti intaktni, dok su daljnje studije pokazale i znatno povećanje prekursora MMP-2 kod visokorizičnih pasmina u odnosu na niskorizične pasmine. Rezultati ovih istraživanja govore u prilog tome da je u rupturiranim ligamentima značajniji promet izvanstaničnog matriksa, što može biti i posljedica upalnih reakcija s posljedičnim smanjenjem čvrstoće i rupturom ligamenata. Dva su čimbenika koja utječu na remodeliranje ligamenata: alkalna fosfataza otporna na tartarat i katepsin K. Ova fosfataza pripada skupini proteina koji vežu željezo, a sposobna je i za sudjelovanje u procesu kolagenolize. S druge strane, katepsin K je proteinaza koja determinira lizu kolagena tipa 1. Kod pacijenata s rupturom križnih ligamenata prisutna je hiperekspresija ovih komponenata. Značajno veće količine ovih komponenata utvrđene su kod pasa u usporedbi s ljudima, što ukazuje na drugačiji utjecaj proteolitičkih enzima na etiopatogenezu rupture križnih ligamenata (BARRET i sur., 2005.).

### 3.3. Predisponirajući čimbenici

Glavni čimbenici koji predisponiraju puknuće križnog ligamenta podijeljeni su na biološke i biomehaničke. Biološki čimbenici obuhvaćaju pasminu., spol, dob i nasljedne osobine, dok biomehanički čimbenici obuhvaćaju strukturu koljenog zgloba, poravnanje koštanih segmenata i mišićnu snagu (BAKER i MUIR, 2018.). Svi ovi čimbenici utječu na ubrzanje degenerativnih promjena kako unutar samog zgloba, tako i unutar ligamenta, što ujedno i objašnjava razlike u učestalosti pojave ozljeda među različitim pasminama, iako se bolest javlja i neovisno o pasmini, spolu i dobi.

### 3.3.1. Pasma i tjelesna težina

Puknuće prednjeg križnog ligamenta učestala je ozljeda kod velikih i/ili pretilih pasa. Kod ovih pasa prednji križni ligament podliježe bržem degeneriranju s obzirom na to da su njihovi zglobovi izloženi većem opterećenju. Pasmine koje ova ozljeda najčešće pogađa s labradori, newfoundlandleri, rottweileri, bernardinci, akite, bokseri i buldozi (KOWALESKI i sur., 2018.). Kod ovih se pasmina često uočavaju i anomalije koje pridonose slabljenju i puknuću križnih ligamenata kao što je hiperekstenzija stražnjih nogu, što je posebno često kod chow chowa, rottweilera, bernardinaca i boksera (ZINK i JEAN CARR, 2018.). Hiperekstenziju zdjeličnih udova vrlo često prati i displazija kuka koja se uočava kod velikog broja pasa s puknućem prednjeg križnog ligamenta. Iako se puknuća križnih ligamenata češće javljaju kod velikih pasmina, pojava ovakve ozljede nije isključena kod malih pasmina. Kod manjih pasmina pasa ovakve su ozljede najčešće posljedica prekomjernog opterećenja uzrokovanog nestabilnošću tibije uslijed luksacije patele (DE CAMP i sur., 2016.). Genu varum konformacija stražnjeg ekstremiteta također opterećuje križne ligamente. Još jedan predisponirajući čimbenik je i pretilost. Pretilost utječe na povećanje koncentracije cirkulirajućih biomedijatora upale, kao što su proupalni adipokini podrijetlom iz masnog tkiva, a koji pridonose degeneraciji i slabljenju ligamenata. Adipokini su biološki aktivne tvari koje se sintetiziraju u adipocitima kao odgovor na promjenu skladištenja triacilglicerola, te lokalne i sistemske upale. Način na koji oni djeluju može biti autokrini/parakrini ili endokrini. Jedan od ovih adipokina je adiponektin. Adiponektin je kodiran genom "ADIPOQ", a u krvotok ga izlučuje masno tkivo. Najpoznatiji učinci adiponektina uključuju povećanje osjetljivosti na inzulin, protuupalna svojstva te inhibira razvoj ateroskleroze. Protuupalno svojstvo adiponektina proizlazi iz njegove sposobnosti da potisne proizvodnju TNF- $\alpha$  od strane makrofaga. S druge strane, njegove brojne biološke funkcije poput regulacije i proizvodnje matriks metaloproteinaza koje remodeliraju izvanstanični matriks ligamenata, čine ga potencijalnim posrednikom u razvoju bolesti križnih ligamenata (UDOMSINPRASERT i sur., 2018.). Kod pretilih pasa, sjedilačkog načina života, nedostatak aktivnosti doprinosi slabljenju ligamenata i periartikularnih mekih tkiva, posebno tetiva i mišića, koje ima ključnu ulogu u zaštiti i stabilizaciji zgloba i u statičnoj i u dinamičnoj fazi.

### 3.3.2. Starost

Ozljede prednjih križnih ligamenata najčešće se javljaju kod pasa u rasponu dobi od 2 do 10 godina, gdje se kod pasa mlađih od 4 godine radi uglavnom o traumatskim rupturama dok se kod pasa u dobi 5 - 7 godina najčešće radi o spontanim rupturama kojima prethodi

degeneracija. Starost je kao predisponirajući čimbenik u korelaciji s težinom životinje. Tako se kod malih pasmina ozljede javljaju uglavnom kod starijih životinja s obzirom da se degenerativni procesi koji utječu na ligamente javljaju u starijoj životnoj dobi, jer tijekom života, manja tjelesna težina ne utječe značajno na elastičnost i mehaničku čvrstoću ligamenata. S druge strane, akutno traumatsko puknuće javlja se neovisno o dobi životinje, međutim, ipak češće pogađa mlade pse s obzirom na veću aktivnost u odnosu na starije pse. Isto tako, kao rezultat raznih sportskih aktivnosti i rekreacije, veći je rizik od abnormalnih pokreta, a koljени zglob se dodatno opterećuje (KOWALESKI i sur., 2018.).

### 3.3.3. Spol

Uočeno je kako do puknuća križnih ligamenata češće dolazi kod ženki i kastriranih mužjaka. Uzrok ovakvoj različitosti među spolovima povezan je s fazama reproduktivnog ciklusa. Dok neki autori navode ovulatornu fazu kao trenutak najveće izloženosti riziku i naglašavaju kako visoke razine estrogena smanjuju proizvodnju kolagena, što utječe na veličinu i čvrstoću ligamenata, za druge je autore to početna folikularna faza (SLAUTERBECK i sur., 2002.). Remodeliranje i metabolizam vezivnog tkiva rezultat su neprekidnog stvaranja i razgradnje proteina, a čitav je proces pod regulacijom steroidnih hormona. Stoga se, uslijed promjena hormonske strukture nakon ovariektomije i orhiektomije, povećava sklonost puknuću ligamenata. Receptori za luteinizirajući hormon (LH) otkriveni su unutar ligamenata. Kod steriliziranih i kastriranih životinja veća aktivnost ovih receptora uzrokuje povećanje labavosti križnih ligamenata, što ih čini podložnijim ozljedama. Također, sterilizacija i kastracija prije puberteta za posljedicu mogu imati povećan kaudodistalni nagib tibijalnog platoa i jači prednji tibijalni pritisak što je, također, čimbenik rizika za puknuće križnih ligamenata (KUTZLER, 2020.). Osim navedenoga, sterilizacija i kastracija neizravno utječu i na učestalost ozljeda budući da mogu dovesti do povećanja tjelesne mase i pretilosti. Izuzev hormona, važno je naglasiti kako je ovakva razlika između spolova rezultat i niza drugih čimbenika koji se svrstavaju u anatomske, biomehaničke, genetske i socijalne kategorije (SUTTON i BULLOCK, 2013.).

### 3.3.4. Genetika

Neki autori predlažu postojanje genetske komponente koja povećava rizik od puknuća prednjih križnih ligamenata. Utvrđeno je kako je za pojavu ove bolesti odgovoran recesivan gen koji se dovodi u vezu sa strukturalnim svojstvima i mehaničkom snagom ligamenta. Nešto kasnije, prilikom analiziranja genoma pasa, identificirani su mikrosatelitski markeri (MSATs) na kromosomima 3,5 i 13 koji su i povezani s puknućem ovih ligamenata. Varijabilnost ovih

gena može biti predisponirajući čimbenik razvoju ovakvih ozljeda jer se abnormalnim prijenosom živčanih impulsa smanjuje proprioceptivna sposobnost, što za posljedicu ima, također, puknuće križnih ligamenata. Novijim istraživanjima je kod pojedinih pasmina pasa, poput newfoundlanda i labradora, utvrđen polimorfizam pojedinačnog nukleotida koji utječe na genske lokuse odgovorne za kut nagiba tibijalnog platoa i širinu tuberositasa tibije, koji su oboje također čimbenici rizika puknuća prednjih križnih ligamenata (BAKER i sur., 2018.).

### 3.3.5. Deformacije koljena

Kako u ljudi, tako i u pasa, utvrđeno je kako pojedine konformacije koljena utječu na povećanje rizika razvoja ovakvih ozljeda, a ove tvrdnje idu u prilog velikoj razlici u predispoziciji između dvaju spolova, s obzirom na to da ove ozljede češće nalazimo kod ženki. Komponente koje su pritom najviše istraživane su veličina i oblik interkondilarnog usjeka te nagib tibijalnog platoa. Tako je u istraživanjima utvrđeno kako je interkondilarni usjek znatno plići kod labradora u odnosu na hrtove, što ih čini podložnijima puknuću križnih ligamenata. Najprihvaćenija hipoteza sugerira kako suženje interkondilarnog usjeka vodi prema povećanju kontaktne površine između usjeka i ligamenata. Ponavljajući stresovi ovih ligamenata rezultiraju pojačanim metabolizmom kolagena. Kod pojedinaca s užim interkondilarnim usjekom zapažena je veća ekspresija i aktivnost kolagenolitičkih metaloproteinaza, posebice MMP2, koja je odgovorna za prvotnu degeneraciju, a potom i puknuće kranijalnih križnih ligamenata. Sužavanje interkondilarnih usjeka može biti rezultat primarne kongenitalne anomalije ili degenerativnih promjena unutar samog zgloba. Mehanika zgloba pod izravnim je utjecajem većeg opterećenja koje djeluje na zglob. Pod tim utjecajem dolazi do remodeliranja interkondilarnog usjeka (COMERFORD, 2018.). Brojni autori povezuju sklonost ovoj ozljedi s povećanim nagibom tibijalnog platoa, što za posljedicu ima kranijalni pomak tibije. Povećanje nagiba tibijalnog platoa prema istraživanjima može biti posljedica ranog steriliziranja životinja. Veći se značaj pripisuje obliku tuberositasa tibije i kutu između tibiopatelnog ligamenta i tibijalnog platoa. Također, značajna je i uloga abnormalne valgusne konformacije koljena koja, kao predisponirajući čimbenik, utječe na biomehaniku zgloba i raspodjelu sila (NEUMANN, 2017.).

### 3.3.6. Traumatske ozljede

Traumatski uzrokovana puknuća prednjih križnih ligamenata vrlo su česta pojava i u pasa i u ljudi. Ovakve ozljede pretežito su posljedica hiperekstenzije koljena, prekomjerne unutarnje ili vanjske rotacije tibije ili prekomjernog kranijalnog tibijalnog pomaka, što se može javiti prilikom naglih promjena smjera ili doskoka s većih visina, pogotovo u pasa koji sudjeluju

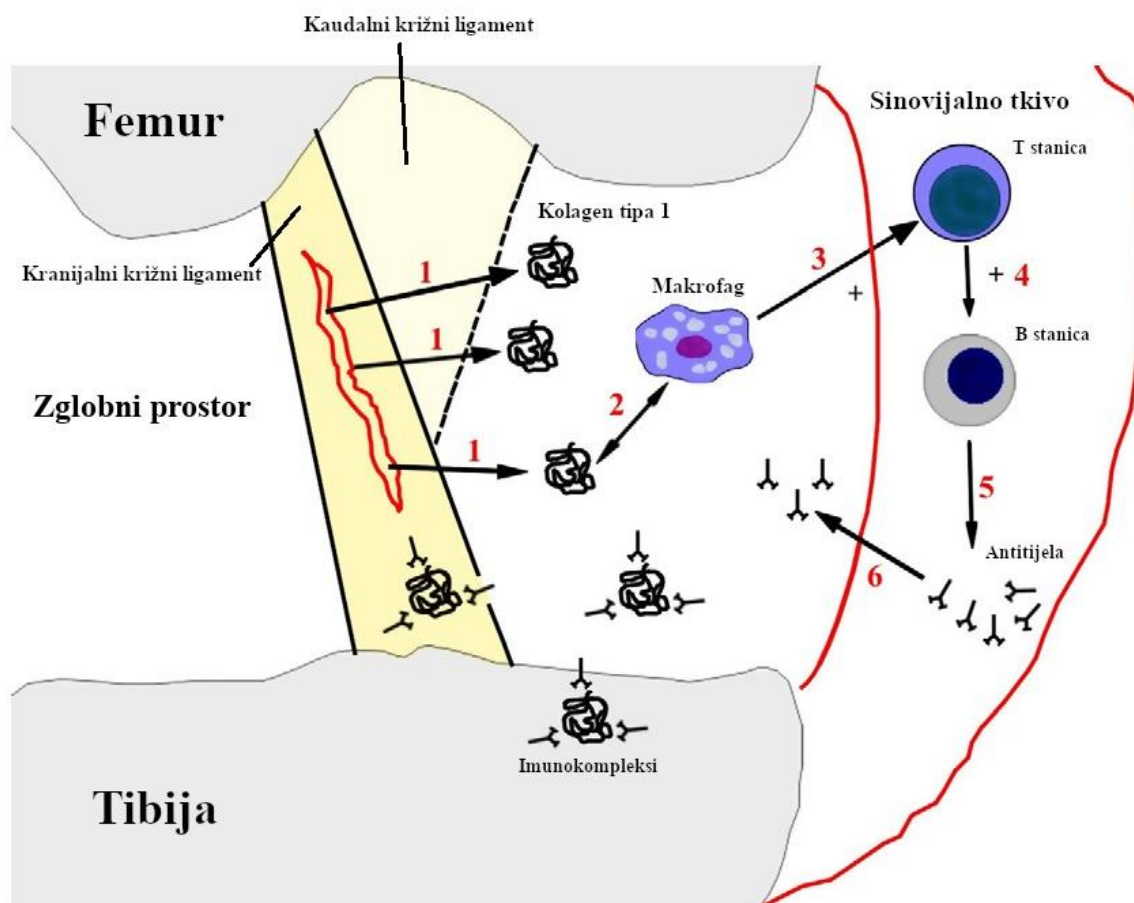
u agility i raznim drugim natjecanjima, ali ovakve ozljede mogu pretrpjeti i psi koji nisu uključen u sportove. Čimbenici nepravilne izvedbe i povećanog valgus stresa na koljeno su adukcija i unutarnja rotacija kukova, vanjska rotacija tibije te vanjska rotacija i iskrenuće gležnja (FOX, 2018.). U ovim se uvjetima povećava stres ligamenata i izaziva prevelika sila koja nadmašuje otpornost samih ligamenata što rezultira njihovim puknućem. Ograničena fizička kondicija i slabiji mišićni tonus isto tako mogu imati ulogu u nastanku puknuća križnih ligamenata. S obzirom na potporu koju pružaju koljenom zglobo, razvijenost mišića od vitalnog je značaja za zaštitu ovog zgloba.

#### **4. IMUNOPATOLOŠKI MEHANIZMI RUPTURA PREDNJIH KRIŽNIH LIGAMENATA**

Novija istraživanja ispitivala su humoralne i stanične imunopatološke mehanizme kod pasa s predispozicijom za razvoj ovakvih ozljeda, no u fazi prije nastanka rupture kontralateralnog kranijalnog križnog ligamenta. S obzirom da križne ligamente uglavnom sačinjava kolagen tipa 1, pretpostavka je kako je mogući uzrok degradacije kranijalnih križnih ligamenata stvaranje imunološkog odgovora na križne ligamente. Kod predisponiranih pasa je utvrđen poseban titar antitijela na kolagen tipa 1 u kontralateralnom koljenom zglobu koji je u određenom periodu rupturiran, što je pokazatelj postojanja upalnog procesa koji je prethodio pojavi uočive nestabilnosti. Upalni procesi unutar koljenog zgloba svakako dovode do strukturalnih promjena križnih ligamenata. Primjerice, imunohistokemijske su analize sinovijalnog tkiva u pasa s reumatoidnim artritismom, kao i onih s bolestima križnih ligamenata, pokazale sličnosti patoloških karakteristika ovih bolesti. S degeneracijom kranijalnih križnih ligamenata također se povezuje i upala uzrokovana biokemijskim čimbenicima poput citokina. Novija su istraživanja također proučavala razine citokina u predisponiranih pasa, kako prije tako i nakon rupture kranijalnih križnih ligamenata. Utvrđena je povišena razina interleukina 8 u koljenom zglobu čiji će kranijalni križni ligament rupturirati u narednih 6 mjeseci što upućuje na upalni proces koji prethodi kliničkoj rupturi. Puknuće prednjeg križnog ligamenta jedan je od glavnih uzroka hromosti stražnjih ekstremiteta kod pasa. Iako do rupture križnih ligamenata može doći uslijed traumatskih ozljeda, u većine pasa ona ipak nastaje tijekom svakodnevnih aktivnosti zbog postupnih i ireverzibilnih degenerativnih promjena ligamenata (MOORE i READ, 1996.). Kako potpuna, tako i parcijalna ruptura kranijalnih križnih ligamenata, dovodi do nestabilnosti koljenog zgloba, što uvelike pridonosi razvoju osteoartritisa (OA). OA je vrlo čest progresivan degenerativni poremećaj kojeg obilježava pojava boli, ukočenosti i smanjenja opsega kretnji zgloba. Iako je etiologija bolesti prednjih križnih ligamenata nepotpuno razjašnjena, ruptore križnih ligamenata se povezuju s degenerativnim promjenama uslijed starenja životinje i slabljenja ligamenata u nedostatku fizičke aktivnosti, plazmocitnog limfocitnog sinovitisa i strukturalnih abnormalnosti (VASSEUR i sur., 1985.). Imunološki odgovori, kako humoralni, tako i stanični, prisutni su u pasa s bolestima križnih ligamenata, a sve je više dokaza koji idu u prilog tvrdnji kako upala zgloba nastaje prije klinički uočljive ruptore kranijalnih križnih ligamenata u pasa.

#### 4.1. Humoralno posredovan imunološki odgovor

Križni ligamenti obavijeni su naborom sinovijalne membrane te iako se nalaze unutar zgloba smatraju se ekstrasinovijalnim. Ovaj zaštitni sinovijalni sloj omogućava ligamentima djelovanje autoantigena u slučaju oštećenja (KOBAYASHI i sur., 2006.). Jedna je od ključnih sastavnica zglobnog tkiva je kolagen. Križni ligamenti se kao i menisci većinom sastoje od kolagena tipa 1, dok zglobne hrskavice pretežito čini kolagen tipa 2. U slučajevima kada dođe do oštećenja ovih struktura, oslobađanje antigena u sinovijalnoj tekućini može izazvati imunološki odgovor. Nakon oštećenja prednjeg križnog ligamenta dolazi do otpuštanja kolagena tipa 1 i makrofagne infiltracije. Antigen se potom prezentira T stanicama nakon čega dolazi do aktivacije i diferencijacije B stanica. B stanice zatim proizvode antitijela koja se otpuštaju u sinovijalno tkivo i sinovijalnu tekućinu, što za posljedicu ima formiranje imunokompleksa s kolagenom tipa 1 (Slika 6).



Slika 6. Humoralni imunološki odgovor u pasa s bolesti križnog ligamenta

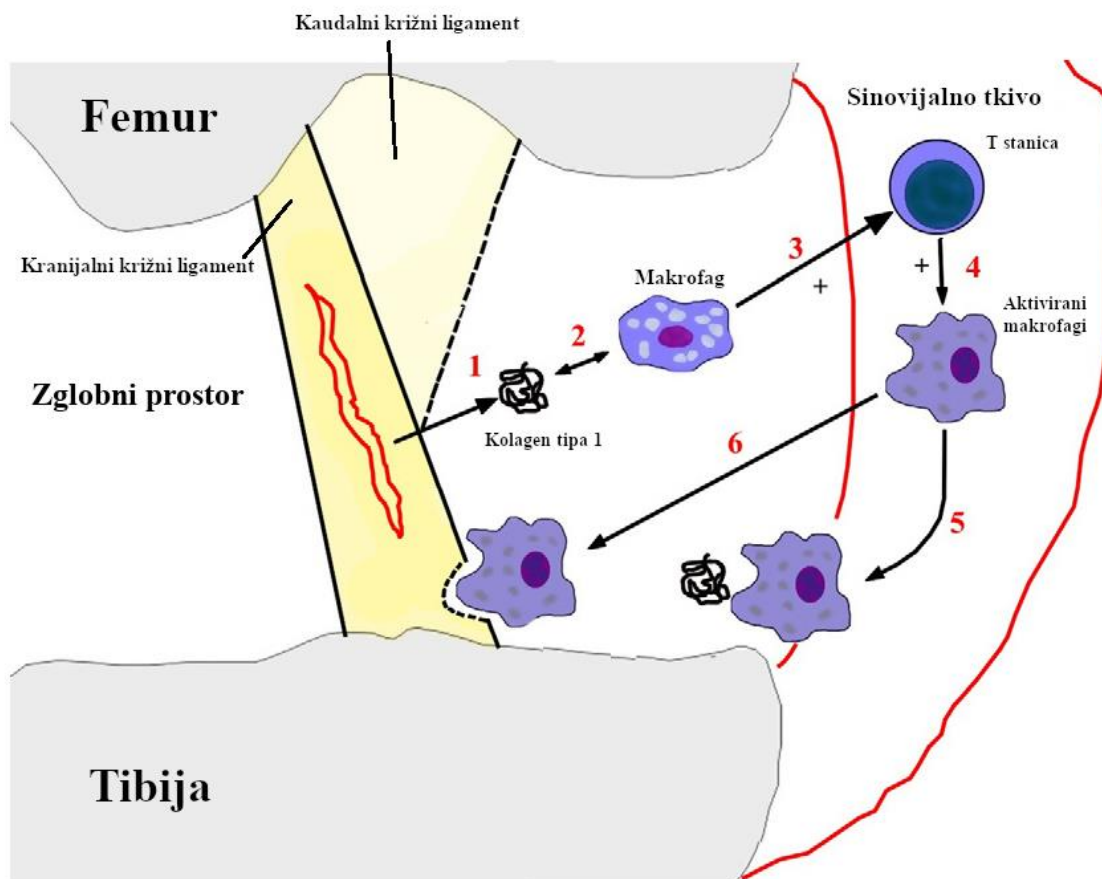
(izvor: DOOM i sur., 2008)



U pasa koji pate od reumatoidnog artritisa i bolesti križnih ligamenata otkrivena su antitijela protiv kolagena tipa 1 i 2, kako u serumu, tako i u sinovijalnoj tekućini. Veća učestalost u sinovijalnoj tekućini sugerira lokalnu proizvodnju antitijela. Histološka istraživanja podupiru ovu činjenicu. U sinovijalnom su tkivu pretežno prisutne četiri glavne vrste stanica: makrofagi, B i T-limfociti te plazma stanice od kojih većina pripada IgG izotipu. Razine IgM i IgG protutijela u sinovijalnom tkivu koljenog zgloba oboljelih pasa znatno su veće u usporedbi sa zdravim koljenim zglobovima. Međutim i dalje nije potpuno jasno imaju li antitijela aktivnu ulogu u pokretanju rupture križnog ligamenta. Prisutnost antitijela na kolagen tipa 1 i 2 u sinovijalnoj tekućini koljenog zgloba pasa s osteoartritisom i drugim osteopatijama upućuje na to kako ova antitijela nisu specifična za određenu vrstu bolesti zglobova (DE ROOSTER i sur., 2000.). Također je moguće da antitijela na kolagen pridonose kroničnoj upali zgloba čak i ako kolagen nije glavni artrogeni čimbenik. U usporedbi s razinama antitijela u udaljenim zglobovima, kod predisponiranih je pasa zabilježen viši titar protutijela na kolagen tipa 1 u koljenom zglobovima u kojemu je na kraju došlo do ruptur križnog ligamenta. Ovakav rezultat ukazuje na to kako je u ovim zglobovima prije pojave vidljive nestabilnosti postojao upalni proces obilježen tvorbom antitijela specifičnih za kolagen. Upalni zglobovi antigeni mogu pridonijeti i stvaranjem imunokompleksa s antitijelima. Pretpostavka je kako dugotrajno prisustvo antigena doprinosi kroničnoj upali zgloba te uzrokuje degeneraciju križnih ligamenata uslijed čega se njihova mehanička čvrstoća smanjuje.

#### 4.2. Stanično posredovan imunološki odgovor

U koljenom zglobovima pasa s bolestima križnih ligamenata može se uočiti različita jačina sinovitisa kojeg prate upalni infiltrati s dominantnim T i B-limfocitima, makrofagima, kao i IgG, IgM i IgA plazma stanicama. Značaj ovih upalnih stanica nije dovoljno razumljiv no pretpostavka je kako one mogu ukazivati na stanično posredovan imunološki odgovor. Nakon oštećenja kranijalnog križnog ligamenta dolazi do otpuštanja kolagena tipa 1. Slobodan kolagen podliježe makrofagnoj fagocitozi, nakon čega se aktiviraju makrofagi, a antigen prezentira T stanicama. Proces završava proteolitičkom razgradnjom oštećenog kranijalnog križnog ligamenta (Slika 7).



Slika 7. Stanični imunološkog odgovora u pasa s bolesti križnog ligamenta

(izvor: DOOM i sur., 2008)

Istraživanja provedena na psima s rupturom prednjih križnih ligamenata pokazala su prisutnost stanica koje morfološki nalikuju na dendritične stanice u sinovijalnom tkivu oboljelih koljenih zglobova, a ove stanice mogu imati ulogu u aktivaciji T-pomoćničkih stanica koje se diferenciraju u Th1, Th2 i novije identificirane Th17 stanice. U posljednje je vrijeme sve jasnije kako aktivirani Th podtipovi igraju značajnu ulogu u razvoju patoloških imunoloških poremećaja te ovakav pristup daje temelje za razvoj novih terapijskih strategija. Brojni su dokazi koji ukazuju kako Th1 stanice imaju ključnu ulogu u pokretanju i održavanju kronične upale kod različitih artropatija te da one svojom aktivacijom stimuliraju makrofage sinovijalnog tkiva. Th17 stanice pokazale su se kao važni pokretači autoimunih oštećenja tkiva, upale i infekcija (JIN i sur., 2008.). Pitanje koje je još uvijek potrebno razjasniti je što točno potiče imunološke reakcije kod pasa s bolestima križnih ligamenata. Pretpostavka je kako u slučaju rupture križnog ligamenta stanice koje prezentiraju antigen obrađuju zglobne antigene, kao što su kolagen tipa 1 i 2, a potom ih prezentiraju T-pomoćničkim stanicama. Različita saznanja

upućuju na to da bi upala zgloba mogla biti pokrenuta T-pomoćničkim stanicama koje reagiraju na antigenske peptide (LEMBURG i sur., 2004.). Neka od istraživanja sinovijalnih makrofaga u sinovijalnom tkivu pasa sa ozljedama križnih ligamenata kao važan čimbenik utvrdila su i gustoću stanica. Povećan postotak aktiviranih T stanica, kao i sinovijalnih makrofaga kod pasa s bolestima križnih ligamenata ukazuje na Th1 odgovor. Iz svega je ovoga proizašla pretpostavka kako se kolagen tipa 1, koji se oslobađa iz oštećenih ligamenata, prezentira Th stanicama što rezultira Th1 odgovorom i aktivacijom makrofaga. Ovi su makrofagi sposobni fagocitirati slobodne kolagen tipa 1 antigene i/ili imunokomplekse kao i otpuštati proteinaze koje uzrokuju dodatno oštećenje zahvaćenih križnih ligamenata. Nedavna su istraživanja ispitivala reaktivnost limfocita na kolagen tipa 1 u pasa s ovakvim bolestima te je utvrđeno kako reaktivnost limfocita na kolagen tipa 1 postoji u pasa s rupturom križnih ligamenata. Moguće je i da reaktivni T-limfociti migriraju u koljeni zglob gdje pokreću lokalni imunološki odgovor. Svakako su za utvrđivanje lokalne reaktivnosti stanica na kolagen tipa 1 u koljenom zglobu potrebna daljnja istraživanja kako bi se utvrdilo izazivaju li ovi limfociti degeneraciju križnih ligamenata.

## 5. CITOKINI I UPALA ZGLOBOVA

Kod pacijenata s rupturom križnih ligamenata, unatoč kirurškom vraćanju stabilnosti zgloba, OA se i dalje razvija. Ovo je potaknulo tezu kako kombinacija biomehaničkih stresova i biokemijskih čimbenika doprinosi osteoartritičnim promjenama (RAYWARD i sur., 2004.). Biokemijski čimbenici, posebno proupalni citokini, privukli su značajnu pozornost kao mogući uzročnici upale zglobova. Dok s jedne strane proupalni citokini mogu pogoršati postojeće stanje, s druge strane protuupalni citokini mogu potaknuti proces ozdravljenja. Ključno je razumjeti kako citokini mogu utjecati na ishod upalnog odgovora djelovanjem na različite stadije imunološkog odgovora. Postoje snažni dokazi koji ukazuju na to da pojedini citokini, poput interleukina 1 i 6, faktora nekroze tumora TNF- $\alpha$  i interleukina 8, imaju ključnu ulogu u pojavi upalnog procesa i degeneracije zglobnih hrskavica u oboljelim i/ili oštećenim zglobovima. U zglobovima su također prisutni i imunoregulacijski mehanizmi. Dva ključna imunoregulacijska faktora koja se nalaze u zglobovima su inhibitori citokina i faktori rasta. Međutim, istraživanja pro i protuupalnih citokina, kao i imunoregulacijskih mehanizama u pasa s oboljelim zglobovima tek su u početnim fazama.

### 5.1. Proupalni citokini

Iako su citokini interleukin-1 i TNF- $\alpha$  uglavnom proupalni citokini, različitih struktura i receptora na koje se vežu, oni pokazuju znatne sličnosti u svojim biološkim funkcijama uz često udruženo djelovanje. I interleukin-1 i TNF- $\alpha$  imaju ključnu ulogu u raznim fiziološkim i patofiziološkim procesima, a produciraju se prilikom upalnih procesa, ozljeda, imunoloških oboljenja i infekcija. Osim stanica monocitno-makrofagne linije, ove citokine mogu lučiti i različite druge vrste stanica, kao što su B i T stanice, mastociti, neutrofili, bazofili, eozinofili, plazma stanice i druge. Navedeni citokini utječu na aktivaciju ili smanjenje ekspresije određenih proteina te potiču infiltraciju upalnih stanica povećanjem adhezije leukocita na endotelnim stanicama. Osim navedenoga, oni također potiču i proizvodnju prostaglandina E2, što rezultira povećanom propusnošću krvnih žila što za posljedicu ima infiltraciju i aktivaciju upalnih stanica. Interleukin-1 i TNF- $\alpha$  smatraju se ključnim citokinima koji doprinose gubitku hrskavice s obzirom da potiču hondrocite i sinoviocite na stvaranje različitih enzima, a osim toga potiču i proliferaciju fibroblasta i sinovijalnih stanica, što dovodi do razvoja fibroznih promjena u zglobovima (PELLETIER i sur., 1996.). Ovi citokini, stvoreni od strane aktiviranih monocita i makrofaga, stimuliraju sinoviocite, hondrocite i osteoblaste na dodatnu produkciju interleukina-1 i TNF- $\alpha$ , čime se razina ovih citokina značajno povećava, što za posljedicu ima razvoj ozbiljnije upale. Bioaktivnost interleukina-1 nije određena samo njegovom ukupnom

količinom u sinovijalnoj tekućini, već i brojem receptora i specifičnih inhibitora. Iako se ranije smatralo kako je TNF- $\alpha$  povezan s akutnom upalnom fazom, sada je poznato kako ovaj citokin ima ulogu također i u kroničnoj upali (SUKEDAI i sur., 2004.). U novijim istraživanjima zabilježena je ekspresija TNF- $\alpha$  mRNA u stanicama sinovijalne tekućine pasa s imunološki posredovanim artritismom i spontanom pucanjem križnih ligamenata. Testovi za interleukin-1 i TNF- $\alpha$  nisu sposobni otkriti vrlo niske razine djelovanja ovih citokina, stoga izostanak njihove detektabilne aktivnosti u sinovijalnoj tekućini ne isključuje mogućnost da su oni ipak prisutni na funkcionalnim razinama Interleukin-6 još je jedan značajan citokin, višestrukih funkcija, povezan s upalom. Proizvode ga gotovo svi tipovi stanica, posebno kada ih stimuliraju interleukin-1 i TNF- $\alpha$ . Ovaj citokin igra ključnu ulogu u regulaciji imunoloških odgovora i hematopoeze te je najvažniji pokretač jetrenog akutno-faznog odgovora. Iako interleukin-6 nema proupalna svojstva koja imaju interleukin-1 i TNF- $\alpha$ , djeluje kao jak faktor rasta i diferencijacije B stanica. Zbog toga on može neizravno pojačati upalu poticanjem proizvodnje antitijela na kolagen ili drugih antigena unutar zgloba. Iako se interleukin-6 klasificira kao upalni citokin, on također ima i protuupalna svojstva. On može blokirati stvaranje proteolitičkih enzima stvorenih od strane interleukina-1 i TNF- $\alpha$  stimuliranih hondrocita, čime se smanjuje razgradnja hrskavice. Neka od istraživanja citokina u pasa s različitim vrstama artritisa ukazala su na to kako interleukin-6 može poslužiti kao opći indikator upale zgloba. Viša razina bioaktivnosti interleukina-6 utvrđena je u sinovijalnoj tekućini pasa s prirodnom ili eksperimentalno izazvanom rupturom prednjih križnih ligamenata u odnosu na zdrave pse (CARTER i sur., 1999.). Veća je ekspresija gena za interleukin-6 otkrivena u stanicama pasa s imunološki posredovanim poliartritisom u odnosu na pse kod kojih se radilo o prirodnoj rupturi prednjeg križnog ligamenta. Povišene razine interleukina-6 proporcionalne su većem stupnju upale nastale unutar zahvaćenog zgloba. Nedavna su istraživanja pokazala kako kemokini igraju ulogu u upali zglobova i degeneraciji hrskavice selektivnim pojačavanjem migracije i aktivacijom specifičnih podskupina leukocita. Interleukin-8 se smatra jednim od najjačih kemoatraktanata za neutrofile i T stanice. On se proizvodi u različitim stanicama (leukocitima, fibroblastima, endotelnim stanicama, hondrocitima, sinoviocitima) u prisutnosti interleukina-1, TNF- $\alpha$  i lipopolisaharida. Interleukin-8 ne samo da privlači polimorfonuklearne stanice već i potiče ekspresiju adhezijskih molekula, degranulaciju neutrofila i stvaranje kisikovih metabolita što za posljedicu može imati oštećenje tkiva. Novija istraživanja provedena na psima s unilateralnom rupturom prednjeg križnog ligamenta zabilježila su ekspresiju interleukina-8 u zahvaćenom koljenu, dok u kontralateralnom koljenu ona nije bila prisutna. Međutim, kasnijim pregledima utvrdilo se da je ekspresija ovog interleukina bila viša u kontralateralnom koljenu

koje je tijekom idućih 6 mjeseci doživjelo rupturu kranijalnog križnog ligamenta. Ovakav rezultat sugerira postojanje upalnog procesa u takvim zglobovima prije pojave klinički vidljive rupture. Interferon-gama predstavlja još jedan ključan citokin. S obzirom na činjenicu da uzrokuje pojačavanje aktivnosti TNF- $\alpha$  i potiče proizvodnju dušikovog oksida, može se smatrati proupalnim citokinom. Osim toga, on stimulira transformaciju Th stanica u Th1 stanice čime podržava staničnu imunost. Međutim, on posjeduje i protuupalna svojstva s obzirom da aktivira T stanice da postanu citotoksične T stanice i inhibira proizvodnju interleukina-1, interleukina-8 i metaloproteinaza od strane sinovijalnih stanica. Važno je naglasiti i kako nakon intravenske primjene u početnoj fazi procesa IFN-gama pokazuje proupalna svojstva, dok se primjenom u kasnijem tijeku bolesti može ublažiti upala zgloba (PULITI i sur., 2000.).

## 5.2. Protuupalni citokini

Uloga je protuupalnih citokina smanjenje proizvodnje i/ili djelovanja upalnih citokina. Dva ključna protuupalna citokina su IL-4 i IL-10. Interleukin-4 je citokin s višestrukim funkcijama kojeg u zglobovima izlučuju isključivo Th stanice. IL-4 smanjuje spontanu ili induciranu proizvodnju IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  i PGE2 iz monocita i sinovijalnih stanica. Generalni učinak IL-4 u upalnom tkivu ovisi o ciljnim stanicama, statusu diferencijacije i utjecaju okružujućih citokina. Interleukin-10 djeluje kao prirodni supresor različitih upalnih odgovora. On utječe na smanjenje proliferacije T stanica, proizvodnju IL-1b, IL-8 i TNF- $\alpha$  unutar sinovijalnog tkiva. Poticanjem sinteze topivih TNF receptora, IL-10 regulira proizvodnju TNF- $\alpha$ , a istovremeno smanjuje ekspresiju receptora za citokine na površini stanica.

## 5.3. Citokini uključeni u Th1 i Th2 diferencijaciju

Kao što je ranije spomenuto, stanični i humoralni imunološki odgovori usklađuju se preko podskupina Th stanica i njihovih citokina. Stanični se imunološki odgovori pokreću IFN, IL-2 i IL-12 dok humoralni imunološki odgovor pokreću IL-4 i IL-10. Novija istraživanja ruptura križnih ligamenata u pasa ukazuju na oprečne rezultate. Veća ekspresija Th1 i citokina, uz nepostojeću ekspresiju IL-4 u stanicama sinovijalne tekućine sugerira dominaciju staničnog imuniteta (HEGEMANN i sur., 2005.). Suprotno ovim činjenicama, dokazana je i relativno niska ekspresija IFN, kao i umjerena razina ekspresije IL-10, što drugi autori smatraju indikativnim za dominaciju Th2 u zahvaćenim zglobovima, a što podupire humoralni imunološki odgovor.

## 6. IMUNOREGULATORNI MEHANIZMI

Imunoregulacijski mehanizmi igraju ključnu ulogu u održavanju ravnoteže između upalnih procesa i zacjeljivanja tkiva, posebno u kontekstu kroničnih bolesti i ozljeda. Ovi mehanizmi uključuju različite molekularne i stanične interakcije koje omogućuju kontrolu upalnih odgovora, a istovremeno potiču proces regeneracije. U suvremenoj medicini, istraživanje i razvoj terapijskih sredstava usmjerenih na modulaciju imunoloških odgovora postaje sve važnije, s posebnim fokusom na inhibitore citokina i čimbenike rasta. Ovim se molekulama otvara mogućnost za nove pristupe u liječenju bolesti poput artritisa i ozljeda ligamenata.

### 6.1. Inhibitori citokina

Inhibitori citokina predstavljaju važnu terapijsku mogućnost za smanjenje kroničnih upalnih stanja. Dvije su glavne skupine ovih inhibitora: antagonisti receptora i topivi citokinski receptori. Jedan je od antagonista receptora temeljito istražen, a to je interleukin-1 receptorski antagonist (IL-1RA). On pokazuje visok stupanj homologije s IL-1 i može se vezati za IL-1 receptore na površini stanica bez prijenosa signala, što za posljedicu ima inhibiciju IL-1. Njega proizvode različite vrste stanica, uključujući monocite, sinoviocite i hondrocite. Da bi se učinkovito blokirali učinci IL-1 potrebno je da IL-1RA bude prisutan u 100 puta većoj količini. Stoga, u nedostatku odgovarajućih razina IL-1RA koje neutraliziraju interleukin-1, čak i male količine interleukina-1 mogu biti dovoljne za održavanje upale zglobova.

### 6.2. Čimbenici rasta

Čimbenici rasta su proteini koji potiču proces cijeljenja rana u oštećenim tkivima. U ligamentima su u ranoj fazi cijeljenja otkriveni transformacijski faktor rasta (TGF- $\beta$ ), čimbenik rasta trombocita i osnovni čimbenik rasta fibroblasta (bFGF). TGF- $\beta$  djeluje kao kemotaktički čimbenik za fibroblaste i potiče stvaranje kolagena i nekolagenih proteina u fibroblastima prednjih križnih ligamenata i medijalnog kolateralnog ligamenta, a također i smanjuje proizvodnju raznih proteolitičkih enzima, uključujući metaloproteinaze te potiče sintezu njihovih inhibitora. Pri rekonstrukciji prednjeg križnog ligamenta gdje je korišten graft koji se sastoji od kosti i patelarnih tetiva, intraartikularno davanje TGF- $\beta$  u kombinaciji s epidermalnim faktorom rasta, doprinijelo je poboljšanju strukturnih svojstava autografta (YASUDA i sur., 2004.). Ova istraživanja pokazuju kako primjena TGF- $\beta$  ima pozitivan učinak na strukturu kolagene mreže oštećenog prednjeg križnog ligamenta te da bi ona mogla potencijalno biti korisna u liječenju bolesti križnih ligamenata u pasa. Svakako je potrebna provedba dodatnih

istraživanja o korištenju TGF- $\beta$  kao terapijskog sredstva s obzirom na činjenicu da ovaj čimbenik ima i proupalno djelovanje. Inzulinu slični faktori rasta IGF-1 i 2 mogli bi biti korisni u liječenju artritisa s obzirom da mogu spriječiti razgradnju hrskavice i ligamenata, stimuliranjem stvaranja proteoglikana i kolagena, čak i kada su prisutni IL-1 i TNF- $\alpha$ . IGF-ovi se uglavnom vežu s jednim od šest poznatih proteina koji imaju sposobnost vezanja IGF-a u organizmu (IGFBP). Ovi IGFBP-ovi nisu samo pasivni prijenosnici IGF-ova, već svaki od njih posjeduje specifične funkcije (BAXTER, 2000.). Različita tkivna ekspresija ovih proteina, kao i specifična proteoliza omogućuju IGFBP-ovima da potaknu ili inhibiraju djelovanje IGF-ova. Na ovaj način IGFBP-ovi reguliraju mehanizam djelovanja IGF-1 i IGF-2. Postoperativno je u sinovijalnoj tekućini koljenog zgloba pasa s rupturom kranijalnih križnih ligamenata utvrđena povišena razina IGF-1 i IGF-2.



## 7. PROTEOLITIČKA RAZGRADNJA TKIVA

U pasa s rupturom križnog ligamenta uobičajen je nalaz povišenih razina glikozaminoglikana u sinovijalnoj tekućini što je pokazatelj pojačane razgradnje zglobnog tkiva. U ovakvih je pasa izražena i ekspresija degradacijskih enzima, kao što su metaloproteinaze, katepsin i fosfataze otporne na tartarat. MMP-ovi su važna sastavnica normalne remodelacije tkiva. Ova skupina enzima, ovisna o cinku, može razgraditi sve komponente izvanstaničnog matriksa. MMP-ovi se klasificiraju u različite podklase koje čine kolagenaze, želatinaze i stromelizin. Kolagenaze i stromelizin važne su karike MMP kaskade. Kolagenaze su sposobne razgraditi prirodne kolagene, a različite vrste kolagenaza pokazuju specifičnost za različite vrste kolagena.. Kolagenaza-1 (MMP-1) najčešće razgrađuje kolagen tipa 3, kolagenaza-2 (MMP-8) kolagen tipa 1, a kolagenaza-3 (MMP-13) primarno je usmjerena na kolagen tipa 2. Stromelizin (MMP-3) pokazuje širu specifičnost prema supstratu što mu omogućava razgradnju proteoglikana, elastina, fibronektina ali i različitih tipova kolagena. U svim se tjelesnim tekućinama u velikim količinama nalaze i specifični inhibitori naziva tkivni inhibitori metaloproteinaza (TIMP) koji sudjeluju u procesu inaktivacije MMP-ova. Nepravilno djelovanje MMP-ova ili njihovih inhibitora, ili kombinacija, može predstavljati ključan čimbenik u prelasku MMP kaskade iz normalnih u patološke uvjete. Sve više dokaza podupire tvrdnju kako MMP-ovi imaju važnu ulogu u razgradnji tetiva, ligamenata i zglobne hrskavice prilikom različitih vrsta oboljenja zglobova (MARTEL-PELLETIER i sur., 2001.). Rezultati svih ovih istraživanja sugeriraju kako nakon ozljede kranijalnih križnih ligamenata dolazi do nakupljanja iznimno visokih razina pro-MMP-ova i aktivnih MMP-ova, što može dovesti do razgradnje i apsorpcije ligamenata. Ovo bi ujedno moglo objasniti zašto mnoge ozljede kranijalnih križnih ligamenata, bilo istegnuća ili parcijalnih ruptura, na kraju ipak napreduju do potpune rupture. Proučavana je i aktivnost stromelizina u sinovijalnoj tekućini, hrskavicama i sinovijalnom tkivu kod pasa koji su pretrpjeli rupturu prednjih križnih ligamenata. Utvrđena je veća proizvodnja stromelizina u ozljeđenom koljenu u odnosu na zdravo koljeno. Također, u sinovijalnoj tekućini ozlijeđenog koljena zabilježena je viša razina MMP-3 u odnosu na zdravo koljeno (FUJITA i sur., 2006.). Istraživanja koja su se bavila ekspresijom mRNA MMP-a u stanicama križnih ligamenata i sinovijalne tekućine nisu otkrila ekspresiju MMP-a u sinovijalnim stanicama i stanicama križnih ligamenata. S druge strane, ekspresija stromelizina bila je znatno viša u stanicama intaktnog ligamenta starijih pasa i to uglavnom većih pasmina, u usporedbi sa stanicama intaktnog ligamenta u mladih pasa, manjih pasmina. Također, u sinovijalnoj tekućini, u pasa velikih pasmina, izraženija je bila i ekspresija MMP-1 i MMP-2.

Ovakav rezultat sugerira postojanje intenzivnijih promjena matriksa i/ili potencijalnih degenerativnih procesa koji zahvaćaju križne ligamente (VASSEUR i sur., 1985.). Prilikom proučavanja prisutnosti MMP-1 i TIMP-2 u sinovijalnoj tekućini pasa s rupturiranim i intaktnim kranijalnim križnim ligamentom utvrđeno je kako su razine MMP-1 povišene, dok su razine TIMP-2 snižene u sinovijalnoj tekućini pasa s oštećenim križnim ligamentima, iako razine MMP-1 također mogu biti i povišene. To sugerira da se MMP-1 ili proizvodi sistemski u manjoj količini, a intraartikularno u većoj količini ili da cirkulacijom dopijeva u oštećene zglobove kod pasa sa rupturom križnih ligamenata. Uzrok ovome je nepoznat. Sinovijalno tkivo pasa s bolestima križnih ligamenata proizvodi i druge kolagenolitičke enzime, kao što su katepsin i TRAP (MUIR i sur., 2005.). Katepsin kao cisteinska proteinaza razgrađuje N-terminalni dio kolagenske spirale čime otvara put djelovanju drugih proteolitičkih enzima. TRAP enzimi spadaju u skupinu metaloenzima koji u alkalnim uvjetima kataliziraju hidrolizu fosfatnih estera i anhidrida. TRAP pozitivne stanice, poput sinovijalnih stanica sličnih makrofagima, mogu izlučivati različite proteinaze i proizvoditi reaktivne kisikove spojeve, što im omogućuje razgradnju kolagenske trostruke spirale. Aktivirani makrofagi, kao i sinovijalni fibroblasti proizvode katepsin i TRAP, a njihova se prisutnost povezuje s pojavom ozljeda križnih ligamenata. Dok su u pasa s rupturom križnih ligamenata dokazani samo TRAP i katepsin S, ekspresija mRNA za katepsin K utvrđena je u pasa s intaktnim križnim ligamentima. No katepsin K može se dokazati i u stanicama izdvojenim iz zglobova koljena s oštećenim križnim ligamentim, što je pokazatelj važnosti uloge katepsina K u normalnoj dnevnoj obnovi matriksa. Stvaranje MMP-ova, katepsina i TRAP-a na mjestima upale, može doprinijeti razgradnji matriksa. Međutim, ključno je utvrditi uzrokuju li ovi proteolitički enzimi oboljenje križnih ligamenata ili su oni posljedica progresije bolesti.

## 8. ULOGA INFRAPATELARNOG MASNOG JASTUČIĆA

Infrapatelarni masni jastučić je pozicioniran između sinovijalne membrane i zglobne čahure gdje prekriva samo kranijalni dio koljena (Slika 8).



Slika 8. Shematski prikaz pozicije infrapatelarnog masnog jastučića

(Slika je preuzeta sa: <https://www.imaios.com/en/vet-anatomy/anatomical-structure/infrapatellar-fat-pad> 11077955692)

I dok s jedne strane on ima zaštitnu ulogu, s druge strane može pridonijeti razvoju bolesti koljenog zgloba. Masno tkivo infrapatelarnog masnog jastučića predstavlja značajan izvor adipokina i upalnih citokina a oni bi mogli biti odgovorni za poticanje degeneracije hrskavice i zglobnog tkiva. Bolesti križnih ligamenata vrlo su česte u pasa, a ujedno su i najčešći uzrok hromosti stražnjih nogu u pasa. Iako se u liječenju oštećenja križnih ligamenata najčešće izvode kirurški zahvati, nema dokaza o učinkovitosti u zaustavljanju daljnjeg razvoja osteoartritisa. S obzirom na navedeno, dublje bi razumijevanje razvoja osteoartritičnih promjena uvelike pomoglo u stvaranju učinkovitijih terapijskih pristupa. Izuzev čimbenika poput dobi, tjelesne težine, strukture koljenog zgloba i sastava ligamenata, postoje čvrsti dokazi kako upala značajno pridonosi progresiji osteoartritisa tijekom bolesti križnih ligamenata (COMERFORD i sur., 2011.). U pasa s bolestima križnih ligamenata usporedno se uočavaju upalne promjene sinovijalne membrane, epiligamenta i središnjeg dijela ligamenata. U sinovijalnoj tekućini se također detektiraju i protuupalni i različiti degenerativni čimbenici koji se povezuju s razvojem

osteoartritisa povezanog s bolestima križnih ligamenata. Ključan izvor tvari koje se pritom izlučuju u sinovijalnu tekućinu kod ovih ozljeda su ligamenti, sinovijalno tkivo i zglobne hrskavice. Sinovija sintetizira protuupalne citokine poput IL-1, IL-6, IL-8 te čimbenika nekroze tumora (TNF- $\alpha$ ). Sa nastankom osteoartritisa povezuje se i uloga matriksnih metaloproteinaza (MMP). Ipak, još uvijek nije potpuno jasan doprinos svake od ovih zglobnih struktura, kao niti vrijeme trajanja izloženosti potrebno za pokretanje ovih bolesti. Infrapatelarni masni jastučić, koji je karakterističan dio koljenog zgloba, dosad je uglavnom bio zapostavljen u veterinarskoj medicini. Smatralo se kako on ima isključivo biomehaničke funkcije u koljenom zglobu, ponajprije kao struktura koja ublažava udarce. Međutim, zbog svoje, kako intra, tako i ekstraartikularne pozicije i sve više prepoznate uloge masnog tkiva kao izvora čimbenika upale, sve više privlači pozornost u kontekstu osteoartritisa. Noviji pristup upućuje na to kako preopterećenje zgloba nije jedini uzrok razvoja osteoartritisa, već i upalni procesi unutar masnog tkiva igraju značajnu ulogu. Izuzev adipocita, masno tkivo sadrži i fibroblaste, endotelne stanice te imunološke stanice. Adipociti mogu proizvesti različite medijatore upale i tako potencijalno pridonijeti razvoju osteoartritisa. Brojne studije su dokazale kako se u infrapatelarnom jastučiću tijekom osteoartritisa infiltriraju makrofagi, limfociti te granulociti. Smatra se kako stanice imunološkog sustava sinergistički djeluju s adipocitima, što za posljedicu ima oslobađanje citokina, kao što su adipokini i interleukini (IOAN-FACSINAY i KLOPPENBURG, 2013.). Međutim, još uvijek nema dovoljno saznanja o utjecaju infrapatelarnog masnog jastučića na sintezu i oslobađanje medijatora upale. Danas se smatra kako bolesti prednjih križnih ligamenata obuhvaćaju čitav niz složenih biomehaničkih i bioloških procesa, a brojne su studije dokazale kako se promjene sinovijalnog omotača, ligamenata i hrskavica pokreću zajedničkim djelovanjem proupalnih citokina i enzima koji razgrađuju matriks, a koji se potom prenose sinovijalnom tekućinom. Suvremena istraživanja su potvrdila proupalno djelovanje infrapatelarnog masnog jastučića tijekom bolesti kranijalnih križnih ligamenata. Njegovo se djelovanje očituje povećanom ekspresijom gena i/ili oslobađanjem proupalnih citokina, kao što su IL-1, IL-6 te destruktivnih enzima poput MMP-1 i MMP-13, te adipokina, kao što su adiponektin i leptin. Tako se ključna uloga u proizvodnji i izlučivanju upalnih medijatora prepisuje imunim stanicama adipoznog tkiva, dok leptin i adiponektin koji se primarno izlučuju iz adipocita, čine iznimku (30). Najdetaljnije istražen adipokin je leptin. Leptin se neprestano izlučuje iz masnih stanica, a razina leptina u krvi izravno korelira s indeksom tjelesne težine. Njegova se transkripcija povećava pod utjecajem inzulina, endotoksina, interleukina-1 i interleukina-6. Smatra se kako leptin ima katabolički učinak na metabolizam hondrocita. On inhibira njihov razvoj, potiče proizvodnju proupalnog

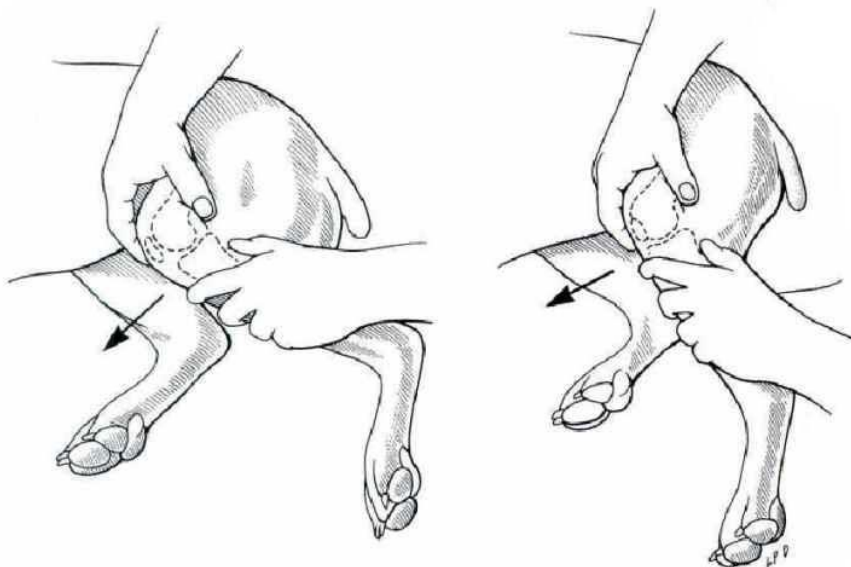
citokina (IL-1) te povećava ekspresiju metaloproteinaza matriksa, kao što su MMP-9 i MMP-13. Uz svoju glavnu funkciju u regulaciji energetske rezervi, leptin se smatra i čimbenikom rasta zbog svoje sposobnosti poticanja angiogeneze, suzbijanja apoptoze, a djeluje i kao mitogen. Dokazano dominantne stanice infrapatelarnog masnog tkiva u pasa s bolestima križnih ligamenata su T stanice i makrofagi. Makrofagi pritom igraju ključnu ulogu u regulaciji proizvodnje MMP-1 i MMP-3. Pretpostavka je kako infiltracija imunoloških stanica predstavlja ključan izvor proupalnih medijatora koji produžuju upalni odgovor okolnog tkiva parakrinim i autokrinim djelovanjem. Shodno ovome, vjeruje se kako infiltrirane imunološke stanice ulaze u interakciju s lokalnim adipocitima lučenjem citokina, što za posljedicu ima stvaranje upalnog svojstva masnog tkiva. U infrapatelarnom masnom tkivu pasa s bolestima križnih ligamenata utvrđena je povećana razina ekspresije gena za IL-1, IL-6 i TNF- $\alpha$ , kao i za MMP-1 i MMP-13. Lokalni adiponektin kao proupalni čimbenik mogao bi pridonijeti degradaciji matriksa zglobnih tkiva. Iako se sintetizira uglavnom u masnom tkivu, njegova sinteza može biti potaknuta i unutar sinoviocita i hondrocita. Prema novijim otkrićima, oštećena zglobna hrskavica, kao i sinoviociti, dodatan su izvor adiponektina i leptina (KOSKINEN i sur., 2011.). Na temelju svih rezultata istraživanja pretpostavka je kako višak tjelesne masti ima biološki učinak na degeneraciju zglobova. Lokalni adipokini, podrijetlom masnog tkiva, smatraju se humoralnim čimbenicima koji igraju ulogu u razvoju i napredovanju različitih bolesti zglobova, kao što su OA i RA.

## 9. KLINIČKI PRISTUP PSIMA S BOLESTIMA KRIŽNIH LIGAMENATA

Bolesti križnih ligamenata, posebno kranijalnih križnih ligamenata, predstavljaju jedan od najčešćih uzroka ortopedskih problema kod pasa. Ove ozljede često dovode do nestabilnosti koljenog zgloba, boli i smanjene funkcionalnosti, što zahtijeva specifičan klinički pristup kako bi se utvrdila što točnija dijagnoza i odredila najučinkovitija metoda liječenja. Klinička procjena pasa s ovim stanjem uključuje temeljit ortopedski pregled, različite dijagnostičke tehnike, kao i odabir najprikladnije terapijske opcije. U ovisnosti o težini stanja, pasmini, dobi i drugim čimbenicima donosi se odluka o kirurškom ili konzervativnom liječenju. Također, postoperativna rehabilitacija ključna je za uspješan oporavak i povratak normalne funkcije zgloba.

### 9.1. Ortopedski pregled

Prilikom sumnje na bolesti kranijalnih križnih ligamenata potrebno je učiniti temeljit ortopedski pregled. Ovaj pregled uključuje palpaciju i manipulaciju zglobovima, procjenu konformacije struktura, kao i procjenu hoda. Palpacijom je potrebno utvrditi postojanje nakupljene zglobne tekućine. Na konačnu potvrdu ozljede križnih ligamenata upućuje kranijalni pomak tibije prilikom izvođenja testa prednje ladice (Slika 9), bilo izravnog (test ladice) ili neizravnog (test kompresije tibije).



Slika 9. Prikaz izvođenja testa prednje ladice

(Slika je preuzeta sa: <https://dogkneeinjury.com/drawer-sign-test-and-tibial-compression-exam/>)

## 9.2. Liječenje bolesti kranijalnih križnih ligamenata

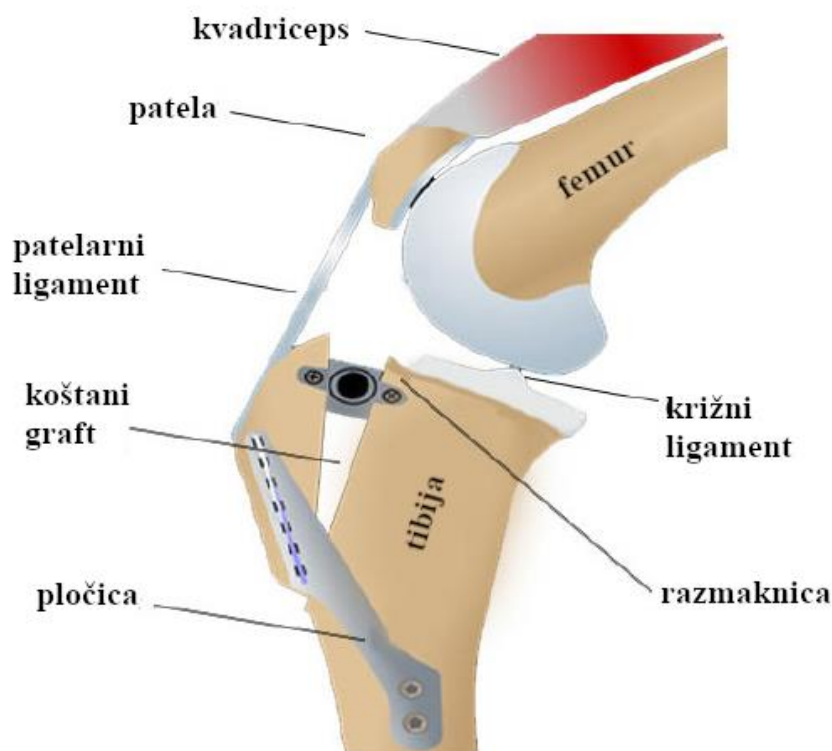
Cilj liječenja je poboljšanje stabilnosti koljenog zgloba kao i pokušaj povratka normalne funkcije zgloba, a opcija liječenja može biti kirurška ili konzervativna. Prilikom odabira odgovarajuće opcije liječenja potrebno je u obzir uzeti čimbenike, kao što su stupanj hromosti, dob i tjelesna težina. Konzervativan je pristup prihvatljiva opcija uglavnom u pasa manjih pasmina, a uključuje redukciju tjelesne težine, primjenu analgetika, fizioterapiju te poštedu od tjelesnih aktivnosti. S druge strane, niz je kirurških opcija liječenja, a one uključuju i intrakapsularne i ekstrakapsularne tehnike ali i osteotomiju poput osteotomije niveliranja tibijalne ploče (TPLO), kranijalizacija goljenične kvrge (TTA) i trostruke tibijalne osteotomije (TTO). Zlatni je standard kirurškog liječenja smanjenje kuta nagiba tibijalne plohe izvođenjem različitih osteotomija (TPLO, TTA) (NANDA i HANS, 2019.). TPLO (Slika 10) je najčešće primjenjivana tehnika liječenja rupture prednjih križnih ligamenata u pasa neovisno o njihovoj veličini.



Slika 10. Osteotomija niveliranja tibijalne ploče

(Slika je preuzeta sa: <https://www.animalsurgicalcenter.com/tibial-plateau-leveling-osteotomy--tplo>)

Kranijalni je dio tibijalne plohe izraženog nagiba te je stoga cilj osteotomije poravnanje navedenog nagiba. Ovakvim se zahvatom neutraliziraju mehaničke sile koje djeluju na koljeni zglob, čime prednji križni ligament gubi svoju ulogu. Manje invazivna kirurška metoda, a koja daje sličan rezultat, je TTA. Ovim se zahvatom reže prednji dio tuberositasa tibije te se on pomiče prema naprijed, a tuberositas se potom pričvršćuje posebnim implantantima (Slika 11).



Slika 11. Kranijalizacija goljenične kvrge

(Slika preuzeta sa: <https://pleasanthillspethospital.com/services/TTA-dog-surgery>)

Na ovaj se način održava stabilnost tibije prilikom prijenosa težine na ud. Ekstrakapsularna stabilizacija preporučena je kod malih pasmina. Kod ove se tehnike, za pričvršćivanje za meka ili koštana tkiva, koriste čvrsti šavovi s ciljem smanjenja zglobne nestabilnosti. Kod intrakapsularnih se tehnika uporabom autograftova, alograftova, ksenograftova ili sintetičkih materijala nastoji zamijeniti funkcija rupturiranog kranijalnog križnog ligamenta.

### 9.3. Postoperativni pristup i procjena bolesti kranijalnih križnih ligamenata

U današnje je vrijeme fizikalna rehabilitacija ključan i bitan dio protokola u liječenju različitih ortopedskih i neuroloških stanja, a tako i liječenja ruptura prednjih križnih ligamenata. Pravac liječenja u tom slučaju ide u dva smjera: kirurškom i konzervativnom. Zlatni standard u liječenju ipak predstavlja kirurško liječenje jer je kao takvo učinkovitije u ispravljanju nestabilnosti i obnavljanju funkcije zgloba, kao i odgađanju razvoja osteoartritisa (CANAPP i sur., 2016.). Istraživanja su potvrdila kako je oporavak uspješniji u pasa držanih na dijetnoj prehrani koji su redovito primali nesteroidne protuupalne lijekove i slijedili specifičan rehabilitacijski protokol u odnosu na one koji su liječeni konzervativnim pristupom. Čimbenici



o kojima ovisi odabir smjera liječenja su svakako težina pacijenta, stabilnost zgloba i ozbiljnost kliničkih znakova. Konzervativno liječenje ipak u nekim slučajevima može biti učinkovito na primjer u malih pasa i/ili pojedinaca s parcijalnom rupturom ligamenta, međutim velika je vjerojatnost kako će tijekom vremena ipak doći do progresije do potpunog puknuća (KIRKNESS, 2020.). Rehabilitacija igra značajnu ulogu u obnavljanju funkcionalnosti ozlijeđenog ekstremiteta. Neovisno o odabiru terapijske opcije cilj je rehabilitacijskih postupaka jednak: upravljanje boli, obnova normalne zglobne kinematike, jačanje periartikularnih i središnjih mišića kao i ispravljanje proprioceptivnih deficita. Nakon odabira kirurškog pristupa, terapeut treba biti upoznat s korištenom tehnikom kako bi odabrao najprikladniji rehabilitacijski plan. Ključan element rehabilitacijskog protokola je spriječiti dugotrajnu neupotrebljivost ekstremiteta koja bi ostavila negativne posljedice poput atrofije mišića, smanjene pokretljivosti zglobova, atrofije hrskavice, gubitak snage tetiva i ligamenata kao i osteopenije. Nakon sprovedene kirurške ekstrakapsularne stabilizacije preporuka je ograničiti aktivnost u prvih 8 tjedana nakon zahvata kako proces periartikularne fibroze, koji je jako bitan za stabilnost zgloba, ne bi bio ometan (KIRBY-SHAW i sur., 2020.). Iako rehabilitacija nalikuje onoj nakon ekstrakapsularne tehnike, u slučajevima provedbe intrakapsularne tehnike, terapeut treba u obzir uzeti materijal korišten tijekom operacije. U razdoblju od 2. do 20. tjedna od operacije, graft je osjetljiv zbog prolaska kroz procese revaskularizacije i biointegracije. Veća pozornost pridaje se pacijentima podvrgnutim osteotomiji s obzirom na veći rizik od postoperativnih komplikacija. Vrijeme zarastanja kosti je 8 do 12 tjedana no većina pasa vrlo rano može početi opterećivati zahvaćeni ud. Mnogi autori danas smatraju kako je praksa propisivanja potpunog odmora nakon zahvata zastarjela, a umjesto toga preporučuje se ciljana fizikalna terapija. Ovakvom promjenom pristupa nastoji se osigurati šansa za povratak psa uobičajenim aktivnostima i na taj način zaštititi njegova kvaliteta života (BALTZER i sur., 2018.). Odgovori, ako ih ima, na medicinsko liječenje usmjereni su na dva glavna poznata čimbenika bolesti križnog ligamenta: upalu i razgradnju kolagena posredovanu MMP-om. Stoga se u liječenju koriste nesteroidni protuupalni lijekovi i inhibitori MMP-a koriste, a klinički bolji rezultati pokazuje se u ranim fazama bolesti. Upravljanje boli, izuzev specifičnim farmakološkim protokolima usredotočenim na primjenu nesteroidnih protuupalnih lijekova, temelji se i na metodama poput krioterapije, transkutane električne stimulacije te laserske terapije. Primjerice, krioterapija se tako primjenjuje ne samo tijekom faze oštećenja tkiva, već i na završetku svakog rehabilitacijskog protokola, ali i u postoperativnom razdoblju te se ona pokazuje vrlo učinkovitom u smanjenju boli i postoperativnog edema kod pacijenata liječenih ekstrakapsularnom stabilizacijom. Pojedini

autori navode i kako krioterapija u ranim fazama nakon provedene osteotomije pomaže u smanjenju boli i oticanja te poboljšava pokretljivost koljenog zgloba. Kada se radi o kontroli boli, učinkovitom se pokazala i transkutana električna stimulacija živaca (TENS). Ovom se metodom može umanjiti bol uzrokovana osteoartritisom koji je vrlo česta posljedica resekcije ligamenata (LEVINE i SAUNDERS, 2014.). U kontroli boli također se učinkovitom pokazala još jedna tehnika a to je terapija laserom. Laser djeluje izravno na periferne nociceptore, što uzrokuje oslobađanje endorfina i enkefalina, ali isto tako uzrokuje i blokiranje prijenosa signala boli do mozga. Terapija laserom, osim navedenoga, ima i protuupalni učinak jer fotoni umanjuju koncentraciju prostaglandina E2 i ciklooksigenaze-2 (SAMOY i sur., 2016.). No, stvarna je učinkovitost laserske terapije i dalje u razmatranju. Jedan od glavnih ciljeva fizioterapijske rehabilitacije je isto tako i obnova normalnog opsega kretnji koljenog zgloba. S ciljem ublažavanja negativnih učinaka neaktivnosti i imobilizacije udova preporuča se i izvođenje vježbi za mobilizaciju zgloba. Vježbe koje se pritom izvode mogu biti pasivne ili aktivne podržane ili neovisne (SAMOY i sur., 2016.). Sve su ove aktivnosti ključne s obzirom da pomažu ispravljanju atrofije i potpomažu povećanju tonusa mišića odgovornih za stabilnost koljena. Jačanje mišića koji okružuju zglob, posebice kod manje aktivnih pasa, može se postići i neuromuskularnom električnom stimulacijom (NMES), a ova metoda pomaže i smanjenju edema i boli a istovremeno poboljšava pokretljivost zgloba (LEVINE i SAUNDERS, 2014.). Tijekom vremena, važnim je elementom veterinarske fizikalne rehabilitacije postala hidroterapija. Hidroterapija pomaže jačanju mišića, poboljšanju opsega kretnji i smanjenju boli te se smatra adekvatnim odabirom terapije već u samom početku rehabilitacije. Važno je i napomenuti kako pojedine kirurške tehnike koje se koriste u saniranju ruptur križnih ligamenata, kao što je TPLO, obično dovode do promjena u kinematici koljenog zgloba koja uzrokuje povećanje opterećenja patelarnog ligamenta. Nedavna istraživanja predstavila su i nove terapijske metode za konzervativan pristup sanaciji ruptura križnih ligamenata, posebice u onim slučajevima kada se radi o parcijalnoj rupturi. Rezultati liječenja također su se pokazali pozitivnim i primjenom autolognog koncentrata aspirata koštane srži i progenitornih stanica iz masnog tkiva u kombinaciji s trombocitima bogatom plazmom (KIRKNESS, 2020.).

## 10. ZAKLJUČAK

Unatoč tome što je ruptura prednjih križnih ligamenata vrlo česta ortopedska ozljeda kod pasa, njezina točna etiopatogeneza još uvijek nije u potpunosti razjašnjena. Degenerativne promjene križnih ligamenata smatraju se glavnim uzrokom rupture, a predisponirajući čimbenici poput pasmine, dobi, spola i tjelesne težine dodatno povećavaju rizik. Mehanički stres uzrokovan većim nagibom tibijalnog platoa i biomehaničke sile koje djeluju na koljeno također pridonose progresivnom slabljenju ligamenta. Osim toga, genetika igra važnu ulogu, a brojne studije ukazuju na povezanost između genetskog polimorfizma i strukturalnih svojstava ligamenta. Međutim, pravi utjecaj genetike zahtijeva daljnja istraživanja kako bi se potpuno razumjelo nasljedno svojstvo ove ozljede. Imunološki mehanizmi također se razmatraju kao važan čimbenik u nastanku bolesti križnih ligamenata. Ekstrasinovijalna pozicija ligamenta štiti ga od imunološkog nadzora, no nakon ozljede ligament može postati autoantigen koji potiče upalni odgovor. Iako su istraživanja pokazala moguću ulogu humoralnog i staničnog imunološkog odgovora, kao i citokina i drugih upalnih faktora, njihova precizna uloga u nastanku i progresiji bolesti križnih ligamenata još uvijek nije potpuno definirana. Razumijevanje ovih upalnih procesa moglo bi otvoriti mogućnost prevencije oštećenja križnih ligamenata, posebice kod kontralateralnog koljena. Isto tako, zbog svojih potencijalnih proupalnih svojstava, infrapatelarni masni jastučić postaje sve značajniji čimbenik u patogenezi ove bolesti. Njegov utjecaj na imunomodulaciju unutar zgloba zahtijeva daljnja istraživanja kako bi se bolje razumjela njegova uloga u pojavi i progresiji bolesti kranijalnih križnih ligamenata. Podrobnije poznavanje ovih imunoloških i mehaničkih procesa mogao bi značajno pridonijeti razvoju novih strategija liječenja i prevencije ove učestale patologije kod pasa.

## 11. LITERATURA

1. BAKER, L.A., P. MUIR (2018): Epidemiology of cruciate ligament rupture. *Advances in the Canine Cranial Cruciate Ligament*, 2nd ed. 109–114.
2. BAKER, L.A., G.J.M. ROSA, Z. HAO, A. PIAZZA, C. HOFFMAN, E.E. BINVERSIE, S.J. SAMPLE, P. MUIR (2018): Multivariate genome-wide association analysis identifies novel and relevant variants associated with anterior cruciate ligament rupture risk in the dog model. *BMC Genet.* 19, 39.
3. BALTZER, W.I., S. SMITH-OSTRIN, J.J. WARNOCK, C.G. RUAUX (2018): Evaluation of the clinical effects of diet and physical rehabilitation in dogs following tibial plateau leveling osteotomy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 252, 686–700.
4. BARRET, J.G., Z. HAO, B.K. GRAF, L.D. KAPLAN, J.P. HEINER, P. MUIR (2005): Inflammatory changes in ruptured canine cranial and human anterior cruciate ligaments. *Am. J. Vet. Res.* 66, 2073–2080.
5. BAXTER, R.C. (2000): Insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins: interactions with IGFs and intrinsic bioactivities. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 278 (6), 967–976.
6. CANAPP, S.O., C.S. LEASURE, C. COX, V. IBRAHIM, B. JEAN CARR (2016): Partial cranial cruciate ligament tears treated with stem cell and platelet-rich plasma combination therapy in 36 dogs: A retrospective study. *Front. Vet. Sci.* 14, 112.
7. CARTER, S.D., A. BARNES, W.H. GILMORE (1999): Canine rheumatoid arthritis and inflammatory cytokines. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 69, 201–214.
8. COMERFORD, E.J., K. SMITH, K. HAYASHI (2011): Update on the aetiopathogenesis of canine cranial cruciate ligament disease. *Vet. Comp. Orthopaed.* 242, 91–98.
9. COMERFORD, E.J. (2018): Morphological risk factors for cruciate ligament rupture. *Advances in the Canine Cranial Cruciate Ligament*, 2nd ed. 73–79.
10. DE CAMP, C.E., S.A. JOHNSTON, L.M. DÉJARDIN, S.L. SCHAEFER (Eds.) (2016): The stifle joint. *Brinker, Piermattei & Flo's Handbook of Small Animal Orthopaedics and Fracture Repair*, 5th ed. 616–643.
11. DE ROOSTER, H., E. COX, H. VAN BREE (2000): Prevalence and relevance of antibodies to type-I and -II collagen in synovial fluid of dogs with cranial cruciate ligament damage. *Am. J. Vet. Res.* 61, 1456–1461.
12. DE ROOSTER, H., E. COMERFORD (2018): Morphology and function of the cruciate ligaments. *Advances in the Canine Cranial Cruciate Ligament*, 2nd ed. 3–11.
13. DOOM, M., T. DE BRUIN, H. DE ROOSTER, H. VAN BREE, E. COX (2008):

- Immunopathological mechanisms in dogs with rupture of the cranial cruciate ligament. *Vet. Immunol. Immunopatol.* 125, 143–161.
14. DÖRING, A.-K., J. JUNGINGER, M. HEWICKER-TRAUTWEIN (2017): Cruciate ligament degeneration and stifle joint synovitis in 56 dogs with intact cranial cruciate ligaments: Correlation of histological findings and numbers and phenotypes of inflammatory cells with age, body weight and breed. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 196, 5–13.
  15. EVANS, H.E., G.C. CHRISTENSEN (1979): Ligaments and joints of the pelvic limb. *Miller's Anatomy of the Dog*, 2nd ed. 225–268.
  16. FOX, A.S. (2018): Change-of-direction biomechanics: Is what's best for anterior cruciate ligament injury prevention also best for performance? *Sports. Med.* 48, 1799–1807.
  17. FUJITA, Y., Y. HARA, Y. NEZU, K.S. SCHULZ, M. TAGAWA (2006): Proinflammatory cytokine activities, matrix metalloproteinase-3 activity, and sulfated glycosaminoglycan content in synovial fluid of dogs with naturally acquired cranial cruciate ligament rupture. *Vet. Surg.* 35 (4), 369–376.
  18. HARARI, J. (1993): Caudal cruciate ligament injury. *Vet. Clin. North. Am.: Sm. Anim. Pract.* 23, 821–829
  19. HAYASHI, K., J.D. FRANK, C. DUBINSKY, et al. (2003): Histologic changes in ruptured canine cranial cruciate ligament. *Vet. Surg.* 32, 269–277
  20. HEGEMANN, N., A. WONDIMU, B. KOHN, L. BRUNNBERG, M.F. SCHMIDT (2005): Cytokine profile in canine immune-mediated polyarthritis and osteoarthritis. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 18 (2), 67–72.
  21. HULSE, D.A., P.K. SHIRES (1985): The stifle joint. *Textbook of Small Animal Surgery* (Slatter, D.H., Ed.) 2193–2235.
  22. IOAN-FACSINAY, A., M. KLOPPENBURG (2013): An emerging player in knee osteoarthritis: the infrapatellar fat pad. *Arthritis Res. Ther.* 15, 225
  23. JIN, D., L. ZHANG, J. ZHENG, Y. ZHAO (2008): The inflammation Th17 subset in immunity against self and non-self antigens. *Autoimmunity*, 42 (2), 154–162.
  24. KIRBY-SHAW, K., L. ALVAREZ, J.E. TOMLINSON, A.J. SHAW (2020): Fundamental principles of rehabilitation and musculoskeletal tissue healing. *Vet. Surg.* 49, 22–32.
  25. KIRKNESS, H. (2020): Management of cranial cruciate ligament ruptures in dogs. *Vet. Nurs. J.* 35, 235–237.
  26. KOBAYASHI, S., H. BABA, K. UCHIDA, et al. (2006): Microvascular system of anterior cruciate ligament in dogs. *J. Orthop.* 24, 1509–1520.

27. KÖNIG, H.E., H.G. LIEBICH (2009): Anatomija domaćih sisavaca. Prvo hrvatsko izdanje, 247–250.
28. KORVICK, D.L., G.J. PIJANOWSKI, D.J. SCHAEFFER (1994): Three-dimensional kinematics of the intact and cranial cruciate ligament-deficient stifle of dogs. *J. Biomech.* 27, 77–87.
29. KOSKINEN, A., S. JUSLIN, R. NIEMINEN, T. MOILANEN, K. VUOLTEENAHO, E. MOILANEN (2011): Adiponectin associates with markers of cartilage degradation in osteoarthritis and induces production of proinflammatory and catabolic factors through mitogen-activated protein kinase pathways. *Arthritis Res. Ther.* 136, R184
30. KOWALESKI, M.P., R.J. BOUDRIEU, A. POZZI (2018): Stifle Joint. *Veterinary Surgery, Small Animal* (Johnston, S.A., Tobias, K.M., Eds.), 2nd ed. 1071–1139.
31. KUTZLER, M.A. (2020): Possible relationship between long-term adverse health effects of gonad-removing surgical sterilization and luteinizing hormone in dogs. *Animals*, 10, 599.
32. LEMBURG, A.K., A. MEYER-LINDENBERG, M. HEWICKER-TRAUTWEIN (2004): Immunohistochemical characterization of inflammatory cell populations and adhesion molecule expression in synovial membranes from dogs with spontaneous cranial cruciate ligament rupture. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 97 (3–4), 231–240.
33. LEVINE, D., B. BOCKSTAHLER (2014): Electrical stimulation. *Canine Rehabilitation and Physical Therapy* (Millis, D., Levine, D., Eds.), 2nd ed. 342–358.
34. MARTEL-PELLETIER, J., D.J. WELSCH, J.-P. PELLETIER (2001): Metalloproteases and inhibitors in arthritic diseases. *Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 15, 805–829.
35. MONAHAN, J.J., P. GRIGG, A.M. PAPPAS, et al. (1984): In vivo strain patterns in the four major canine knee ligaments. *J. Orthop. Res.* 2, 408–418.
36. MOORE, K.W., R.A. READ (1996): Rupture of the cranial cruciate ligament in dogs. Part I. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 18, 223–233.
37. MUIR, P., N.A. DANOVA, D.J. ARGYLE, et al. (2005): Collagenolytic protease expression in cranial cruciate ligament and stifle synovial fluid in dogs with cranial cruciate ligament rupture. *Vet. Surg.* 34, 482–490.
38. MUIR, P., G.M. SCHAMBERGER, P.A. MANLEY, et al. (2005): Localization of Cathepsin K and Tartrate-resistant acid phosphatase in synovium and cranial cruciate ligament in dogs with cruciate disease. *Vet. Surg.* 34, 239–246.
39. MUIR, P., Z. SCHWARTZ, S. MALEK, A. KREINES, S.Y. CABRERA, N.J. BUOTE, J.A. BLEEDORN, S.L. SCHAEFER, G. HOLZMAN, Z. HAO (2011): Contralateral Cruciate Survival in Dogs with Unilateral-Contact Cranial Cruciate Ligament Rupture.

PLoS ONE, 6, e25331.

40. NANDA, A., E.C. HANS (2019): Tibial Plateau Leveling Osteotomy for Cranial Cruciate Ligament Rupture in Canines: Patient Selection and Reported Outcomes. *Vet. Med. Res. Rep.* 10, 249–255.
41. NEUMANN, D.A. (2017): *Knee. Kinesiology of the Musculoskeletal System, Foundations for Rehabilitation*, 3rd ed, NEUMANN, D.A., Ed., Elsevier. 538–594.
42. PELLETIER, J.P., J. MARTEL-PELLETIER, D.S. HOWELL (1996): *Ethiopathogenesis of Osteoarthritis. Arthritis And Allied Conditions: A Textbook of Rheumatology*, McCARTY, D.J., W.J. KOOPMAN, Eds., Lea & Febiger.
43. PULITI, M., C. VON HUNOLSTEIN, F. BISTONI, P. MOSCI, G. OREFICI, L. TISSI (2000): Influence of interferon-gamma administration on the severity of experimental group B streptococcal arthritis. *Arthritis Rheum.* 43, 2060–2065.
44. RAYWARD, R.M., D.G. THOMSON, J.V. DAVIES, J.F. INNES, R.G. WHITELOCK (2004): Progression of osteoarthritis following TPLO surgery: a prospective radiographic study of 40 dogs. *J. Small Anim. Pract.* 45, 92–97.
45. SAMOY, Y., B. VAN RYSSSEN, J. SAUNDERS (2016): *Physiotherapy in small animal medicine. Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.* 85, 323–334.
46. SLAUTERBECK, J.R., K. PANKRATZ, K.T. XU, S.C. BOZEMAN, D.M. HARDY (2004): Canine ovariohysterectomy and orchiectomy increase the prevalence of ACL injury. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 429, 301–305.
47. SLOCUM, B., T. DEVINE (1998): Algorithm for diagnosis and treatment of the stifle for cranial cruciate ligament rupture. *Current Techniques in Small Animal Surgery*, Bojrab, M.J. (ed), Williams & Wilkins, 1187–1193.
48. SUKEDAI, M., K. TOMINAGA, M. HABU, A. MATSUKAWA, T. NISHIHARA, J. FUKUDA (2004): Involvement of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-8 in antigen-induced arthritis of the rabbit temporomandibular joint. *J. Oral Pathol. Med.* 33 (2), 102–110.
49. SUTTON, K. M., J. M. BULLOCK (2013): Anterior cruciate ligament rupture: Differences between males and females. *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* 21, 41–50.
50. TINGA, S., S. KIM, S. A. BANKS, S. JONES, B. H. PARK, A. POZZI, D. D. LEWIS (2018): Femorotibial kinematics in dogs with cranial cruciate ligament insufficiency: A three-dimensional in-vivo fluoroscopic analysis during walking. *BMC Vet. Res.* 14, 85.
51. TORRES, B. T. (2020): *Objective gait analysis. Canine Lameness*, 1st ed., DUERR, F. M., Ed., Wiley-Blackwell, 15–30.

52. UDOMSINPRASERT, W., P. YUKTANANDANA, T. TANPOWONG, S. MALILA, W. JIAMJARASRANGSI, S. HONSAWEK (2018): Adiponectin gene rs1501299 polymorphism is associated with increased risk of anterior cruciate ligament rupture. *Biomed. Rep.* 10, 133–139.
53. VASSEUR, P.B., R. R. POOL, S. P. ARNOZCKY (1985): Correlative biomechanical and histologic study of the cranial cruciate ligament in dogs. *Am. J. Vet. Res.* 46, 1842–1854.
54. WILDEY, G.M., C. A. MCDEVITT (1998): Matrix protein mRNA levels in canine meniscus cells in vitro. *Arch. Biochem. Biophys.* 353, 10–15.
55. WINGFIELD, C., A. A. AMIS, A. C. STEAD, et al. (2000): Cranial cruciate stability in the Rottweiler and racing Greyhound: an in vitro study. *J. Small Anim. Pract.* 41, 193–197.
56. YAHIA, L.H., G. DROUIN (1989): Microscopical investigation of canine anterior cruciate ligament and patellar tendon: collagen fascicle morphology and architecture. *J. Orthop. Res.* 7, 243–251.
57. YAHIA, L.H., N. M. NEWMAN, M. ST GEORGES (1992): Innervation of the canine cruciate ligaments. A neurohistological study. *Anat. Histol. Embryol.* 21, 1–8.
58. YASUDA, K., F. TOMITA, S. YAMAZAKI, A. MINAMI, H. TOHYAMA (2004): The effect of growth factors on biomechanical properties of the bone-patellar tendon-bone graft after anterior cruciate ligament reconstruction: a canine model study. *Am. J. Sports Med.* 32, 870–880.
59. ZINK, C., B. JEAN CARR (2018): Locomotion and athletic performance. In *Canine Sports Medicine and Rehabilitation*, 2nd ed., Zink, C., Van Dyke, J.B., Eds. 23–42.
60. ZINK, C., B. JEAN CARR (2018): What is a canine athlete? In *Canine Sports Medicine and Rehabilitation*, 2nd ed., Zink, C., Van Dyke, J.B., Eds. 12–14.



## 12. SAŽETAK

Stanični i humoralni mehanizmi nastanka rupture prednjih križnih ligamenata u pasa

Ivana Vinter

Bolesti prednjih križnih ligamenata predstavljaju jednu od najčešćih ortopedskih patologija kod pasa, uzrokujući značajnu bol i nestabilnost koljenog zgloba, što dovodi do razvoja osteoartritisa. Ruptura prednjeg križnog ligamenta remeti biomehaničku ravnotežu zgloba, a čimbenici poput pasmine, starosti, spola i tjelesne težine povećavaju rizik od ozljede. Mehanički stres uzrokovan nagibom tibijalnog platoa i druge biomehaničke sile također pridonose slabljenju ligamenata. Degenerativne promjene unutar ligamenata smatraju se primarnim uzrokom rupture, dok genetika ima značajnu ulogu, no njen pravi utjecaj još nije u potpunosti razjašnjen. Osim biomehaničkih aspekata, sve više se istražuju imunopatološki mehanizmi, pri čemu je dokazano da križni ligamenti nakon ozljede mogu postati autoantigeni, što pokreće lokalni imunološki odgovor i kroničnu upalu. Citokini, proteolitički enzimi i infrapatelarni masni jastučić igraju ključne uloge u tim procesima, a neravnoteža između proupalnih i protuupalnih čimbenika može dovesti do progresivne degeneracije zglobnog tkiva i daljnjih komplikacija. Postoperativna rehabilitacija i pravilno liječenje od iznimne su važnosti za povratak funkcionalnosti zgloba i sprječavanje daljnje degeneracije. Iako je postignut značajan napredak u razumijevanju ove patologije, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se razjasnili točni imunopatološki mehanizmi, genetski čimbenici i uloga infrapatelnog masnog jastučića, te kako bi se razvile nove strategije liječenja i prevencije ovih bolesti kod pasa.

Ključne riječi: prednji križni ligamenti, degenerativne promjene, imunopatološki mehanizmi, infrapatelarni masni jastučić, citokini

### 13. SUMMARY

#### Cellular and humoral mechanisms of anterior cruciate ligament rupture in dogs

Ivana Vinter

Diseases of the anterior cruciate ligaments represent one of the most common orthopedic pathologies in dogs, causing significant pain and instability in the stifle joint, which leads to the development of osteoarthritis. Rupture of the anterior cruciate ligament disrupts the biomechanical balance of the joint, and factors such as breed, age, sex, and body weight increase the risk of injury. Mechanical stress caused by the slope of the tibial plateau and other biomechanical forces also contribute to ligament weakening. Degenerative changes within the ligaments are considered the primary cause of rupture, while genetics plays a significant role; however, its true impact has not yet been fully clarified. In addition to biomechanical aspects, immunopathological mechanisms are increasingly being investigated, with evidence showing that cruciate ligaments can become autoantigens after injury, triggering a local immune response and chronic inflammation. Cytokines, proteolytic enzymes, and the infrapatellar fat pad play key roles in these processes, and an imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory factors can lead to progressive degeneration of joint tissue and further complications. Postoperative rehabilitation and appropriate treatment are of utmost importance for restoring joint functionality and preventing further degeneration. Although significant progress has been made in understanding this pathology, further research is needed to clarify the exact immunopathological mechanisms, genetic factors, and the role of the infrapatellar fat pad, as well as to develop new treatment and prevention strategies for these diseases in dogs.

Keywords: anterior cruciate ligaments, degenerative changes, immunopathological mechanisms, infrapatellar fat pad, cytokines

## 14. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 6. rujna 1996. godine u Zagrebu. Po završetku osnovne škole Oton Iveković, upisujem X. gimnaziju Ivan Supek u Zagrebu. Tijekom navedenog školovanja sam usvojila znanja iz engleskog, njemačkog i ruskog jezika. Tijekom srednjoškolskog obrazovanja, bila sam aktivna članica izviđača, gdje sam imala priliku preuzeti ulogu predvodnika djece. Kroz ovaj angažman razvila sam organizacijske i voditeljske vještine. Osim toga, bila sam posvećena volonterskom radu, kako sa djecom tako i sa životinjama, što mi je omogućilo da doprinesem lokalnoj zajednici. Svoje sam obrazovanje potom nastavila u području koje me oduvijek zanimalo, upisivanjem integriranog prijediplomskog i diplomskog studija veterinarske medicine na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Sport je od malih nogu bio bitan dio mog života, a svoju bitnost nije izgubio do danas. Tijekom studija aktivno sam se bavila sportom, a isto tako i radila za Hrvatski kickboxing savez. Ova kombinacija sportskih i akademskih iskustava oblikovala je moju disciplinu, predanost i radnu etiku.