

# Rekurentna opstrukcija dišnih puteva u konja u svjetlu higijene smještaja i držanja

---

Požega, Majda

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:490888>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-06**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

**Majda Požega**

**REKURENTNA OPSTRUKCIJA DIŠNIH PUTEVA U KONJA U SVJETLU  
HIGIJENE SMJEŠTAJA I DRŽANJA**

**DIPLOMSKI RAD**

Zagreb, 2019.

Diplomski rad izrađen je na Klinici za unutarnje bolesti i Zavodu za higijenu, ponašanje i dobrobit životinja Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

**Predstojnica Klinike za unutarnje bolesti:** izv. prof. dr. sc. Ivana Kiš

**Predstojnica Zavoda za higijenu, ponašanje i dobrobit životinja:** prof. dr. sc. Kristina Matković

**Mentor:** prof. dr. sc. Damjan Gračner

**Mentorica:** izv. prof. dr. sc. Gordana Gregurić Gračner

**Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:**

1. prof. dr. sc. Marko Samardžija
2. prof. dr. sc. Damjan Gračner
3. izv. prof. dr. sc. Gordana Gregurić Gračner
4. prof. dr. sc. Ljiljana Bedrica (zamjena)

## **ZAHVALA**

*Zahvaljujem mentorima prof. dr. sc. Damjanu Gračneru i izv. prof. dr. sc. Gordani Gregurić Gračner na velikoj podršci i inspiraciji, ne samo tijekom nastanka ovog diplomskog rada, već za čitavo vrijeme studija.*

*Iznimno sam zahvalna svojoj obitelji, svim kolegama i prijateljima uz čiju sam pomoć i podršku ovaj studij uspješno privela kraju.*

## POPIS KRATICA

AHR – engl. *airway hyperreactivity* (hiperreaktivnost dišnih puteva)

AP-1 – engl. *activator protein-1* (aktivatorski protein-1)

ASM – engl. *airway smooth muscles* (glatko mišićje dišnih puteva)

BAL – engl. *bronchoalveolar lavage* (bronhoalveolarna lavaža)

BALF – engl. *bronchoalveolar lavage fluid* (ispirak dobiven bronhoalveolarnom lavažom)

BCL-2 – engl. *proteins of the B-cell lymphoma-2* (protein tipa 2 izoliran iz B-stanica limfoma)

CLCA – engl. *calcium-activated chloride channel regulators* (regulatori kalcijem aktiviranih kanala klorida)

CLCA1 – engl. *calcium activated chloride channels* (kalcijem aktivirani kanali klorida)

GM-CSF – engl. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, poznat i kao *colony-stimulating factor 2* (čimbenik rasta kolonija granulocita i makrofaga)

IAD – engl. *inflammatory airway disease* (upalna bolest dišnih prohoda)

KKS – kompletna krvna slika

KOPB – kronična opstruktivna plućna bolest

MCC – engl. *mucociliary clearance* (mukocilijarni transport)

MIP2 – engl. *macrophage inflammatory protein 2-alpha* (makrofagni upalni protein 2-alfa)

mRNA – engl. *messenger RNA* (glasnička ribonukleinska kiselina)

MUC5A i MUC5B – engl. *mucin 5, subtype A and B* (geni za mucin 5A i 5B)

NF-κB – engl. *nuclear factor kappa B* (nuklearni faktor kappa B)

PAMP – engl. *pathogen associated molecular patterns* (molekularni uzorci povezani s patogenom)

PELF – engl. *pulmonary epithelial lining fluid* (plućna epitelna tekućina)

PRR – engl. *pattern recognition receptors* (evolucijski očuvani receptorski proteini)

RAO – engl. *recurrent airway obstruction* (rekurentna opstrukcija dišnih puteva)

ROS – engl. *reactive oxygen species* (reaktivni spojevi kisika)

STAT5 – engl. *signal transducer and activator of transcription 5* (proteini prenosioci signala i aktivatori transkripcije)

TGF – engl. *transforming growth factor* (transformirajući faktor rasta)

TLR – engl. *toll-like receptors* (receptori slični Tollu)

TTA – engl. *transtracheal aspirate* (transtrahealna aspiracija)

URTI – engl. *upper respiratory tract infections* (upala gornjih dišnih puteva)

## **POPIS TABLICA I SLIKA**

### Tablice:

Tablica 1. Preporučene doze lijekova za terapiju RAO-a. Preuzeto iz: Léguillette, 2003.

### Slike:

Slika 1. Rekurentna opstrukcija dišnih puteva (RAO), metaplazija vrčastih stanica, bronhioli, pluća, konj. Preuzeto iz: López, 2012.

Slika 2. Citološki nalaz bronhoalveolarnog ispirka (BAL) konja oboljelog od RAO-a. Preuzeto iz: Léguillette, 2003.

Slika 3. Toll-like receptori i njihovi ligandi. Preuzeto iz: Takeda i Akira, 2005.

Slika 4. Klinička slika RAO-a. Preuzeto iz: Léguillette, 2003.

Slika 5. „Žlijeb sipnje“. Preuzeto iz: Léguillette, 2003.

Slika 6. Čestice prašine u stajskom zraku. Preuzeto s: <https://thehorse.com/111093/heaves-copd-rao-or-simply-equine-asthma/>

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA .....	2
2. 1. TERMINOLOGIJA RAO-a .....	2
2. 2. ETIOLOGIJA .....	3
2. 3. PATOFIZIOLOGIJA RAO-a .....	3
2. 3. 1. Imunološka osnova upale dišnih puteva .....	5
2. 3. 2. Aktivacija faktora transkripcije.....	7
2. 3. 3. Uloga T-stanica u konja oboljelih od RAO-a .....	8
2. 3. 4. Priljev neutrofila u dišne puteve konja oboljelih od RAO-a.....	8
2. 3. 5. Oksidativni stres u RAO-u.....	10
2. 3. 6. Uloga TOLL-like receptora u RAO-u.....	10
2. 3. 7. Produkcija sluzi u RAO-u .....	12
2. 4. KLINIČKA SLIKA .....	14
2. 5. DIJAGNOSTICIRANJE .....	15
2. 6. LIJEČENJE .....	16
2. 7. PREVENTIVA .....	19
2. 7. 1. Čimbenici koji utječu na kvalitetu zraka u staji.....	19
2. 7. 2. Hranidba.....	20
2. 7. 3. Stelja .....	21
2. 7. 4. Aktivnosti u staji .....	22
2. 7. 5. Prozračivanje.....	22
3. RASPRAVA.....	24
4. ZAKLJUČCI.....	31
5. LITERATURA.....	32
6. SAŽETAK.....	45
7. SUMMARY .....	47
8. ŽIVOTOPIS .....	49

## 1. UVOD

Tijekom proteklih godina različiti su nazivi i kratice korišteni za opis upalnog i hiperreaktivnog stanja dišnih prohoda konja koji se očituju kašljem. Nedavno je u Sjedinjenim Američkim Državama predloženo da se svi ti različiti sindromi objedine pod nazivom „astma konja“. U skupini kroničnih upala donjih dišnih prohoda konja, nezarazne prirode, najznačajnije mjesto zauzimaju dva sindroma: rekurentna opstrukcija dišnih prohoda (engl. *recurrent airway obstruction*, RAO) i upalna bolest dišnih prohoda (engl. *inflammatory airway disease*, IAD), čije razlikovanje predstavlja veliki klinički izazov (MAIR, 1987.). Dok IAD predstavlja stanje u mladim konja sa simptomima nepodnošenja tjelesnog napora i intermitentnim kašljem koji nestaje u stanju mirovanja, a bolesni konji se u potpunosti mogu oporaviti spontano ili liječenjem, RAO je bolest koja se razvija najčešće u starijih konja držanih u staji i izloženih prašnjavom sijenu i slami. Simptomi RAO-a su suženje dišnih prohoda (bronhokonstrikcija), pojačano lučenje sluzi i bronhospazam koji, za razliku od IAD-a, ne nestaju u stanju mirovanja životinje te se i tada ona očituje tahipnejom i/ili kašljem (ROBINSON, 2001.; HOUSE, 2009.). Iako patogeneza nije još sasvim istražena, jasno je da RAO ima upalnu i alergijsku osnovu. Neka istraživanja navode na pretpostavku da preosjetljivost na alergene može biti posljedica ranijeg bronhiolarnog oštećenja uzrokovanog virusnim infekcijama, pneumotoksinima (3-metilindol) ili dugotrajnog izlaganja alergenima (LÓPEZ, 2012.). Najčešći su alergeni plijesan, organska prašina i endotoksini iz sijena i slame. Aktivacija bolesti česta je u zimskim mjesecima zbog boravka u štali. Prosječna dob konja u početku bolesti je 9 do 12 godina, a podjednako su zahvaćena oba spola. Čini se da postoji i nasljedna komponenta u nastanku ove bolesti. Dijagnoza se potvrđuje na temelju anamneze, kliničke slike i dodatnih dijagnostičkih testova (transtrahealna aspiracija - TTA, bronhoalveolarna lavaža - BAL, rendgen, ultrazvuk i proba rada) koji potvrđuju karakterističnu upalu donjih dišnih puteva (HOUSE, 2009.).

S obzirom da je RAO kronična bolest koja se ne može u potpunosti izliječiti, ali uz primjenu odgovarajuće medikamentozne terapije te prikladnim držanjem i hranidbom uspješno se može kontrolirati (HOUSE, 2009.), cilj ovog rada je na osnovi trenutačno dostupnih podataka iz literature predstaviti relevantne i aktualne spoznaje s posebnim žarištem na prevenciju bolesti, kao i postupke s oboljelim konjima.



## 2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

### 2. 1. TERMINOLOGIJA RAO-a

U posljednje vrijeme vođene su mnoge polemike oko točnog naziva kronične bolesti dišnih prohoda konja. Njemački veterinar H. Sasse 1971. godine uveo je u veterinarsku medicinu pojam kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB) kako bi opisao sipljive konje zbog sličnosti s tom bolešću u ljudi (HAMANN, 1999.). Međutim, današnje znanje o respiratornim bolestima u ljudi i konja od tada je znatnijeg obima i sada je jasno da je kronična bolest dišnih prohoda konja sličnija astmi nego li KOPB-u u ljudi (COUËTIL, 2015.).

KOPB u ljudi je progresivna ireverzibilna bolest nastala obično kao posljedica pušenja. Stoga uporaba naziva KOPB konja dovodi do pogrešnog razumijevanja i uporabe. Veterinari su počeli navedeni naziv primjenjivati za sve konje s anamnezom mukopurulentne sekrecije dišnih prohoda koji slabije ili nikako ne podnose fizički napor. Tako se, primjerice, događa da se mladim sportskim konjima, čiji su sportski rezultati ispod očekivanja, često pogrešno postavlja dijagnoza KOPB-a sugerirajući da je njihovo stanje trajno i progresivno. Međutim, nema znanstvenih dokaza koji bi mogli potvrditi ove zaključke. Kako različiti laboratoriji razvijaju specijalizirane molekularne tehnike istraživanja, dijeljenje uzoraka iz jasno definirane populacije povećava veličinu uzorka studija i daje pouzdanije rezultate (ROBINSON, 2001.).

Zbog reverzibilne prirode bolesti, danas je među veterinarima i znanstvenicima usvojen termin rekurentna opstrukcija dišnih puteva (RAO) iako se u starijoj literaturi ovo stanje još uvijek može naći pod nazivima: sipljivost, sindrom kroničnog bronhiolitisa – emfizema, kronična bolest malih dišnih puteva, astma konja te alveolarni emfizem (LÓPEZ, 2012.). Kako su predisponirajući čimbenik za nastanak ove bolesti čestice prašine koje se obično nalaze u stajama, simptomi će uglavnom nestati nakon što se konjima izmijene uvjeti držanja i budu izmješteni na pašnjak.

Međutim, u nekih konja držanih na pašnjaku tijekom ljeta pojavit će se identični znakovi kao odgovor na visoke razine plijesni i peludi drveća (COUËTIL, 2015.).

## 2. 2. ETIOLOGIJA

Gljivica *Aspergillus fumigatus*, je ubikvitarna saprofitska gljivica često prisutna u konjskim stajama i smatra se jednim od glavnih uzročnika nastanka RAO-a. Ljudi i životinje stalno su u kontaktu s brojnim konidijama ove gljivice. Urođeni imunosni mehanizmi obično eliminiraju konidije u imunokompetentnim domaćinima u kojih su aspergilom i alergijska bronhopulmonalna aspergiloza jedine značajnije infekcije ovom vrstom gljivice. *A. fumigatus* godinama su smatrali slabim patogenom. Porastom broja imunosupresivnih pacijenata, došlo je i do značajnije pojavnosti teške i obično fatalne aspergiloze, koja je trenutno najčešća infekcija uzrokovana plijesnima. Alergijske bolesti, uključujući astmu, alergijski sinusitis i alveolitis, nastaju nakon opetovane izloženosti konidijama ili antigenima gljivice iz roda *Aspergillus*, ali bez kolonizacije micelijima. U većini slučajeva izmještanje pacijenta iz okoliša koji je izvor ovog antigena rezultira poboljšanjem zdravstvenog stanja (LATGÉ, 1999.; MORAN i FOLCH, 2011.).

I drugi patogeni mogu doprinijeti razvoju ove bolesti, poput bakterije *Faenia rectivirgula*, koja je povezana s razvojem plućne preosjetljivosti kod konja zahvaćenih RAO-om (McPHERSON i sur., 1979.; DERKSEN i sur., 1988.; MCGORUM i sur., 1993.a, b). Prašinske grinje (*Acari*) ili njihov feces također su potencijalni alergeni za ljude i konje (GERBER, 1973.; HOCKENJOS i sur., 1981.). CLARKE i MADELIN (1987.) izvijestili su da je broj grinja u krmu proporcijalan broju gljivičnih spora. ARAYA i ZAROR (1995.) izvijestili su o prisutnosti grinja u 80% uzoraka stočne hrane prikupljenih na 17 čileanskih farmi konja smještenih u provincijama Valdivia i Osorno. Oni su također uočili porast grinja u korelaciji s povećanjem gljivičnih spora u stočnoj hrani.

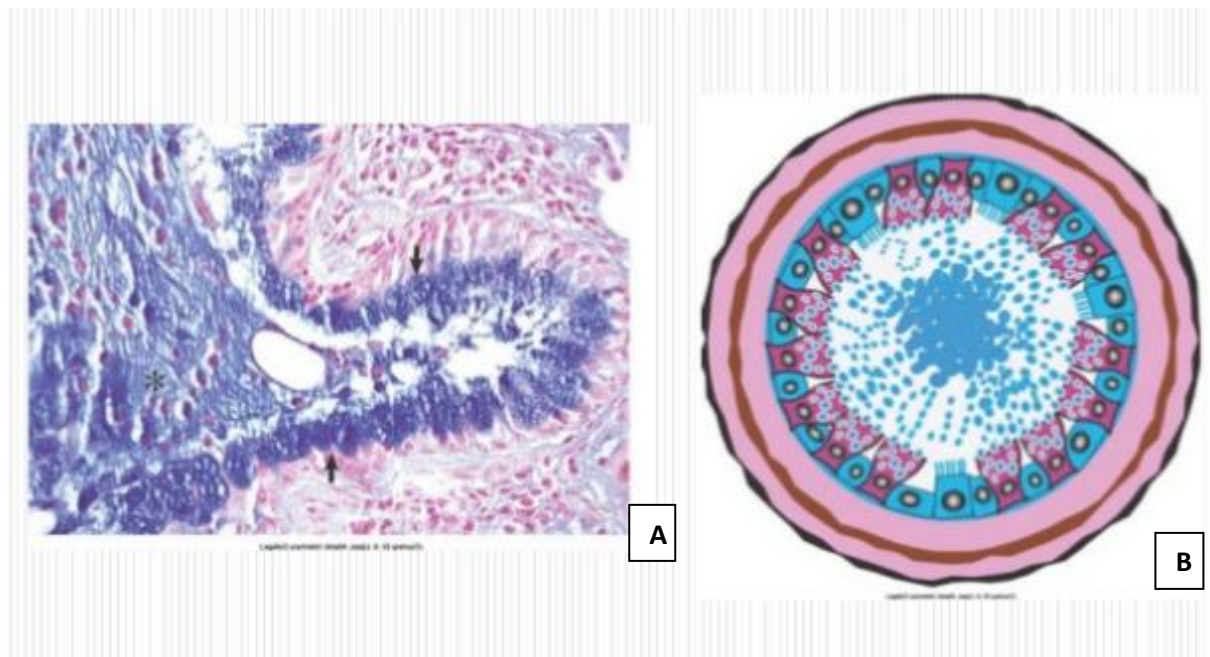
## 2. 3. PATOFIZIOLOGIJA RAO-a

Epitel koji oblaže bronhiole (prijelazni dio) izrazito je osjetljiv na oštećenja (respiratornim virusima, oksidativnim plinovima i toksičnim tvarima) jer je, pretpostavlja se, vrlo osjetljiv na oksidante i slobodne radikale, sadrži Clara-stanice bogate oksidazama, a alveolarni makrofagi i leukociti imaju tendenciju nakupljanja u tom dijelu pluća. Pri ireverzibilnim oštećenjima bronhiolarne trepetljikave stanice degeneriraju i oljušte se u lumen bronhiola ostavljajući ogoljelu bazalnu membranu. U normalnim okolnostima, novopridošle fagocitirajuće stanice uklanjaju eksudat i stanični debris iz lumena zahvaćenih bronhiola, a bazalna lamina obnavlja se novim, nediferenciranim stanicama koje potječu iz brzodijeleće

populacije Clara-stanica te nakon nekoliko dana dolazi do diferencijacije u normalne bronhijalne stanice s trepetljikama. Ako je bronhiolarno oštećenje blago, ali perzistentno, vrčaste stanice koje normalno nisu prisutne u bronhiolima proliferiraju iz bazalnih stanica, što rezultira metaplazijom vrčastih stanica i uzrokuje temeljitu promjenu fizikalno-kemijskih osobina bronhiolarne sekrecije (Slika 1).

Normalna serozna bronhiolarna tekućina koju izlučuju Clara-stanice, kada se pomiješa sa sluzi koju stvaraju vrčaste stanice, postaje ljepljivi materijal. Kao rezultat povišenog viskozoelasticiteta sluzi, bronhijalni sekret se ne može pomoću trepetljika učinkovito ukloniti što dovodi do opstrukcije distalnih dišnih puteva. Bronhiolarna metaplazija i mukozna hipersekrecija koje djelomično, ili u potpunosti blokiraju lumen takvih bronhiola rezultiraju razvojem enfizema i atelektaza. Iz navedenih razloga RAO obilježavaju ponavljajući respiratorni poremećaji, kronični kašalj, slabe atletske performanse, neutrofilija u zračnim prohodima i hipersekrecija sluzi. (LÓPEZ, 2012.).

Patogeneza još uvijek nije u potpunosti jasna, ali pretpostavlja se da su genska predispozicija, TH<sub>2</sub> (alergijski) imunosni odgovor te izrazita osjetljivost dišnih puteva na alergene iz okoliša temeljni mehanizmi koji prethode nastanku bolesti. Još uvijek je sporno što to male dišne puteve čini hiperreaktivnima na alergene. Epidemiološka i eksperimentalna istraživanja ukazuju da to može biti rezultat prethodnog bronhiolarnog oštećenja uzrokovanog virusnim infekcijama, ingestijom pneumotoksičnih tvari (3-metilindol), prolongirana izloženost organskoj prašini, endotoksinima i alergenima iz okoliša (bakterije i plijesni). U novije vrijeme se pretpostavlja da alveolarni makrofagi pri kontinuiranom inhaliranju čestica prašine, bilo antigenih ili ne, pojačavaju produkciju citokina (TNF- $\alpha$ , IL-8, monokinsko-inducibilnog proteina – MIP2) čime se u bronhioalveolarno područje privlače neutrofili i potiče oštećenje bronhiola uzrokovano leukocitima. Pluća sipljivog konja makroskopski ne pokazuju bitnije promjene, osim u ekstremnim slučajevima kada može biti prisutan alveolarni enfizem. Mikroskopske lezije uključuju metaplaziju vrčastih stanica u bronhiolima, začepljenje bronhiola sluzi pomiješanom s nešto eozinofila, peribronhijalnu infiltraciju limfocitima, plazma stanicama i eozinofilima te hipertrofiju glatkih mišića bronha i bronhiola. U teškim slučajevima nakupljanje sluzi dovodi do potpune opstrukcije bronhiola i alveola i posljedičnog alveolarnog enfizema, kojeg obilježavaju „povećane alveole“ zbog destrukcije alveolarnih stijenki (Slika 1).



**Slika 1. Rekurentna opstrukcija dišnih puteva (RAO), metaplazija vrčastih stanica, bronhioli, pluća, konj. A (lijevo),** Brojne vrčaste stanice (strelice) u bronhiolarnom epitelu izlučuju sluz (\*) u lumen, uzrokujući kompletnu opstrukciju bronhiola. Zdravi bronhioli ne sadrže vrčaste stanice niti sluz. **B (desno),** Shematski dijagram metaplazije vrčastih stanica. Vidi se kako je sluz začepila bronhiole (LÓPEZ, 2012.).

Još jedna posljedica bronhiolarnog oštećenja je hiperreaktivnost dišnih puteva. Razvija se u ljudi i životinja (eksperimentalno) nakon prolaznih i često bezazlenih virusnih infekcija donjeg dišnog sustava ili zbog izlaganja određenim alergenima. Pokusi su pokazali da je hiperreaktivnost povezana s pojačanom ekspresijom Toll-like receptora (receptora sličnih TOLL-u) i neuobičajenom osjetljivošću na udahnute endotoksine. Hiperreaktivne životinje redovito imaju povećan broj mastocita, eozinofila i T limfocita u sluznici dišnih puteva. Pojačani odgovor dišnih puteva klinički obilježava pretjerana bronhokonstrikcija nakon izlaganja blagim stimulansima kao što je hladan zrak ili nakon izlaganja životinje aerosolu s histaminom ili metakolinom. (LÓPEZ, 2012.).

### 2. 3. 1. Imunološka osnova upale dišnih puteva

Astmu definiraju tri obilježja: hiperreaktivnost dišnih puteva (AHR-pretjerano sužavanje dišnih puteva zbog izloženosti bronhokonstriktivnim podražajima), eozinofilna upala dišnih puteva i reverzibilno suženje dišnih puteva. Kliničke znakove pokreću alergeni iz okoliša (grinje iz prašine, životinjski proteini), zagađivači (ozon, sumporov dioksid, dušikovi

oksidu) i virusi koji imaju tropizam prema sluznici dišnih puteva. Upalni proces intenzivno je proučavan u biopsatima bronha bolesnih konja i pokazalo se da ga pokreću aktivirane T stanice, čiji je broj izrazito povećan u stijenkama dišnih puteva. Učinak T stanica, aktiviran pretežito pomagačkim CD4<sup>+</sup> stanicama T, na ostale stanice ostvaruje se izlučivanjem medijatora upale, citokina, koji su dalje odgovorni za razvoj upale i aktivaciju leukocita, uglavnom neutrofila i makrofaga (HALL, 2016.). Profil citokina (IL-4, IL-5 i IL-13) karakterističan za alergijsku upalu navodi na zaključak da su podrijetlom od pomoćničkih T<sub>H2</sub> tipa stanica. IL-4 i IL-13 pogoduju sintezi IgE od strane B stanica, ali također utječu i na adheziju molekula krvožilnog endotela i na glatke mišiće dišnih puteva (ASM), dok je IL-5 odgovoran za eozinofiliju. Hiperreaktivnost dišnih puteva kod astme vjerojatno uključuje izmijenjenu funkciju ASM-a, ali taj mehanizam još nije u potpunosti razjašnjen. Hipertrofija ASM-a, kao važna komponenta remodeliranja dišnih puteva, povezana s astmom, vjerojatno je strukturna promjena uvjetovana AHR-om. Primijećene su promjene kontraktilnih svojstava ASM-a vezanjem IgE na površinu stanica putem receptora niskog afiniteta, kao i izloženosti određenim citokinima, posebno IL-1, IL-5 i IL-13. Sužavanje dišnih puteva rezultat je djelovanja upalnih medijatora, posebno cisteinil-leukotriena (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>) (HALL, 2016., ROBINSON, 2001.).

Pretpostavlja se da reakcija preosjetljivosti tipa I, koja je posredovana IgE protutijelima (HALLIWELL i sur., 1993.; SCHMALLENBACH i sur., 1998.; EDER i sur., 2000., 2001.; CURIK i sur., 2003.; KUNZLE i sur., 2007.; TAHON i sur., 2009.; MORAN i sur., 2010.a, 2010.b) i reakcija preosjetljivosti tipa III igraju ulogu u razvoju upale dišnih puteva (FRANCHINI i sur., 2000.; LAVOIE i sur., 2001.; ROBINSON, 2001.). Studije potvrđuju da konji oboljeli od RAO-a imaju višu razinu IgE na antigene *Faenia rectivirgula* i *Aspergillus fumigatus* u bronhoalveolarnom ispirku (BAL) u odnosu na kontrolnu zdravu skupinu (HALLIWELL i sur., 1993.; SCHMALLENBACH i sur., 1998.). Ranije provedena istraživanja na ovakve dvije skupine konja nisu utvrdila razlike u razinama IgE protutijela na alergene plijesni u serumu (HALLIWELL i sur., 1993; SCHMALLENBACH i sur., 1998.; EDER i sur., 2000.), međutim istraživanja novijih datuma ipak pokazuju razlike u koncentraciji specifičnih IgE protutijela na plijesan *A. fumigatus* (MORAN i sur. 2009.). MORAN i sur. (2010. a, b) su predložili biotestiranje za otkrivanje IgE protutitijela u serumu konja oboljelih od RAO-a pomoću stanica RBL2H3, koje sudjeluju u reakcijama neposrednog tipa, kako bi se odredila etiologija bolesti. Koristeći ovu metodu autori su mogli utvrditi da li su i u kojem postotku uzročnici RAO-a bili bakterija *Faenia rectivirgula* ili gljivica *Aspergillus fumigatus*. Uključenost tipa I reakcije preosjetljivosti posredovane IgE

protutijelima u patogenezi RAO-a konja ostaje nejasna i još uvijek je kontroverzna. WAGNER (2009.) iznosi da novija ispitivanja nisu potvrdila IgE posredovanu patogenezu RAO-a. Isti je autor tvrdio da konji pod utjecajem RAO-a pokazuju kroničnu upalnu bolest s nekim naznakama mehanizma preosjetljivosti kasnog tipa.

Upalni odgovor povezan s RAO-om također je karakteriziran neutrofilnim bronholitisom, što se smatra dokazom reakcije preosjetljivosti tipa III koja je posljedica stvaranja kompleksa antigen-protutijelo i naknadne aktivacije kaskade komplementa, oslobađanjem anafilatoksinskih peptida C3a i C5a (LAVOIE, 2000.). Oni djeluju na kontrakciju glatkih mišića i pojačavaju vaskularnu propusnost, kemotaktični su za širok raspon leukocita, aktiviraju procese oksidaze u neutrofilima i eozinofilima te uzrokuju egzocitozu sadržaja granula iz leukocita (GERARD i GERARD, 1994., 2002.).

### 2. 3. 2. Aktivacija faktora transkripcije

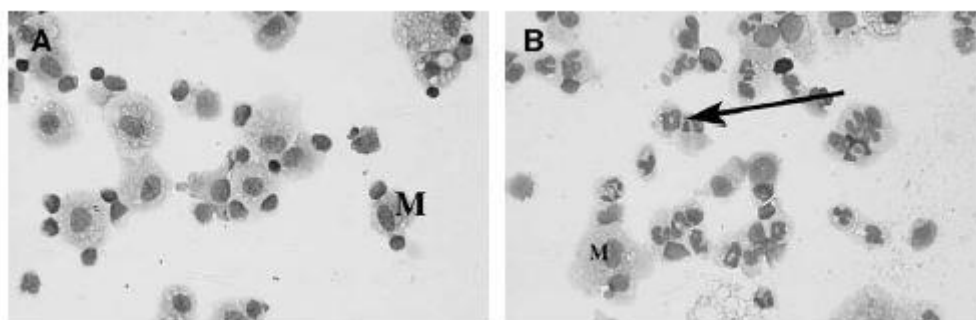
Mnogi su čimbenici transkripcije specifični za stanicu i presudni su u staničnoj diferencijaciji i regulaciji specifičnih staničnih procesa kao što su proliferacija, enzimi i ekspresija citokina. U životinjskim modelima bolesti dišnih puteva poput atopijske astme, središnju ulogu u kontroli upale dišnih puteva imaju nuklearni faktor NF kappa B (NF-kB), aktivatorski protein-1 (AP-1), GATA-3, JunB i c-Maf (FINOTTO i sur., 2001.; NGUYEN i sur., 2003.; YAMASHITA i sur., 2007.). U istraživanjima provedenim na ljudima oboljelim od astme također je dokazana povećana ekspresija NF-kB, AP-1 i GATA-3 u dišnim putevima (HART i sur., 1998; TAHA i sur., 2003.). Nadalje, ti su faktori transkripcije ključni regulator funkcije T<sub>H</sub>2 citokina (PERNIS i ROTHMAN, 2002.). Slično tome, u konja oboljelih od RAO-a, epitelne stanice dišnih puteva pokazuju pojačanu ekspresiju NF-kB, posebno p65 homodimera (BUREAU i sur., 2000.a, b; SANDERSEN i sur., 2001.), dok druga istraživanja pokazuju da je učinak izloženosti takvih konja pljesnivom sijenu barem djelomično posredovan povećanjem aktivnosti vezanja AP-1 u dišnim putevima. Produljena izloženost alergenima rezultira povišenom koncentracijom proteina koji se veže za ciklički AMP (CREB) i smanjenom koncentracijom AP-1 (COUËTIL i sur., 2006.). Ovi rezultati sugeriraju da faktori transkripcije NF-kB, AP-1 i CREB igraju važnu ulogu u modulaciji upale dišnih puteva u konja s RAO-om (MORAN i FOLCH, 2011.).

### 2. 3. 3. Uloga T-stanica u konja oboljelih od RAO-a

T-stanice imaju značajnu ulogu u patogenezi RAO-a. Nedavna istraživanja dokazala su da je uloga plućnih pomoćničkih T limfocita izlučivanje citokina tipa  $T_H1$  ili  $T_H2$  (LAVOIE i sur., 2001.; GIGUERE i sur., 2002.; AINSWORTH i sur., 2003.; CORDEAU i sur., 2004.; AINSWORTH i sur., 2007.; RIIHIMAKI i sur., 2008.). U konja zahvaćenih RAO-om nastaju i citokini tipa 1 i 2, ovisno o stadiju bolesti i vremenu uzorkovanja. Korištenjem RT-PCR-a, znanstvenici su u bronhoalveolarnom ispirku sipljivih konja dokazali porast IFN- $\gamma$  mRNA, ali ne postoji razlika u ekspresiji IL-4 i IL-13 mRNA (GIGUERE i sur., 2002.; AINSWORTH i sur., 2003.; HOROHOV i sur., 2005.). Istraživanja koja su mjerila ekspresiju IL-4 i IL-5 pokazala su značajno povećanje broja stanica koje su eksprimirale IL-4 i IL-5 mRNA 24 sata nakon izlaganja prašnjavom okruženju. Ove promjene su dodatno intenzivirane nakon idućih devet dana, dok se za to vrijeme smanjio broj stanica pozitivnih na IFN- $\gamma$  mRNA (CORDEAU i sur., 2004.). Na ekspresiju citokina u limfocitima dišnih puteva također utječe duljina vremena tijekom kojeg je konj koji je zahvaćen RAO-om bio klinički bolestan. Limfociti izdvojeni iz konja tri dana nakon početka akutne egzacerbacije RAO-a izražavaju porast IL-1 $\beta$  i IL-8 mRNA za koje je poznato da mogu djelovati kao kemoatraktanti za neutrofile (PIETRA i sur., 2007.). Nadalje, limfociti konja koji su dulje vremena (mjesecima) bili izloženi alergenima pokazuju porast IL-8 i IFN- $\gamma$  (HOROHOV i sur., 2005.). Osim toga, DEWACHI i sur. (2006.) izvijestili su da je u sipljivih konja značajno povećan broj neutrofila dišnih puteva koji su eksprimirali IL-5 i IL-9 receptore u usporedbi sa zdravim konjima tijekom ispaše. Ekspresija ovih citokina je dodatno porasla u oboljelih konja nakon njihovog premještaja u staju, dok je u zdravih konja ostala nepromijenjena. Dodatna izvješća sugeriraju da priljev neutrofila potaknut upalom u kronično oboljelih konja mogu održavati kemokini oslobođeni iz tih istih granulocita (BUREAU i sur., 2000. a; AINSWORTH i sur., 2007.).

### 2. 3. 4. Priljev neutrofila u dišne puteve konja oboljelih od RAO-a

Najvažnija lezija u konja zahvaćenih RAO-om je bronhiolitis. Peribronhiolarna akumulacija limfocita popraćena je intraluminalnom akumulacijom neutrofila (LEGUILLETTE, 2003.) i pojavljuje se u roku sedam sati nakon izlaganja alergenima iz okoliša (FAIRBAIRN i sur., 1993.). (Slika 2).



**Slika 2. Citološki nalaz bronhoalveolarnog ispirka (BAL) konja oboljelog od RAO-a. A (lijevo), BAL napravljen i uzorak uzet dok je konj bio u fazi remisije na ispaši. B (desno), BAL napravljen i uzorak uzet na istom konju samo 4 sata kasnije nakon što je uveden u staju i doveden u kontakt s pljesnivim sijenom. Postotak neutrofila (strelica) veći je u ovom ispirku. M = makrofag. ( LÉGUILLETTE, 2003.).**

Reakcija preosjetljivosti tipa III djelomično objašnjava neutrofilnu upalu u dišnim putevima takvih konja, a čimbenici koji ju pokreću još nisu u potpunosti razjašnjeni. Kao što je ranije spomenuto, stanice dišnih puteva izdvojene iz konja zahvaćenih RAO-om pokazuju porast ekspresije neutrofilnog kemokina IL-8 u bronhoalveolarnim stanicama (GIGUERE i sur., 2002.; AINSWORTH i sur., 2003.). RIIHIMAKI i sur. (2008.) pokazali su da je povišena koncentracija IL-8 mRNA u BALF stanicama i endobronhijalnoj biopsiji u konja s RAO-om tijekom akutne krize. Uz to, aktivnost bronhijalne NF- $\kappa$ B u snažnoj je korelaciji s postotkom neutrofila prisutnih u bronhijima. Apoptoza neutrofila dišnog sustava odgođena je putem GM-CSF aktivacije STAT5 puta. BALF granulociti kod konja koji su bili pogođeni RAO-om pokazali su značajnu odgodu apoptoze u usporedbi s granulocitima u krvi tih istih konja te krvnih i BALF granulocita zdravih konja. Pojačano preživljavanje BALF granulocita RAO-om zahvaćenih konja suzbijeno je u prisutnosti protutijela usmjerenih protiv GM-CSF receptora; štoviše, nađene su povećane razine aktivnog STAT5 u BALF granulocitima kod konja zahvaćenih RAO-om i njegovo značajno smanjenje nakon liječenjem anti-GM-CSF receptorskim protutijelima (BUREAU i sur., 2000. b; TURLEJ i sur., 2001.). S druge strane, poznato je da IL-17 inducira (nastanak?) proinflamatorne citokine poput TNF- $\alpha$ , IL-1B i IL-6, kao i kemokine CXCL1, 2 i 8, koji zajedno obilježuju akutne upalne procese (SCHMIDT - WEBER i sur., 2007.), a proizvode ih memorijske T stanice nazvane T<sub>H</sub>17 stanice (FOSSIEZ i sur., 1998.; WITOWSKI i sur., 2004.) Novija istraživanja pokazuju da IL-17 može biti uključen u patogenezu sipljivosti, međutim, točan mehanizam djelovanja još nije u potpunosti



poznat. DEBRUE i sur. (2005.) zaključili su da ovaj citokin može uzrokovati kemotaksiju i aktivaciju neutrofila, hipersekreciju sluzi i promjene u funkciji dišnih puteva.

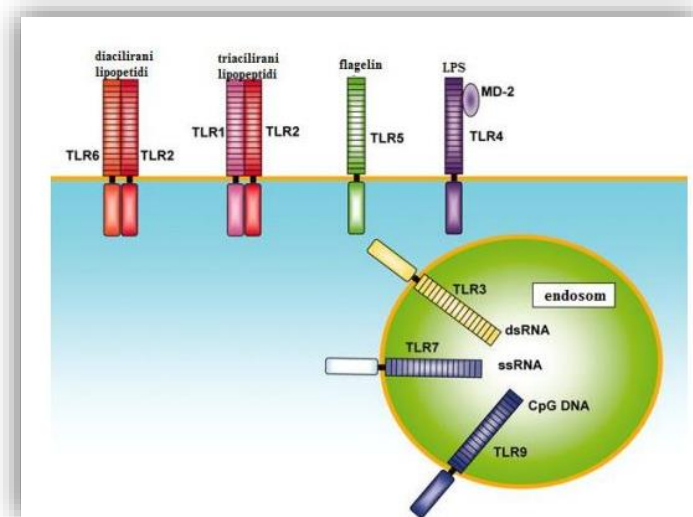
### 2. 3. 5. Oksidativni stres u RAO-u

Oksidativni stres nastaje kada reaktivni spojevi kisika (ROS) nadvladaju antioksidativnu obranu domaćina (WOOD i sur., 2003.). Sve više kliničkih, epidemioloških i eksperimentalnih dokaza upućuje na to da je prekomjerna proizvodnja ROS-a uključena u patogenezu niza poremećaja dišnih puteva, posebice astme (MacNEE, 2001.). Aktivirane upalne stanice reagiraju "respiratornim praskom", a posljedica je oslobađanje ROS-a. Konji koji pate od RAO-a imaju smanjenu plućnu antioksidativnu sposobnost, zbog čega su podložniji oksidativnim oštećenjima. DEATON i sur. (2005. a, b) pokazali su da je neutrofilija uzrokovana izlaganjem organskoj prašini povezana s povećanjem elastaze i smanjenjem razine askorbinske kiseline u BALF-u, dobivenom od konja s RAO-om. U oboljelih konja dolazi do značajnog iscrpljivanja antioksidanasa u dušniku što može biti povezano s upalom i oksidacijskim procesima u perifernim dišnim putevima (DEATON i sur., 2006.). Akutna egzacerbacija povezana je sa značajnim porastom markera oksidativnog stresa (oksidirani glutation i redoks omjer glutationa) u plućnoj epitelnoj tekućini (PELF) (ROBINSON, 2001.). Ovi markeri značajno koreliraju s brojem neutrofila u BALF-u (ART i sur., 1999.). Nadalje, ROS modulira aktivaciju transkripcijskih faktora poput NF- $\kappa$ B i AP-1 u stanicama bronhijalnog epitela, alveolarnim makrofazima, neutrofilima i mastocitima. Ova aktivacija dovodi do ekspresije mnogih protuupalnih citokina, uključujući TNF-a i IL-1 $\beta$  (MATERA i sur., 2005.) i T<sub>H</sub>2 tipa citokina (FROSSI i sur., 2003.). Konačno, dodatkom antioksidativnih preparata u hranu može se pozitivno utjecati na rad pluća konja zahvaćenih RAO-om (KIRSCHVINK i sur., 2002.).

### 2. 3. 6. Uloga TOLL-like receptora u RAO-u

Produkti mikroorganizama, poput endotoksina, igraju važnu ulogu u alergijom uzrokovanoj plućnoj bolesti ljudi (FELESZKO i sur., 2006.). Molekule podrijetlom od takvih mikroorganizama prepoznaju se receptorima od kojih su najvažniji Toll-like receptori (TLR). Toll-like receptori pripadaju skupini evolucijski očuvanih receptorskih proteina (engl. *Pattern Recognition Receptors*, PRR) koji domaćinu omogućuju prepoznavanje patogenima pridruženih molekularnih sljedova (engl. *Pathogen Associated Molecular Patterns*, PAMP).

Najvažnija skupina unutar te porodice su TLR koji specifično prepoznaju i vežu brojne ligande podrijetlom od patogena (bakterijski flagelin, polipeptide, glikoproteine te virusnu RNA i DNA) aktivirajući prirodni i stečeni imunski odgovor. TLR su uglavnom izraženi na stanicama imunskog sustava te na endotelnim i epitelnim stanicama. Osim molekularnih sljedova povezanih s patogenima, prepoznaju i endogene ligande koji se oslobađaju tijekom nekroze stanica domaćina uzrokovane upalom. Upravo su smještaj u stanici, ekspresija u različitim tkivima, specifičnost prema ligandima te način prijenosa signala svojstva prema kojima se TLR međusobno razlikuju (Slika 3). TLR 3, 7, 8 i 9 pretežno su smješteni unutar stanice, na membrani endosoma i prepoznaju unutarstanične ligande, poput nukleinskih kiselina. Ostali TLR smješteni su na površini stanice i prepoznaju izvanstanične ligande podrijetlom od patogena. (TAKEDA i AKIRA, 2005.; MATIJEVIC i PAVELIC, 2010.; KOBEŠČAK, 2015.).



**Slika 3. Toll-like receptori i njihovi ligandi.** TLR 3, 7, 8 i 9 smješteni su unutar stanice, a ostali TLR nalaze se na površini stanice (TAKEDA i AKIRA, 2005.).

Ekspresija TLR4 mRNA veća je u BALF-u konja oboljelih od RAO-a u usporedbi s kontrolnom skupinom zdravih konja nakon izlaganja prašini u staji (AINSWORTH i sur., 2006.). To može biti posljedica povećanja broja neutrofila u BALF-u konja pogođenih RAO-om, pojačane ekspresije TLR4 u neutrofilima, pojačane ekspresije TLR4 u makrofazima BALF-a ili kombinacije ove tri mogućnosti. Međutim, kasnija istraživanja navode mogućnost povećanja ekspresije TLR4 mRNA u stanicama bronhijalnog epitela konja zahvaćenih RAO-om nakon izlaganja stajskoj prašini. Uz to, povećanje sinteze epitelne mRNA TLR4 korelira s ekspresijom IL-8 mRNA. Ovi rezultati mogli bi objasniti

egzacerbaciju neutrofilne upale dišnih puteva kod konja pogođenih RAO-om uzrokovane endotoksinima iz zraka (BERNDT i sur., 2007.).

### 2. 3. 7. Produkcija sluzi u RAO-u

Upala dišnih puteva, posebno nakupljanje neutrofila i njihovih proizvoda, uzrokuje promjene svojstava sluzi. Akumulacija sluzi prije i nakon izlaganja prašini i alergenima povećana je kod konja oboljelih od RAO-a. Usporedbe radi, nakupljanje sluzi kod zdravih konja je promjenjivo i nije u korelaciji s akumulacijom neutrofila u dišne puteve nakon izlaganja prašini (GERBER i sur., 2004.). U humanoj medicini, pacijenti s astmom, kroničnom opstruktivnom plućnom bolesti (COPD) ili cističnom fibrozom (CF) pokazuju pretjeranu proizvodnju sluzi u lumenu dišnih puteva, hiperplaziju vrčastih stanica i hipertrofiju submukoznih žlijezda (MARCHETTE i sur., 1985.). Te iste promjene nalaze se u RAO-u (KAUP i sur., 1990. a, b; DAVIS i RUSH, 2002.). Upala dovodi do hipersekrecije sluzi, cilijarne disfunkcije i promjena u sastavu i biofizičkim svojstvima sekreta dišnih puteva. Dok starija istraživanja tvrde kako je u konja oboljelih od RAO-a smanjena učinkovitost mukocilijarnog aparata (engl. *mucociliary clearance*, MCC) (COOMBS i WEBBON, 1987.; TURGUT i SASSE, 1989.), ona novijeg datuma ukazuju na to kako nema značajne razlike u funkcionalnosti MCC-a zdravih i bolesnih konja (WILLOUGHBY i sur., 1991.).

Sluz dišnih puteva je složena mješavina vode, elektrolita, lizocima, upalnih stanica i glikoproteina. Najvažniji glikoprotein je mucin koji sekretu dišnih puteva daje visko-elastična svojstva (LUNDGREN i SHELLHAMER, 1990.). Kod konja oboljelih od RAO-a, promijenjena fizička svojstva sluzi pripisana su promjenama u kvaliteti i kvantiteti mucina. Pokazalo se da abnormalna glikozilacija mucina povećava viskoznost sekreta dišnih puteva što rezultira smanjenjem mukocilijarne funkcije (JEFCOAT i sur., 2001.). Ekspresija mucinskih gena, MUC5A i MUC5B, istražena je u konja s RAO-om i pokazalo se da ju reguliraju proinflamatorni citokini (UMETSU i sur., 2002.; CHEN i sur., 2003.; ROUSSEAU i sur., 2007.). Uz to, IL-17 potiče ekspresiju MUC5AC što može pridonijeti hipersekreciji sluzi u kronično oboljelih konja (GERBER i sur., 2003.).

Znanstvenici su nedavno identificirali i klonirali kalcijem aktivirane kanale klora (CLCA1), koji su u velikim količinama prisutni u malim dišnim prohodima konja s RAO-om (ANTON i sur., 2005.). Regulatori kalcijem aktiviranih kanala klora (CLCA) pripadaju skupini transmembranskih proteina s ulogom u provođenju iona klora kroz staničnu membranu, a taj proces je reguliran unutarstaničnom koncentracijom iona kalcija (FULLER i

sur., 2001.). Ovi su kanali glavni regulatori sekrecije epitela te imaju ulogu i u prekomjernoj produkciji sluzi u kroničnim bolestima (astma, KOPB i CF), budući da abnormalni epitelni sekret često proizlazi iz oštećenih kanala klorida (JENTSCH i sur., 2002.). Povišena koncentracija CLCA1 mRNA i CLCA1 proteina primijećena je korištenjem Northern blot hibridizacije, Western blot-a, imunohistokemije i kvantitativnog RT-PCR-a u plućima tri konja s RAO-om, slično kako je zamijećena i povišena koncentracija CLCA1 u ljudi koji boluju od astme (ANTON i sur., 2005.). Pojačana ekspresija CLCA1 može također biti posljedica povećanja broja vrčastih stanica, a ne transkripcijske regulacije CLCA1 gena (RANGE i sur., 2007.).

Medijatori koje izlučuju epitelne stanice dišnih puteva i akumulirani leukociti utječu na apoptotičke procese epitelnih stanica (TESFAIGZI, 2006.). Upalni signali rezultiraju povećanjem gustoće odnosno broja stanica po milimetru bazalne lamine te broja stanica produkatora sluzi u procesu poznatom kao metaplazija vrčastih stanica (TESFAIGZI i sur., 2004.; HARRIS i sur., 2005.). Metaplastične stanice sluznice izlažu proteine tipa 2 B-stanica limfoma (Bcl-2) koji imaju ulogu u regulaciji apoptoze (TESFAIGZI i sur., 2002.). Bcl-2 prisutni su u cijelom dišnom sustavu konja s RAO-om, a ne samo u gornjim dišnim prohodima (GERBER i sur., 2003.).

### 2. 3. 8. Remodeliranje dišnih puteva

Remodeliranje dišnih puteva glavni je čimbenik u razvoju ireverzibilnih smetnji pri protoku zraka te je uzrok otpornosti na mnoge lijekove koje se koristi u pokušaju liječenja ovog stanja (JEFFERY i sur., 2000.; WEGMANN, 2008.). U tkivima humanih astmatičara remodelirajuće promjene uključuju hiperplaziju vrčastih stanica i sluzničnih žlijezda, subepitelnu fibrozu, neovaskularizaciju, hipertrofiju glatkog mišićja dišnih puteva (engl. *airway smooth muscles*, ASM) i sveukupno zadebljanje stijenke dišnih puteva (DAVIES i sur., 2003.). Konji oboljeli od RAO-a pokazuju iste promjene remodeliranja dišnih puteva (LUGO i sur., 2006.). Molekularni mehanizmi koji pokreću remodeliranje još uvijek nisu dovoljno istraženi, ali signalizacija transformirajućeg faktora rasta (engl. *transforming growth factor*, TGF), čiji je prototipski član TGF- $\beta$ 1, vrlo vjerojatno ima važnu ulogu (KARIYAWASAM i ROBINSON 2007.). Ovaj čimbenik rasta važan je kemotaktički čimbenik fibroblasta. Pokazalo se da je broj fibroblasta u korelaciji s ekspresijom TGF- $\beta$ 1. TGF- $\beta$ 1 također inducira diferencijaciju fibroblasta na miofibroblaste (THANNICKAL i sur., 2003.). Potrebno je više istraživanja usmjerenih na TGF- $\beta$ 1 i ostale posrednike citokina

odgovornih za remodeliranje stijenki dišnih puteva u konja s RAO-om. Postoje dokazi koji ukazuju na to da u konja oboljelih od RAO-a dolazi do hiperplazije miocita što može pridonijeti zadebljanju stijenke dišnih prohoda. Slična je pojava uočena i kod ljudi astmatičara (HERSZBERG i sur., 2006.).

## 2. 4. KLINIČKA SLIKA

Klinički znakovi mogu biti blagi poput smanjenja i nepodnošenja tjelesne aktivnosti, ali mogu prerasti i u značajnije dišne tegobe (Slika 4). Posljedica su otpora protoku zraka u dišnom sustavu uslijed difuzne bronhokonstrikcije. Niski stupanj opstrukcije dišnih puteva ne očituje se kliničkim znakovima, a u blažim slučajevima nepodnošenje tjelesnog napora može biti jedini simptom bolesti. Inspekcijskim pregledom životinje opaža se kašalj, iscjedak iz nosnica, pojačan napor pri disanju, a u težim slučajevima i mršavljenje. Respiratorni distress prepoznatljiv je po širenju nosnica i pojačanim abdominalnim kontrakcijama prilikom respiracije te ponekad tahipnejom. Konji oboljeli od RAO-a imaju tipičan obrazac disanja: skraćeni udisaji i forsirani i prolongirani izdisaji. U kroničnim slučajevima razvija se hipertrofija vanjskog kosog trbušnog mišića poznata kao „žlijeb sipnje“ (Slika 5) (LÉGUILLETTE, 2003.).

Perkusijom plućnog polja može se ustanoviti hiperrezonanca zbog „zarobljenog“ zraka u alveolama. Pri auskultaciji prsnog koša dobije se nalaz proširenog plućnog polja i pooštren dišni šum (iako područja s malim protokom zraka mogu imati i stišan dišni šum), hropci pri izdisaju i pucketanja na perifernim dijelovima pluća. Veći tlak potreban je za istisak zraka kroz sužene dišne prohode što povećava brzinu strujanja zraka i turbulenciju na početku izdisaja. Ukoliko su prisutne velike količine sekreta u traheji, mogu se čuti trahealni hropci i stridor (LÉGUILLETTE, 2003.).

Razvoj kliničke slike RAO-a je uobičajen. Klinički se znakovi u početku javljaju samo pri vježbanju ili tjelesnom naporu, ali s vremenom, ako se ne izvrše radikalne promjene u držanju (hranidba, higijena smještaja), dolaze do izražaja i kad životinja miruje. Do pojave kašlja i respiratornog distresa dolazi u roku 5 sati do 2 dana nakon izlaganja alergenima kao što su prašina, plijesan i sl. (TESAROWSKI i sur., 1996.). Karakteristika RAO-a je reverzibilnost kliničkih znakova nakon prilagodbe uvjeta smještaja i držanja ili preseljenja konja na pašnjak. Poboljšanje kliničkog stanja u tom slučaju obično nastupa za manje od tjedan dana (LÉGUILLETTE, 2003.).



**Slika 4.** Klinička slika RAO-a.: glava i vrat su ispruženi i spuštteni, nosnice raširene, a iz njih se cijedi mukozni sekret (LÉGUILLETTE, 2003.).



**Slika 5.** „Žlijeb sipnje“. Hipertrofija vanjskog kosog trbušnog mišića rezultat je kroničnih pojačanih napora prilikom ekspirija (LÉGUILLETTE, 2003.).

## 2. 5. DIJAGNOSTICIRANJE

Pri postavljanju dijagnoze treba krenuti od uzimanja anamnestičkih podataka i kliničke slike. U laboratorijskim nalazima krvi (kompletna krvna slika - KKS, biokemijske pretrage) najčešće nema bitnih odstupanja od fizioloških vrijednosti. Pretragom plinova u krvi ustanovljuje se stupanj izmjene plinova i uspješnost liječenja. Bolesni konji uglavnom imaju

smanjene vrijednosti PaO<sub>2</sub> i fiziološke, ili tek blago povećane vrijednosti PaCO<sub>2</sub> te se, u slučaju uspješnog liječenja, očekuje porast PaO<sub>2</sub>. Rendgenskom pretragom prsnog koša može se uočiti peribronhalna infiltracija i prošireno plućno polje, a njome se diferencijalno - dijagnostički isključuju različiti tipovi pneumonija, plućna fibroza i pleuritis. Za sigurnu dijagnostiku RAO-a u konja rabi se BAL. Tekućina dobivena tim nalazom citološki se pretražuje. Povećana količina neutrofila (>20%), bez dokaza bakterijske infekcije upućuje na RAO (POTOČNJAK, 2012.).

Intravenozna aplikacija atropina u dozi 0,02 mg/kg, nakon koje za 15-ak minuta slijedi smanjenje kliničkih simptoma, ponajprije otežanog disanja, katkad se rabi za potvrđivanje dijagnoze, ali uz oprez zbog mogućih negativnih učinaka na gastrointestinalni trakt (usporena pasaja crijevnog sadržaja i mogućnost nastajanja kolike). Upravo zbog njegovog spazmolitičkog i sekretolitičkog djelovanja, atropin su često prilikom prodaje nakupci davali sipljivim konjima jer su tako privremeno prikrivali poteškoće u disanju. Međutim, primjena atropina se kod tretirane životinje lako može prepoznati po izraženoj tahikardiji i midrijazi. (ĆUPIĆ i sur., 2014.).

## 2. 6. LIJEČENJE

Osnovu preventive i liječenja RAO-a čine zahvati koji utječu na okoliš životinje, posebice na smanjenje prašine i poboljšanje kvalitete zraka. Od lijekova primjenjuju se uglavnom kortikosteroidi i bronhodilatatori (POTOČNJAK, 2012.).

Kortikosteroidi djeluju protuupalno, a mogu se primjenjivati i sistemski i inhalacijski. Sistemska, ponajprije peroralna, aplikacija je jednostavna, ali ima više popratnih učinaka. Mehanizam djelovanja kortikosteroida je vezanje na glukokortikoidne receptore koji su u velikoj mjeri prisutni na površini stanica bronhijalnih epitelnih i vaskularnih endotelnih stanica. To vezanje aktivira složenu unutarstaničnu kaskadu događaja koja dovodi do oslobađanja citoplazmatskog NF-kB. Oslobodeni NF-kB tada ulazi u jezgru stanice gdje može promijeniti regulaciju transkripcije gena što u konačnici rezultira inhibicijom sinteze upalnih citokina i smanjenjem ekspresije  $\beta$ -2 adrenoreceptora. Mehanizmi nuspojava izazvanih kortikosteroidima dugo su proučavani, ali još uvijek nisu sasvim razjašnjeni. Jedna od najtežih nuspojava koja se pripisuje primjeni kortikosteroida u konja je laminitis, iako su potrebna dodatna istraživanja kako bi se shvatio točan mehanizam njegovog nastanka. Zadržavanje natrija može se primijetiti kod konja koji su primali dugotrajnu terapiju

kortikosteroidima, a očituje se izbočenjem masnih jastučića u području sljepoočnica. (LÉGUILLETTE, 2003.).

Iz navedenih razloga razloga mnogi veterinari daju prednost uporabi inhalacijskih kortikosteroida. Njima se postiže brzo poboljšanje plućne funkcije i nema štetnih popratnih učinaka (POTOČNJAK, 2012.).

Najčešće primjenjivan sistemski kortikosteroid je deksametazon, u dozi 0,1 mg/kg intravenozno ili 0,1 do 0,2 mg/kg peroralno. Njegovom se primjenom već nakon tri dana izrazito poboljšava kliničko stanje konja, što se može potvrditi smanjenim postotkom neutrofila u BALF-u. Deksametazon se može primjenjivati i intramuskularno, kao lijek s produljenim djelovanjem, a djelotvorna doza iznosi 0,04 mg/kg svaka tri dana. Ovakva terapija poboljšala je rad pluća, ali je slabije djelovala na upalu donjih dišnih puteva. (ROBINSON, 2002.). Ne preporučuje se dugotrajna primjena deksametazona zbog opasnosti od popratnih učinaka te je nakon nekoliko dana potrebno postupno ukinuti sistemsku aplikaciju ili po potrebi nastaviti s inhalacijskim kortikosteroidima (npr. beklometazon) (POTOČNJAK, 2012.). Kratkotrajna terapija prednizonom nema znatnijeg učinka na zdravstveno stanje konja oboljelih od RAO-a, ali u nekih je primijećeno poboljšanje nakon dugoročnije terapije ovim lijekom (ROBINSON i sur., 2002.). Nedostatna apsorpcija i konverzija prednizona u prednizolon vjerojatno je uzrok smanjenoj učinkovitosti ove terapije. Dokazano je učinkovito djelovanje sistemski apliciranog triamkinolona, deksametazona i izoflupredona (LÉGUILLETTE, 2003.).

Rizik od nuspojava nakon sistemske primjene naveo je kliničare na pokušaj terapijanja RAO-a inhalacijskim kortikosteroidima. Oni su prvi izbor za kroničnu astmu u humanoj medicini i obično se smatraju sigurnom terapijom. Nekoliko je studija pokazalo da su inhalacijski kortikosteroidi jednako učinkoviti i sigurni u liječenju sipljivosti konja. Iako se u ljudi kao nuspojava terapije inhalacijskim kortikosteroidima može javiti orofaringealna kandidijaza, to do sada nije primijećeno u istraživanjima na kopitarima. Zanimljivo je da je jedno istraživanje ipak utvrdilo smanjenje serumskog kortizola nakon inhalacijske terapije beklometazonom. Ovo može sugerirati da aktivni metaboliti iz inhaliranog beklometazona nisu ograničeni samo na pluća te da mogu imati i sistemski učinak (LÉGUILLETTE, 2003.).



**Tablica 1. Preporučene doze lijekova za terapiju RAO-a** PO = per os, oralno; IV = intravenozno, u venu; IM = intramuskularno, u mišić; q = svakih (LÉGUILLETTE, 2003.).

	Trgovački naziv lijeka	Skupina lijekova	Doze
Protuupani lijekovi: sistemska primjena			
Deksametazon	Azium (Schering-Plough)	Kortikostereoid	0.03 – 0.1 mg/kg PO, IV ili IM q24 sata
Deksametazon izonikotinat	Voren (Bio-Ceutic)	Kortikostereoid	0.04 mg/kg IM q3 dana
Izoflupredon	Predef 2X (Pharmacia & Upjohn)	Kortikostereoid	0.03 mg/kg IM q24 sata
Triamkinolon acetonid	Vetalog (Squibb)	Kortikostereoid	0.05 – 0.09 mg/kg IM q4-8 tjedana
Prednizolon (tablete)		Kortikostereoid	1 – 2.2 mg/kg PO q24 sata
Protuupani lijekovi: lokalna terapija aerosolom			
Beklometazon dipropionat	Vanceril 84 µg/potisak (Schering) Becloforte 250 µg	Kortikostereoid	2500 – 3750 µg, q12 – 24 sata
Flutikazon propionat	Flovent (Glaxo Wellcome)	Kortikostereoid	2000 – 2500 µg, q12 – 24 sata
Bronhodilatatori: sistemska primjena			
Atropin	Atropine injekcija (Baxter)	Antikolinergik	0.01 – 0.025 mg/kg IV jednom
Klenbuterol	Ventipulmin (Boehringer-Ingelheim)	β2-agonist	0.8 – 3.2 µg /kg PO ili IV (isključivo niska doza) q12 – 24 sata
Teofilin tablete		Metilksantin	0.5 – 1 mg /kg PO q2 – 8 sati
Bronhodilatatori: lokalna terapija aerosolom			
Ipratropijum	Altrovent (Boehringer-Ingelheim)	Antikolinergik	360 – 470 µg /kg q6 – 12 sati Prije inhaliranja drugim lijekovima
Albuterol	Ventolin (Glaxo Wellcome)	β2-agonist	360 – 720 mg /kg q3 – 12 sati Prije inhaliranja drugim lijekovima

Bronhodilatatori uzrokuju opuštanje glatke muskulature dišnih puteva, a poput kortikosteroida, mogu se primjenjivati sistemski ili inhalacijski. Najdjelotvorniji i najčešće primjenjivani bronhodilatatori su iz skupine  $\beta$ -2-adrenergičnih agonista (klenbuterol, albuterol, pirbuterol, salmeterol) i antikolinergici (atropin, glikopiroilat, ipratropij). Najčešće se primjenjuje klenbuterol u dozi 0,8 do 3,2 mg/kg 2x/dan peroralno. Od inhalacijskih bronhodilatatora najčešće se primjenjuje albuterol u dozi 360 do 720 mg svaka 3 sata i ipratropij u dozi od 360 mg svakih 6 sati. Aminofilin i teofilin manje su pouzdani bronhodilatatori i imaju vrlo ograničen terapijski učinak. Ako konj ima tešku kliničku sliku RAO-a, uz već spomenutu prilagodbu smještaja i držanja i odgovarajuću prehranu, najbolja kontrola postiže se inhalacijskim bronhodilatatorima (smanjuju opstrukciju dišnih puteva) i sistemskim kortikosteroidima (protuupalni učinak) (POTOČNJAK, 2012.). U tablici (Tablica 1) su prikazane početne doze mogućih lijekova. Navedene terapijske doze potrebno je postepeno snižavati nakon 1 do 2 tjedna primjene, ovisno o samoj učinkovitosti terapije.

## 2. 7. PREVENTIVA

RAO je najčešća kronična respiratorna bolest konja srednje i starije dobi. Najčešće obolijevaju konji stariji od 5 godina, a pojavnost raste s godinama starosti životinje. Ne postoji predispozicija za spol, ali postoje naznake da se češće pojavljuje u određenih pasmina (toplokrvnjaka i lipicanaca) te da je i genski uvjetovana (McPHERSON i sur., 1978.). RAO je bolest uzrokovana prvenstveno čimbenicima okoliša i češće se razvija u populaciji kopitara sjeverne zemljine polutke, gdje su konji veći dio godine smješteni u stajama i gdje je možda teže postići prikladno sušenje sijena (TRAUB-DARGATZ i sur., 1991.). Istraživanja su pokazala pojavnost u rasponu od 2% do 80% (LARSON I BUSCH, 1985.; WINDER i von FELLEBERG, 1987.; BRACHER i sur., 1991.; MORRIS I SEEHERMAN, 1991.).

Suprotno tome, od opstruktivne bolesti pluća povezane s ljetnom ispašom, koja se klinički ne razlikuje od RAO-a, uglavnom obolijevaju životinje južne zemljine polutke, gdje je običaj konje držati na pašnjaku tijekom cijele godine (SEAHORN I BEADLE, 1993.; COSTA i sur., 2000.).

### 2. 7. 1. Čimbenici koji utječu na kvalitetu zraka u staji

Konji zatvoreni u stajama izloženi su nadražujućim česticama u zraku u mnogo većim koncentracijama nego li konji koji obitavaju na pašnjacima (McGORUM i sur., 1998.;

BERNDT i sur., 2010.). Istraživanja su pokazala da na koncentracije takvih čestica i endotoksina snažno utječu postupci upravljanja stajom što obuhvaća oblike korištene stočne hrane i stelje, aktivnosti u staji te karakteristike same staje (Slika 6).



**Slika 6. Čestice prašine u stajskom zraku.**

Kombinirani učinci hrane i vrste stelje proučavani su u „konvencionalnim“ načinima gospodarenja gdje su konji hranjeni sijenom, a kao stelja korištena slama te u „suvremenim“ načinima gospodarenja u kojima su konji hranjeni isključivo peletiranom hranom, a kao stelja je korištena piljevina ili hoblovina. WOODS i sur. (1993.) dokazali su da je prelaskom sa sijena loše kvalitete i slame kao stelje na peletiranu hranu i steljenje hoblovinom smanjena koncentracija udahnutih čestica za više od 50%. Isto je tako uočena dvostruko manja koncentracija *Aspergillus fumigatus* i grinja u takvim stajama.

Pet puta manja koncentracija endotoksina zabilježena je u stajama gdje su konji ležali na hoblovini i bili hranjenjeni silažom uz maksimalno prozračivanje staje (McGORUM i sur., 1998.).

## 2. 7. 2. Hranidba

Iako se sijeno smatra okosnicom uobičajenog programa hranjenja, njegova upotreba povezana je s povećanim izlaganjem česticama u zraku zbog insekata i grinja, gljivica i sitnih dijelova biljaka, kao i neorganske prašine čak i iz najkvalitetnijeg sijena. Promjenom prehrane iz suhog sijena u sjenažu može se postići 60–70% smanjenja izloženosti česticama prašine. Manja izloženost prašini za preko 50% može se postići i namakanjem ili potapanjem suhog sijena neposredno prije hranjenja (FERRO i sur., 2000.; CLEMENTS i PIRIE, 2007.). Nedostatak je to što se na ovaj način smanjuje hranjivost sijena. Također je zabilježeno da

vlasnici, nakon kratkog razdoblja, nisu nastavili slijediti ovu preporuku zbog dodatnih radova oko hranjenja konja i zbrinjavanja otpadne vode koja nastaje u tom procesu (LÉGUILLETTE, 2003.). Kad su konje hranili kompletno peletiranom hranom, koncentracije čestica prašine smanjile su se preko 70% (HUNT, 2000.). U nekoliko istraživanja ispitivano je otpuštanje čestica prašine iz hrane u kontroliranim laboratorijskim uvjetima radi usporedbe stvaranja i zadržavanja prašine neovisno o aktivnostima konja ili ventilaciji staje. Dokazano je da sastav i priprema sijena značajno utječu na onečišćenje zraka česticama prašine i plijesni. Upotrebom i pravilnim skladištenjem biljaka *Trifolium repens* (bijela djetelina) i *Lolium perenne* (engleski ljulj) utvrđeno je smanjeno otpuštanje čestica prašine i formiranja kolonija plijesni (SEGUIN i sur., 2010.a). Kasni otkos, sijeno balirano na 85% suhe tvari i sjenaža smanjuju potencijal za nastanak prašinskih čestica i plijesni koja se može udahnuti (SEGUIN i sur., 2010. a, b; 2012.). Komercijalno dostupna peletirana hrana snizila je koncentraciju čestica u zraku za 10 do 12 puta u odnosu na neočišćenu zob, dok čišćenje zobi ili prethodna obrada i usitnjavanje zrnja ječma učinkovito smanjuje otpuštanje čestica prašine i za 80% (HESSEL i sur., 2009.).

Koncentracije endotoksina izmjerene u zoni disanja konja hranjenih sijenom loše kvalitete bile su značajno veće od koncentracija kod konja koji su hranjeni isključivo peletiranom hranom. Nadalje, utvrđeno je da je sadržaj endotoksina u uzorku prikupljenom iz zone disanja konja u snažnoj korelaciji sa sadržajem endotoksina u hrani (HUNT, 2000.).

### 2. 7. 3. Stelja

Izbor materijala za stelju uvelike utječe na izlaganje konja endotoksinima i česticama prašine u staji. Koncentracija prašine u zraku veća je u stajama gdje se kao stelja koristi obična slama u usporedbi s korištenjem piljevine, hoblovine ili malča u iste svrhe. Upotreba peleta od slame povezana je s najnižim koncentracijama prašine u stajskom zraku pa je iz tog razloga to najbolji oblik stelje i u smislu prevencije i u smislu promjena uvjeta držanja kad su klinički znakovi već izraženi (AUGER i MOORE-COLYER, 2017.).

Osvrnemo li se na rezultate prethodno provedenih istraživanja, možemo zaključiti kako u većem postotku na koncentraciju prašine u stajskom zraku utječe sastav, oblik i način hranidbe. Promjenom režima hranjenja i prelaskom sa sijena na sjenažu koncentracija čestica prašine kao potencijalnih alergena i okidača RAO-a smanjit će se i do 70%. Istraživanja povezanosti materijala stelje i prašinskog onečišćenja stajskog zraka variraju u rezultatima, ali prelaskom na stelju od drvnog materijala (piljevina, hoblovina ili malč) koncentracija prašine u zraku smanjit će se za najviše 30% (HUNT, 2000.; CLEMENTS i PIRIE, 2007.).

Alternativni materijali za stelju su papir, karton, tresetna mahovina te neki sintetički materijali, ali svaki od njih ima određene nedostatke (npr. cijena, odlaganje, opasnost od crijevne opstrukcije ukoliko ga životinja pojede) (LÉGUILLETTE, 2003.).

#### 2. 7. 4. Aktivnosti u staji

Aktivnosti u staji također mogu imati značajan utjecaj na kvalitetu zraka. Tijekom čišćenja staje u zrak se dižu čestice prašine, a one manjeg promjera sporije padaju na tlo i dulje se zadržavaju u zraku. Određeni dijelovi staje mogu biti fizički djelomično odvojeni zidovima ili pregradama, ali ako komuniciraju zračnim prostorom, treba imati u vidu da će aktivnosti u jednom dijelu staje u određenoj mjeri utjecati i na povišenje koncentracije prašine u drugom dijelu staje. To navodi na zaključak da bi životinje, posebno one koje već imaju izražene respiratorne simptome, bilo najbolje izmjestiti van staje u trenutku i neko vrijeme nakon obavljanja aktivnosti čišćenja, steljenja i hranjenja. Ukupne dnevne koncentracije prašine u zraku dvostruko su veće u odnosu na koncentracije tijekom noći, neovisno o sustavu držanja životinja. Mjerenje prašine u zoni disanja i konja i radnika u stajama s različitim sustavima upravljanja otkrilo je da je izloženost konja gotovo 3 puta veća nego li u radnika. Ova razlika sugerira da aktivnost konja može dodatno utjecati na izloženost višim koncentracijama prašine. Nadalje, utvrđeno je da udahnite čestice znatno variraju od konja do konja unatoč identičnom načinu smještaja i držanja (IVESTER i sur., 2012.). Buduća istraživanja uz nadziranje i snimanje aktivnosti video kamerom mogu pomoći u razjašnjenju utjecaja određenih aktivnosti na povišene koncentracije prašine u udahnutom zraku (IVESTER i sur., 2014.).

#### 2. 7. 5. Prozračivanje

Prozračivanje staje i okolno okruženje također imaju važan utjecaj na kvalitetu zraka u staji iako su potrebna dodatna istraživanja koja bi objektivno potvrdila ovu tvrdnju. Izvori prašine izvan staje, poput npr. prometnica, mogu utjecati na njenu koncentraciju unutar staje. Proučavan je i utjecaj godišnjeg doba na zračno onečišćenje u stajama, međutim rezultati provedeni na različitim lokacijama nisu se podudarali u zaključcima. Na Srednjem Zapadu u Sjedinjenim Američkim Državama, u zimskim je mjesecima zabilježena veća ukupna koncentracija čestica prašine, ali većeg promjera, dok je onih čestica koje su mogle biti udahnite u dublje dijelove dišnog sustava bilo u manjim koncentracijama u odnosu na ljetno razdoblje (ROSENTHAL i sur., 2006.). Slično istraživanje provedeno u Švedskoj, također u zimskom periodu, je uz povišenu ukupnu koncentraciju čestica pokazalo i povišenu

koncentraciju onih sitnijih čestica prašine koje su konji mogli udahnuti (MILLERICK-MAY i sur., 2011.). Logično je za očekivati da će zbog vremenskih uvjeta za vrućih ljetnih mjeseci biti i najviše koncentracije prašinskog onečišćenja u zraku. Provedeno istraživanje dokazuje da su upravo tada i čestice prašine najsitnije, odnosno povišena je koncentracija potencijalnih alergena (IVESTER i sur., 2012.). Iz ovog razloga, nije rijetka pojava niti atipični RAO od kojeg oboljevaju konji na pašnjacima za vrijeme ljetne ispaše (HOUSE, 2009.).

### 3. RASPRAVA

Rekurentna opstrukcija dišnih prohoda (engl. *recurrent airway obstruction*, RAO) najčešće se razvija u u starijih konja (u prosjeku starosti 9 do 12 godina, oba spola podjednako) držanih u staji i izloženih prašnjavom sijenu i slami, a očituje se suženjem dišnih prohoda (bronhokonstrikcija), pojačanim lučenjem sluzi i bronhospazmom koji ne nestaje u stanju mirovanja životinje, a tada se očituje tahipnejom i/ili kašljem (ROBINSON, 2001.; HOUSE, 2009.). Ne postoji predispozicija za spol, ali postoje naznake da se češće pojavljuje u određenih pasmina (toplokrvnjaka i lipicanaca) te da je i genski uvjetovana (McPHERSON i sur., 1978.).

RAO u konja slična je astmi u ljudi (COUËTIL, 2015.), a termin „rekurentna opstrukcija dišnih puteva“ implicira reverzibilnu prirodu bolesti. Kako su predisponirajući čimbenik za nastanak ove bolesti čestice prašine koje se obično nalaze u stajama, simptomi će uglavnom nestati nakon što se konjima izmijene uvjeti držanja, odnosno budu izmješteni na pašnjak. Međutim, i u nekih konja držanih na pašnjaku tijekom ljeta, mogu se pojaviti identični znakovi radi prisustva visoke razine plijesni i peludi drveća (COUËTIL, 2015.).

Iako patogeneza nije još sasvim istražena, razvidno je da RAO ima upalnu i alergijsku osnovu (LÓPEZ, 2012.) a u nastanku i razvoju bolesti se ne može isključiti niti nasljedna komponenta. Kao alergeni najčešće se navode plijesan, organska prašina i endotoksini iz sijena i slame stoga se bolest najčešće pojavljuje zimi, kada konji borave u zatvorenom prostoru.

Ubikvitarna saprofitska gljivica *Aspergillus fumigatus* smatra se jednim od glavnih uzročnika nastanka RAO-a i često je prisutna u konjskim stajama. Dugo vremena smatrana je slabim patogenom i urođeni imunosni mehanizmi u imunokompetentnih životinja obično eliminiraju konidije navedene gljivice te su aspergilom i alergijska bronhopulmonalna aspergiloza jedine značajnije infekcije ovom vrstom gljivice. Međutim, porastom broja imunokompromitiranih pacijenata, češće se pojavljuje teška i uglavnom fatalna aspergiloza. Alergijske bolesti, uključujući astmu, alergijski sinusitis i alveolitis, nastaju nakon opetovane izloženosti konidijama ili antigenima gljivice iz roda *Aspergillus*, ali bez kolonizacije micelijima. U većini slučajeva, izmještanje pacijenta iz okoliša koji je izvor ovog antigena rezultirat će poboljšanjem zdravstvenog stanja (LATGÉ, 1999.; MORAN i FOLCH, 2011.).

Bakterija *Faenia rectivirgula* povezana je s razvojem plućne preosjetljivosti kod konja zahvaćenih RAO-om (McPHERSON i sur., 1979.; DERKSEN i sur., 1988.; McGORUM i

sur., 1993.a, b), a prašinske grinje (*Acari*) ili njihov feces također su potencijalni alergeni kako za ljude, tako i za konje (GERBER, 1973.; HOCKENJOS i sur., 1981.).

Patogeneza bolesti još uvijek nije u potpunosti razjašnjena, međutim, pretpostavlja se da su genska predispozicija, TH<sub>2</sub> (alergijski) imunosni odgovor te izrazita osjetljivost dišnih puteva na alergene iz okoliša temeljni mehanizmi koji prethode nastanku bolesti. Epidemiološka i eksperimentalna istraživanja ukazuju da hiperreaktivnost malih dišnih puteva nastaje kao rezultat prethodnog bronhiolarnog oštećenja uzrokovanog virusnim infekcijama, ingestijom pneumotoksičnih tvari (3-metilindol), prolongirane izloženosti organskoj prašini, endotoksinima i alergenima iz okoliša (bakterije i plijesni).

Astmu definira hiperreaktivnost dišnih puteva (AHR-pretjerano sužavanje dišnih puteva zbog izloženosti bronhokonstriktivnim podražajima), eozinofilna upala dišnih puteva i reverzibilno suženje dišnih puteva.

Pokazalo se da upalni proces pokreću aktivirane T stanice, čiji je broj izrazito povećan u stijenkama dišnih puteva. Učinak T stanica, aktiviran pretežito pomagačkim CD4+ stanicama T, na ostale stanice ostvaruje se izlučivanjem medijatora upale, citokina, koji su dalje odgovorni za razvoj upale i aktivaciju leukocita, uglavnom neutrofila i makrofaga (HALL, 2016.).

Primijećene su i promjene kontraktilnih svojstava glatkih mišića dišnih puteva vezivanjem IgE na površinu stanica putem receptora niskog afiniteta, kao i izloženosti određenim citokinima, posebno IL-1, IL-5 i IL-13. Sužavanje dišnih puteva rezultat je djelovanja upalnih medijatora, posebno cisteinil-leukotriena (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>) (HALL, 2016., ROBINSON, 2001.).

Također je utvrđeno da konji oboljeli od RAO-a imaju višu razinu IgE na antigene *Faenia rectivirgula* i *Aspergillus fumigatus* u bronhoalveolarnom ispirku (BAL) u odnosu na kontrolnu zdravu skupinu (HALLIWELL i sur., 1993.; SCHMALLENBACH i sur., 1998.).

U konja oboljelih od RAO-a, epitelne stanice dišnih puteva pokazuju pojačanu ekspresiju faktora transkripcije (BUREAU i sur., 2000.a, b; SANDERSEN i sur., 2001.) koji su, između ostalog ključni u regulaciji funkcije TH<sub>2</sub> citokina (PERNIS i ROTHMAN, 2002.).

Na ekspresiju citokina u limfocitima dišnih puteva također utječe duljina vremena tijekom kojeg je konj koji je zahvaćen RAO-om bio klinički bolestan. Limfociti izdvojeni iz konja tri dana nakon početka akutne egzacerbacije RAO-a izražavaju porast IL-1β i IL-8 mRNA za koje je poznato da mogu djelovati kao kemoatraktanti za neutrofile (PIETRA i sur., 2007.).



Sve više kliničkih, epidemioloških i eksperimentalnih dokaza upućuje na to da je prekomjerna proizvodnja reaktivnih spojeva kisika (ROS-a) uključena u patogenezu niza poremećaja dišnih puteva, posebice astme (MacNEE, 2001.). Aktivirane upalne stanice reagiraju "respiratornim praskom", a posljedica je oslobađanje ROS-a. ROS modulira aktivaciju transkripcijskih faktora poput NF- $\kappa$ B i AP-1 u stanicama bronhijalnog epitela, alveolarnim makrofazima, neutrofilima i mastocitima. Ova aktivacija dovodi do ekspresije mnogih protuupalnih citokina, uključujući TNF-a i IL-1 $\beta$  (MATERA i sur., 2005.) i T<sub>H</sub>2 tipa citokina (FROSSI i sur., 2003.). Konji koji pate od RAO-a imaju smanjenu plućnu antioksidativnu sposobnost, zbog čega su podložniji oksidativnim oštećenjima (MacNEE, 2001.), stoga se dodatkom antioksidativnih preparata u hranu može pozitivno utjecati na rad pluća konja zahvaćenih RAO-om (KIRSCHVINK i sur., 2002.).

Produkti mikroorganizama, poput endotoksina, igraju važnu ulogu u alergijom uzrokovanoj plućnoj bolesti ljudi (FELESZKO i sur., 2006.). Molekule podrijetlom od takvih mikroorganizama prepoznaju se receptorima od kojih su najvažniji Toll-like receptori (TLR) od koji je najvažnija skupina TLR-a koji specifično prepoznaju i vežu brojne ligande podrijetlom od patogena (bakterijski flagelin, polipeptide, glikoproteine te virusnu RNA i DNA) aktivirajući prirodni i stečeni imunski odgovor. TLR su uglavnom izraženi na stanicama imunskog sustava te na endotelnim i epitelnim stanicama (TAKEDA i AKIRA, 2005.; MATIJEVIC i PAVELIC, 2010.; KOBEŠČAK, 2015.).

Kliničke znakove pokreću alergeni iz okoliša (grinje iz prašine, životinjski proteini), zagađivači (ozon, sumporov dioksid, dušikovi oksidi) i virusi koji imaju tropizam prema sluznici dišnih puteva. Sužavanje dišnih puteva rezultat je djelovanja upalnih medijatora, posebno cisteinil-leukotriena (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>) (HALL, 2016., ROBINSON, 2001.).

Klinički znakovi mogu biti blagi pri čemu životinje nastoje smanjiti tjelesnu aktivnost i teže je podnose (u nekim je slučajevima to i jedini simptom bolesti), ali se mogu očitovati i kao značajnije dišne tegobe radi otpora protoku zraka u dišnom sustavu uzrokovanog difuznom bronhokonstrikcijom. U početku se javljaju samo pri vježbanju ili tjelesnom naporu, ali s vremenom, ako se ne izvrše radikalne promjene u držanju (hranidba, higijena smještaja), dolaze do izražaja i kad životinja miruje. Inspekcijским pregledom životinje opaža se kašalj, iscjedak iz nosnica, pojačan napor pri disanju, a u težim slučajevima i mršavljenje. Respiratorni distress prepoznatljiv je po širenju nosnica i pojačanim abdominalnim kontrakcijama prilikom respiracije te ponekad tahipnejom (LÉGUILLETTE, 2003.). Do pojave kašlja i respiratornog distressa dolazi u roku 5 sati do 2 dana nakon izlaganja alergenima kao što su prašina, plijesan i sl. (TESAROWSKI i sur., 1996.). Konji oboljeli od

RAO-a imaju tipičan obrazac disanja: skraćeni udisaji i forsirani i prolongirani izdisaji. U kroničnim slučajevima razvija se hipertrofija vanjskog kosog trbušnog mišića poznata kao „žlijeb sipnje“ (LÉGUILLETTE, 2003.). Karakteristika RAO-a je reverzibilnost kliničkih znakova nakon prilagodbe uvjeta smještaja i držanja ili preseljenja konja na pašnjak. Poboljšanje kliničkog stanja u tom slučaju obično nastupa za manje od tjedan dana (LÉGUILLETTE, 2003.).

Perkusijom plućnog polja može se ustanoviti hiperrezonanca zbog „zarobljenog“ zraka u alveolama. Pri auskultaciji prsnog koša dobije se nalaz proširenog plućnog polja i pooštren dišni šum (iako područja s malim protokom zraka mogu imati i stišan dišni šum), hropci pri izdisaju i pucketanja na perifernim dijelovima pluća. Veći tlak potreban je za istisak zraka kroz sužene dišne prohode što povećava brzinu strujanja zraka i turbulenciju na početku izdisaja. Ukoliko su prisutne velike količine sekreta u traheji, mogu se čuti trahealni hropci i stridor (LÉGUILLETTE, 2003.).

Pluća sipljivog konja makroskopski ne pokazuju bitnije promjene, osim u ekstremnim slučajevima kada može biti prisutan alveolarni emfizem (LÓPEZ, 2012.). Najvažnija lezija u konja zahvaćenih RAO-om je bronhiolitis pri čemu je peribronhiolarna akumulacija limfocita popraćena intraluminalnom akumulacijom neutrofila (LEGUILLETTE, 2003.) i pojavljuje se u roku sedam sati nakon izlaganja alergenima iz okoliša (FAIRBAIRN i sur., 1993.). Mikroskopske lezije uključuju još metaplaziju vrčastih stanica u bronhiolima, začepljenje bronhiola sluzi pomiješanom s nešto eozinofila, peribronhijalnu infiltraciju plazma stanicama i eozinofilima te hipertrofiju glatkih mišića bronha i bronhiola (LÓPEZ, 2012.). Upala dovodi do hipersekrecije sluzi, cilijarne disfunkcije i promjena u sastavu i biofizičkim svojstvima sekreta dišnih puteva. Sluz dišnih puteva čini složena mješavina vode, elektrolita, lizocima, upalnih stanica i glikoproteina od kojih je najvažniji mucin i on sekretu dišnih puteva daje visko-elastična svojstva (LUNDGREN i SHELHAMER, 1990.). Kod konja oboljelih od RAO-a, promijenjena fizička svojstva sluzi pripisana su promjenama u kvaliteti i kvantiteti mucina. Pokazalo se da abnormalna glikozilacija mucina povećava viskoznost sekreta dišnih puteva što rezultira smanjenjem mukocilijarne funkcije (JEFCOAT i sur., 2001.).

U teškim slučajevima nakupljanje sluzi dovodi do potpune opstrukcije bronhiola i alveola i posljedičnog alveolarnog emfizema, kojeg obilježavaju „povećane alveole“ zbog destrukcije alveolarnih stijenki (LÓPEZ, 2012.). Remodeliranje dišnih puteva glavni je čimbenik u razvoju ireverzibilnih smetnji pri protoku zraka te je uzrok otpornosti na mnoge lijekove koje se koristi u pokušaju liječenja ovog stanja (JEFFERY i sur., 2000.; WEGMANN, 2008.). U konja oboljelih od od RAO-a remodeliranja dišnih puteva uključuju

hiperplaziju vrčastih stanica i sluzničnih žlijezda, subepitelnu fibrozu, neovaskularizaciju, hipertrofiju glatkog mišićja dišnih puteva (engl. *airway smooth muscles*, ASM) i sveukupno zadebljanje stijenke dišnih puteva (DAVIES i sur., 2003.).

Nakupljanje sluzi kod zdravih konja je promjenjivo i nije u korelaciji s akumulacijom neutrofila u dišne puteve nakon izlaganja prašini (GERBER i sur., 2004.).

Pri postavljanju dijagnoze treba krenuti od uzimanja anamnestičkih podataka i kliničke slike. U laboratorijskim nalazima krvi (kompletna krvna slika - KKS, biokemijske pretrage) najčešće nema bitnih odstupanja od fizioloških vrijednosti. Pretragom plinova u krvi ustanovljuje se stupanj izmjene plinova i uspješnost liječenja. Bolesni konji uglavnom imaju smanjene vrijednosti PaO<sub>2</sub> i fiziološke, ili tek blago povećane vrijednosti PaCO<sub>2</sub> te se, u slučaju uspješnog liječenja, očekuje porast PaO<sub>2</sub>. Rendgenskom pretragom prsnog koša može se uočiti peribronhalna infiltracija i prošireno plućno polje, a njome se diferencijalno - dijagnostički isključuju različiti tipovi pneumonija, plućna fibroza i pleuritis. Za sigurnu dijagnostiku RAO-a u konja rabi se bronhoalveolarna lavaža, a tekućina dobivena tim postupkom citološki se pretražuje. Povećana količina neutrofila (>20%), bez dokaza bakterijske infekcije upućuje na RAO (POTOČNJAK, 2012.).

U liječenju se primjenjuje intravenozna aplikacija atropina u dozi 0,02 mg/kg, nakon koje za 15-ak minuta slijedi stišavanje kliničkih simptoma, ponajprije otežanog disanja. Ponekad se taj postupak koristi i za potvrđivanje dijagnoze, međutim, pritom je nužan oprez zbog mogućih negativnih učinaka na gastrointestinalni trakt (usporena pasaža crijevnog sadržaja i mogućnost nastajanja kolike) (ĆUPIĆ i sur., 2014.).

U liječenju se također primjenjuju i kortikosteroidi, i oni djeluju protuupalno, a mogu se primjenjivati i sistemski i inhalacijski (LÉGUILLETTE, 2003.) kojem mnogi veterinari daju prednost jer se njime postiže brzo poboljšanje plućne funkcije i nema štetnih popratnih učinaka (POTOČNJAK, 2012.).

Najčešće, pak, primjenjivan sistemski kortikosteroid je deksametazon, u dozi 0,1 mg/kg intravenozno ili 0,1 do 0,2 mg/kg peroralno. Njegovom se primjenom već nakon tri dana izrazito poboljšava kliničko stanje konja, što se može potvrditi smanjenim postotkom neutrofila u BALF-u. Deksametazon se može primjenjivati i intramuskularno, kao lijek s produljenim djelovanjem, a djelotvorna doza iznosi 0,04 mg/kg svaka tri dana. Ovakva terapija poboljšati će rad pluća, ali će slabije djelovati na upalu donjih dišnih puteva (ROBINSON, 2002.). Učinkovita je sistemska aplikacija triamkinolona, deksametazona i izoflupredona (LÉGUILLETTE, 2003.).

Bronhodilatatori uzrokuju opuštanje glatke muskulature dišnih puteva, a poput kortikosteroida, mogu se primjenjivati sistemski ili inhalacijski. Najdjelotvorniji i najčešće primjenjivani bronhodilatatori su iz skupine  $\beta$ -2-adrenergičnih agonista (klenbuterol, albuterol, pirbuterol, salmeterol) i antikolinergici (atropin, glikopirolat, ipratropij).

Ako se u konja očituju teški klinički znakovi, uz već spomenutu prilagodbu smještaja i držanja i odgovarajuću prehranu, najbolja kontrola postiže se inhalacijskim bronhodilatatorima (smanjuju opstrukciju dišnih puteva) i sistemskim kortikosteroidima (protuupalni učinak) (POTOČNJAK, 2012.).

Zahvati koji utječu na okoliš životinje, posebice na smanjenje prašine i poboljšanje kvalitete zraka čine osnovu preventive i neophodni su tijekom liječenja RAO-a (POTOČNJAK, 2012.).

Konji zatvoreni u stajama izloženi su nadražujućim česticama u zraku u mnogo većim koncentracijama nego li konji koji obitavaju na pašnjacima (McGORUM i sur., 1998.; BERNDT i sur., 2010.). Prelaskom sa sijena loše kvalitete i slame kao stelje na peletiranu hranu i steljenje hoblovinom smanjena je koncentracija udahnutih čestica za više od 50%, a dvostruko je manja i koncentracija gljivice *Aspergillus fumigatus* i grinja (WOODS i sur., 1993.). Također, pet je puta manja koncentracija endotoksina zabilježena u stajama u kojima su konji ležali na hoblovinu i bili hranjeni silažom, uz maksimalno prozračivanje staje (McGORUM i sur., 1998.).

Na primjer, promjenom hranidbe iz suhog sijena u sjenažu može se postići 60–70%-tno smanjenje izloženosti česticama prašine. Manja izloženost prašini za preko 50% može se postići i namakanjem ili potapanjem suhog sijena neposredno prije hranjenja (FERRO i sur., 2000.; CLEMENTS i PIRIE, 2007.). Kad su konje hranili kompletno peletiranom hranom, koncentracije čestica prašine smanjile su se preko 70% (HUNT, 2000.).

Sastav i priprema sijena također značajno utječu na onečišćenje zraka česticama prašine i plijesni. Upotrebom i pravilnim skladištenjem biljaka *Trifolium repens* (bijela djetelina) i *Lolium perenne* (engleski ljulj) utvrđeno je smanjeno otpuštanje čestica prašine i formiranje kolonija plijesni (SEGUIN i sur., 2010.a). Kasni otkos, sijeno balirano na 85% suhe tvari i sjenaža smanjuju potencijal za nastanak prašinskih čestica i plijesni koja se može udahnuti (SEGUIN i sur., 2010. a, b; 2012.). Komercijalno dostupna peletirana hrana snizila je koncentraciju čestica u zraku za 10 do 12 puta u odnosu na neočišćenu zob, dok čišćenje zobi ili prethodna obrada i usitnjavanje zrnja ječma učinkovito smanjuje otpuštanje čestica prašine i za 80% (HESSEL i sur., 2009.). Koncentracije endotoksina izmjerene u zoni disanja konja hranjenih sijenom loše kvalitete bile su značajno veće od koncentracija kod

konja koji su hranjeni isključivo peletiranom hranom. Nadalje, utvrđeno je da je sadržaj endotoksina u uzorku prikupljenom iz zone disanja konja u snažnoj korelaciji sa sadržajem endotoksina u hrani (HUNT, 2000.).

Koncentracija prašine u zraku veća je u stajama gdje se kao stelja koristi obična slama a ne piljevina, hoblovina ili malč (AUGER i MOORE-COLYER, 2017.). Korištenjem piljevine, hoblovine ili malča koncentracija prašine u zraku smanjit će se za najviše 30% (HUNT, 2000.; CLEMENTS i PIRIE, 2007.). S druge strane, upotreba peleta od slame povezana je s najnižim koncentracijama prašine u stajskom zraku pa je iz tog razloga to najbolji oblik stelje i u smislu prevencije i u smislu promjena uvjeta držanja kad su klinički znakovi RAO-a već izraženi (AUGER i MOORE-COLYER, 2017.).

Tijekom čišćenja staje u zrak se dižu čestice prašine, a one manjeg promjera sporije padaju na tlo i dulje se zadržavaju u zraku. Određeni dijelovi staje mogu biti fizički djelomično odvojeni zidovima ili pregradama, međutim, ako komuniciraju zračnim prostorom, aktivnosti u jednom dijelu staje u određenoj mjeri utjecati će i na povišenje koncentracije prašine u drugom dijelu staje. Stoga bi životinje, posebno one koje već imaju izražene respiratorne simptome, bilo najbolje izmjestiti izvan staje tijekom i neko vrijeme nakon obavljanja aktivnosti čišćenja, steljenja i hranjenja (IVESTER i sur., 2012.).

Prozračivanje staje i okolno okruženje također imaju važan utjecaj na kvalitetu zraka u staji iako su potrebna dodatna istraživanja koja bi objektivno potvrdila ovu tvrdnju. Izvori prašine izvan staje, poput npr. prometnica, mogu utjecati na njenu koncentraciju unutar staje (ROSENTHAL i sur., 2006.).

#### 4. ZAKLJUČCI

1. Iako je zbog svojih sličnosti s kroničnom opstruktivnom plućnom bolesti (KOPB) u ljudi ova bolest dugo nosila naziv KOPB konja, danas je među veterinarima i znanstvenicima usvojen termin ponavljajuća ili rekurentna opstrukcija dišnih puteva (RAO)
2. RAO je najčešća kronična respiratorna bolest konja srednje dobi i starijih te pojavnost raste sa starošću životinja. Dokazan je nasljedni karakter ove bolesti, a češće obolijevaju toplokrvnjaci i lipicanci.
3. Klinički znakovi variraju od nepodnošenja tjelesne aktivnosti, kašlja, iscjетка iz nosnica, dispneje i pojačanih napora pri disanju pa sve do gubitka tjelesne težine i pojave „žlijeba sipnje“ uslijed hipertrofije vanjskog kosog trbušnog mišića.
4. Karakteristika RAO-a je reverzibilnost kliničkih znakova nakon prilagodbe uvjeta smještaja i držanja ili preseljenja konja na pašnjak.
5. RAO ima alergijsku i upalnu komponentu. Pojava kliničkih znakova posljedica je preosjetljivosti na udahnute antigene (prašina, plijesan, endotoksini) porijeklom iz okoliša.
6. Osnovu preventive i liječenja RAO-a čine zahvati koji utječu na okoliš životinje, posebice na smanjenje prašine i poboljšanje kvalitete zraka. Od lijekova primjenjuju se uglavnom kortikosteroidi i bronhodilatatori.
7. Promjenom prehrane iz suhog sijena u sjenažu ili peletiranu hranu znatno se smanjuje nastajanje i izloženost životinja česticama prašine.
8. Koncentracija prašine u zraku veća je u stajama gdje se kao stelja koristi obična slama u usporedbi s korištenjem piljevine, hoblovine ili malča u iste svrhe. Upotreba peleta od slame povezana je s najnižim koncentracijama prašine u stajskom zraku pa je iz tog razloga to najbolji oblik stelje.
9. Aktivnosti u staji također mogu imati značajan utjecaj na kvalitetu zraka stoga bi životinje, posebno one koje već imaju izražene respiratorne simptome, bilo najbolje izmjestiti iz staje u trenutku i neko vrijeme nakon obavljanja aktivnosti čišćenja, steljenja i hranjenja.

## 5. LITERATURA

1. AINSWORTH, D. M., G. GRÜNIG, M. B. MATYCHAK, J. YOUNG, B. WAGNER, H. N. ERB, D. F. ANTCZAK (2003): Recurrent airway obstruction (RAO) in horses is characterized by IFN  $\gamma$  and IL-8 production in bronchoalveolar lavage cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 96, str. 83–91.
2. AINSWORTH, D. M., B. WAGNER, M. FRANCHINI, G. GRÜNIG, H. N. ERB, J. Y. TAN (2006): Time-dependent alterations in gene expression of interleukin-8 in the bronchial epithelium of horses with recurrent airway obstruction. *American Journal of Veterinary Research* 67, str. 669–677.
3. AINSWORTH, D. M., B. WAGNER, H. N. ERB, J. C. YOUNG, D. E. RETALLICK (2007): Effects of in vitro exposure to hay dust on expression of interleukin-17, -23, -8, and -1b and chemokine (C-X-C motif ) ligand 2 by pulmonary mononuclear cells isolated from horses chronically affected with recurrent airway disease. *American Journal of Veterinary Research* 68, str. 1361–1369.
4. ANTON, F., I. LEVERKOEHNE, L. MUNDHENK, W. B. THORESON, A. D. GRUBER (2005): Overexpression of eCLCA1 in small airways of horses with recurrent airway obstruction. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 53, str. 1011–1021.
5. ARAYA, O., L. ZAROR (1995): Fungi and thermophilic bacteria found in hay straw from Chilean horse breeding grounds. *Archivos de Medicina Veterinaria* 2, str. 41–45.
6. ART, T., N. KIRSCHVINK, N. SMITH, P. LEKEUX (1999): Indices of oxidative stress in blood and pulmonary epithelium lining fluid in horses suffering from recurrent airway obstruction. *Equine Veterinary Journal* 31, str. 397–401.
7. AUGER, E. J., M. J. S. MOORE-COLYER (2017): The Effect of Management Regime on Airborne Respirable Dust Concentrations in Two Different Types of Horse Stable Design. *Journal of Equine Veterinary Science* 51, str. 105–109
8. BERNDT, A., F. J. DERKSEN, P. J. VENTA, S. EWART, V. YUZBASIYAN-GURKAN, N. E. ROBINSON (2007): Elevated amount of Toll-like receptor 4 mRNA in bronchial epithelial cells is associated with airway inflammation in horses with recurrent airway obstruction. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology* 292, str. 936–943.

9. BERNDT, A., F. J. DERKSEN, N. E. ROBINSON (2010): Endotoxin concentrations within the breathing zone of horses are higher in stables than on pasture. *Vet J* 183, str. 54–57.
10. BRACHER, V., R. VON FELLEBERG, C. N. WINDER, G. GRUENIG, M. HERMANN, A. KRAEHENMANN (1991): An investigation of the incidence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in random populations of Swiss horses. *Equine Vet J* 23, str. 136–41.
11. BUREAU, F., G. BONIZZI, N. KIRSCHVINK, S. DELHALLE, D. DESMECHT, M. P. MERVILLE, V. BOURS, P. LEKEUX (2000a): Correlation between nuclear factor- $\kappa$ B activity in bronchial brushing samples and lung dysfunction in an animal model of asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 161, str. 1314–1321.
12. BUREAU, F., S. DELHALLE, G. BONIZZI, L. FIÉVEZ, S. DOGNÉ, N. KIRSCHVINK, A. VANDERPLASSCHEN, M. P. MERVILLE, V. BOURS, P. LEKEUX (2000b): Mechanisms of persistent NF- $\kappa$ B activity in the bronchi of an animal model of asthma. *Journal of Immunology* 165, str. 5822–5830.
13. CHEN, Y., P. THAI, Y. H. ZHAO, Y. S. HO, M. M. DESOUZA, R. WU (2003): Stimulation of airway mucin gene expression by interleukin (IL)-17 through IL-6 paracrine/autocrine loop. *Journal of Biological Chemical* 278, str. 17036–17043.
14. CLARKE, A. G., T. MADELIN (1987): Technique for assessing respiratory health hazards from hay and other source materials. *Equine Veterinary Journal* 19, str. 442–447.
15. CLEMENTS, J. M., R. S. PIRIE (2007): Respirable dust concentrations in equine stables. Part 1: Validation of equipment and effect of various management systems. *Res Vet Sci* 83, str. 256–262.
16. COOMBS, S. L., P. M. WEBBON (1987): Observations on tracheal mucociliary clearance in horses. *Tierärztliche Praxis* 2, str. 5–9.
17. CORDEAU, M. E., P. JOUBERT, O. DEWACHI, Q. HAMID, J. P. LAVOIE (2004): IL-4, IL-5 and IFN-g mRNA expression in pulmonary lymphocytes in equine heaves. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 97, str. 87–96.
18. COSTA, L. R., T. L. SEAHORN, R. M. MOORE, H. W. TAYLOR, S. D. GAUNT, R. E. BEADLE (2000): Correlation of clinical score, intrapleural pressure, cytologic findings of bronchoalveolar fluid, and histopathologic lesions of pulmonary tissue in



- horses with summer pasture-associated obstructive pulmonary disease. *Am J Vet Res* 61, str. 167–173.
19. COUËTIL, L. L., T. ART, B. DE MOFFARTS, M. BECKER, D. MÉLOTTE, F. JASPAR, F. BUREAU, P. LEKEUX (2006): DNA binding activity of transcription factors in bronchial cells of horses with recurrent airway obstruction. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 113, str. 11–20.
  20. COUËTIL, L. L. (2015): Heaves, COPD, RAO, or Simply Equine Asthma?. Dostupno na: <https://thehorse.com/111093/heaves-copd-rao-or-simply-equine-asthma> [2. kolovoz 2019.]
  21. CURIK, I., D. FRASER, C. EDER, R. ACHMANN, J. SWINBURNE, R. CRAMERI, G. BREM, J. SÖLKNER, E. MARTI (2003): Association between MHC gene region and variation of serum IgE levels against specific mould allergens in the horse. *Genetic Selection Evolution* 35, str. 177–190.
  22. ĆUPIĆ, V., M. MUMINOVIĆ, S. KOBAL, R. VELEV (2014): Antiholinergični lekovi: Efekti atropina u organizmu. U: *Farmakologija za studente veterinarske medicine*, 2. izdanje. Beograd: Naučna KMD, str. 284-287.
  23. DAVIES, D. E., J. WICKS, R. M. POWELL, S. M. PUDDICOMBE, S. T. HOLGATE (2003): Airway remodeling in asthma: new insights. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 111, str. 215–225.
  24. DAVIS, E., B. R. RUSH (2002): Equine recurrent airway obstruction: pathogenesis, diagnosis, and patient management. *Veterinary Clinics of North America. Equine Practice* 18, str. 453–467.
  25. DEATON, C. M., D. J. MARLIN, N. C. SMITH, C. A. ROBERTS, P. A. HARRIS, R. C. SCHROTER, F. J. KELLY (2005a): Antioxidant and inflammatory responses of healthy horses and horses affected by recurrent airway obstruction to inhaled ozone. *Equine Veterinary Journal* 37, str. 243–249.
  26. DEATON, C. M., D. J. MARLIN, N. C. SMITH, P. A. HARRIS, M. P. DAGLEISH, R. C. SCHROTER, F. J. KELLY (2005b): Effect of acute airway inflammation on the pulmonary antioxidant status. *Experimental Lung Research* 31, str. 653–670.
  27. DEATON, C. M., D. J. MARLIN, L. DEATON, N. C. SMITH, P. A. HARRIS, R. C. SCHROTER, F. J. KELLY (2006): Comparasion of the antioxidant status tracheal and bronchoalveolar epithelial lining fluids in recurrent airway obstruction. *Equine Veterinary Journal* 38, str. 417–422.

28. DEBRUE, M., E. HAMILTON, P. JOUBERT, S. LAJOIE-KADOCH, J. P. LAVOIE (2005): Chronic exacerbation of equine heaves is associated with an increased expression of interleukin-17 mRNA in bronchoalveolar lavage cells. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 105, str. 25–31.
29. DERKSEN, F. J., N. E. ROBINSON, J. S. SCOTT, J. A. STICK (1988): Aerosolized *Micropolyspora faeni* antigen as a cause of pulmonary dysfunction in ponies with recurrent airway obstruction (heaves). *American Journal of Veterinary Research* 49, str. 933–938.
30. DEWACHI, O., P. JOUBERT, Q. HAMID, J. P. LAVOIE (2006): Expression of interleukin (IL)-5 and IL-9 receptors on neutrophils of horses with heaves. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 109, str. 31–36.
31. EDER, C., R. CRAMERI, C. MAYER, R. EICHER, R. STRAUB, H. GERBER, S. LAZARY, E. MARTI (2000): Allergen-specific IgE levels against crude mould and storage mite extracts and recombinant mould allergens in sera from horses affected with chronic bronchitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 73, str. 241–253.
32. EDER, C., I. CURIK, G. BREM, R. CRAMERI, I. BODO, F. HABE, S. LAZARY, J. SÖLKNER, E. MARTI (2001): Influence of environmental and genetic factors on allergen-specific immunoglobulin E levels in sera from Lipizzan horses. *Equine Veterinary Journal* 33, str. 714–720.
33. FAIRBAIRN, S. M., C. P. PAGE, P. LEES, F. M. CUNNINGHAM (1993): Early neutrophil but not eosinophil or platelet recruitment to the lungs of allergic horses following antigen exposure. *Clinical and Experimental Allergy* 23, str. 821–828.
34. FELESZKO, W., J. JAWORSKA, E. HAMELMANN (2006): Toll-like receptors – novel targets in allergic airway disease (probiotics, friends and relatives). *European Journal of Pharmacology* 533, str. 308–318.
35. FERRO, E., F. FERRUCCI, E. SALIMEI, M. ANTONIN, D. CODAZZA, M. CANIATTI (2000): Relationship between the conditions of lower airways in healthy horses, environmental factors and air quality in stables. *Pferdeheilkunde* 16, str. 579–586.
36. FINOTTO, S., G. T. DE SANCTIS, H. A. LEHR, U. HERZ, M. BUERKE, M. SCHIPP, B. BARTSCH, R. ATREYA, E. SCHMITT, P. R. GALLE, H. RENZ, M. F. NEURATH (2001): Treatment of allergic airway inflammation and

- hyperresponsiveness by antisense-induced local blockade of GATA-3 expression. *Journal of Experimental Medicine* 193, str. 1247–1260.
37. FOSSIEZ F., J. BANCHEREAU, R. MURRAY, C. VAN KOOTEN, P. GARRONE, S. LEBECQUE (1998): Interleukin-17. *International Reviews of Immunology* 16, str. 541–551.
38. FRANCHINI, M., U. GILL, R. VON FELLEBERG, V. D. BRACHER (2000): Interleukin-8 concentration and neutrophil chemotactic activity in bronchoalveolar lavage fluid of horses with chronic obstructive pulmonary disease following exposure to hay. *American Journal of Veterinary Research* 11, str. 1369–1374.
39. FROSSI, B., M. DE CARLI, K. C. DANIEL, J. RIVERA, C. PUCILLO (2003): Oxidative stress stimulates IL-4 and IL-6 production in mast cells by an APE/Ref-1-dependent pathway. *European Journal of Immunology* 33, str. 2168–2177.
40. FULLER, C. M., H. L. JI, A. TOUSSON, R. C. ELBLE, B. U. PAULI, D. J. BENOS (2001): Activated Cl channels: a newly emerging anion transport family. *Pflugers Archiv* 443, str. 107–110.
41. GERARD, C., N. P. GERARD (1994): C5a anaphylatoxin and its seven transmembrane-segment receptor. *Annual Review Immunology* 12, str. 775–808.
42. GERARD, C., N. P. GERARD (2002): Complement in allergy and asthma. *Current Opinion in Immunology* 14, str. 705–708.
43. GERBER, H. (1973): Chronic pulmonary disease in the horses. *Equine Veterinary Journal* 5, str. 26–28.
44. GERBER, V., N. E. ROBINSON, R. J. VENTA, J. RAWSON, A. M. JEFCOAT, J. A. HOTCHKISS (2003): Mucin genes in horses airways: MUC5AC, but not MUC2, may play a role in recurrent airway obstruction. *Equine Veterinary Journal* 35, str. 252–257.
45. GERBER, V., A. LINDBERG, C. BERNEY, N. E. ROBINSON (2004): Airway mucus in recurrent airway obstruction – short term response to environmental challenge. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18, str. 92–97.
46. GIGUERE S., L. VIEL, E. LEE, R. J. MACKAY, J. HERNANDEZ, M. FRANCHINI (2002): Cytokine induction in pulmonary airways of horses with heaves and effect of therapy with inhaled fluticasone propionate. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 85, str. 147–158.

47. HALL, J. E. (2016): Poremećaji preosjetljivosti: Mehanizmi i podjela reakcija preosjetljivosti. U: Guyton and Hall textbook of medical physiology (13th edition.). Philadelphia, PA: Elsevier, str. 399-401.
48. HALLIWELL, R. E. W., B. C. MCGORUM, P. IRVING, P. M. DIXON (1993): Local and systemic antibody production in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 38, str. 201–215.
49. HAMANN, J. (1999): Krankheiten der Atmungsorgane. U: DIETZ, O. i HUSKAMP, B., ur., *Handbuch der Pferdepraxis*. 2 Auflage Stuttgart: Enke, str. 333-337.
50. HARRIS, J. F., M. J. FISCHER, J. R. HOTCHKISS, B. P. MONIA, S. H. RANDELL, J. R. HARKEMA, Y. TESFAIGZI (2005): Bcl-2 sustains increased mucous and epithelial cell numbers in metaplastic airway epithelium. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 171, str. 764–772.
51. HART, L., V. L. KRISHNAN, I. M. ADCOCK, P. J. BARNES, K. F. CHUNG (1998): Activation and localization of transcription factor, nuclear factor-kappaB, in asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 158, str. 1585–1592.
52. HERSZBERG, B., D. RAMOS-BARBÓN, M. TAMAOKA, J. G. MARTIN, J. P. LAVOIE (2006): Heaves, an asthma-like equine disease, involves airway smooth muscle remodeling. *Journal of Allergy Clinical Immunology* 118, str. 382–388.
53. HESSEL, E. F., F. GARLIPP, H. F. A. VAN DEN WEGHE (2009): Generation of airborne particles from horse feeds depending on type and processing. *J Equine Vet Sci* 29, str. 665–674.
54. HOCKENJOS, P., Y. MUMENOGLU, H. GERBER (1981): Zur moglichen aetiologischen bedeutung von heumilben fur allergisch bedingte Lungenkrakheitn des Pferdes. *Schwiez Archiv Tierheilk* 123, str. 129–136.
55. HOROHOV, D. W., R. E. BEADLE, S. MOUCH, S. S. POURCIAU (2005): Temporal regulation of cytokine mRNA expression inequine recurrent airway obstruction. *Veterinary Immunologyand Immunopathology* 108, str. 237–245.
56. HOUSE, A. M. (2009): Understanding Equine Asthma and Recurrent Airway Obstruction (RAO) in the Horse. VM142, *Veterinary Medicine - Large Animal Clinical Sciences* Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Dostupno na: <http://edis.ifas.ufl.edu/vm142> [25. siječanj 2019.]

57. HUNT, M. A. (2000): Assessment of Dust, Endotoxin, and Fungal Exposures in Horse Confinement Rooms. Thesis (MS). Purdue University.
58. IVESTER, K. M., K. SMITH, G. E. MOORE, N. J. ZIMMERMAN, L. L. COUËTILT (2012): Variability in particulate concentrations in a horse training barn over time. *Equine Vet J* 44, str. 51–56.
59. IVESTER, K. M., L. L. COUËTIL, N. J. ZIMMERMAN (2014): Investigating the link between particulate exposure and airway inflammation in the horse. *Journal of veterinary internal medicine*, 28(6), str. 1653–1665.
60. JEFCOAT, A. M., J. A. HOTCHKISS, V. GERBER, J. R. HARKEMA, C. B. BASBAUM, N. E. ROBINSON (2001): Persistent mucin glycoprotein alterations in equine recurrent airway obstruction. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology* 281, str. 704–712.
61. JEFFERY, P. K., A. LAITINEN, P. VENGE (2000): Biopsy markers of airway inflammation and remodelling. *Respiratory Medicine* 94, str. 9–15.
62. JENTSCH, T. J., V. STEIN, F. WEINREICH, A. A. ZDEBIK (2002): Molecular structure and physiological function of chloride channels. *Physiological Reviews* 82, str. 503–568.
63. KARIYAWASAM, H. H., D. S. ROBINSON (2007): The role of eosinophils in airway tissue remodelling in asthma. *Current Opinion in Immunology* 19, str. 681–686.
64. KAUP, F. J., W. DROMMER, E. DEEGEN (1990a): Ultrastructural findings in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). I: Alterations of the larger conducting airways. *Equine Veterinary Journal* 22, str. 343–348
65. KAUP, F. J., W. DROMMER, S. DAMSCH, E. DEEGEN (1990b): Ultrastructural findings in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). II: Pathomorphological changes of the terminal airways and the alveolar region. *Equine Veterinary Journal* 22, str. 349–355.
66. KOBEŠČAK, A. (2015): Utjecaj dsRNA i cisplatine na povećanje osjetljivosti stanica tumora grkljana na zračenje. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet. Dostupno na: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:030091> [8. kolovoz 2019.]
67. KUNZLE, F., V. GERBER, A. VAN DER HAEGEN, B. WAMPFLER, R. STRAUB, E. MARTI (2007): IgE-bearing cells in bronchoalveolar lavage fluid and allergen-

- specific IgE levels in sera from RAO-affected horses. *Journal of Veterinary Medicine A – Physiology, Pathology, Clinical Medicine* 54, str. 40–47.
68. LARSON, V. L., R. H. BUSCH (1985): Equine tracheobronchial lavage: comparison of lavage cytologic features in horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Vet Res* 46, str. 144–146.
  69. LATGÉ, J. P. (1999): *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis. *Clin Microbiol Rev.* 12(2), str. 310–350.
  70. LAVOIE, J. P., K. MAGHNI, M. DESNOYERS, R. TAHA, J. G. MARTIN, Q. A. HAMID (2001): Neutrophilic airway inflammation in horses with heaves is characterized by a Th2-type cytokine profile. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 164, str. 1410–1413.
  71. LÉGUILLETTE, R. (2003): Recurrent airway obstruction/heaves. *Veterinary Clinics Equine Practice* 19, str. 63–68.
  72. LÓPEZ, A. (2012): Respiratory system, mediastinum and pleurae. U: Zachary, J. F., McGavin M. D., ur.: *Pathology of domestic animals*, 5. izdanje. Philadelphia: Elsevier, str. 490-491.
  73. LUGO, J., J. R. HARKEMA, H. DEFEIJTER-RUPP, L. BARTNER, D. BORUTA, N. E. ROBINSON (2006): Airway inflammation is associated with mucous cell metaplasia and increased intraepithelial stored mucosubstances in horses. *Veterinary Journal* 172, str. 293–301.
  74. LUNDGREN, J. D., J. H. SHELFHAMER (1990): Pathogenesis of airway mucus hypersecretion. *Journal of Allergy Clinical Immunology* 85, str. 399–417.
  75. MACNEE, W. (2001): Oxidative stress and lung inflammation in airways disease. *European Journal of Pharmacology* 429, str. 195–207.
  76. MAIR, T. S. (1987): Value of tracheal aspirates in the diagnosis of chronic pulmonary diseases in the horse. *Equine. Vet. J.* 5, str. 463–465.
  77. MARCHETTE, L. C., B. E. MARCHETTE, W. M. ABRAHAM, A. WANNER (1985): The effect of systemic hydration on normal and impaired mucociliary function. *Pediatric Pulmonology* 1, str. 107–111.
  78. MATERA, M. G., L. CALZETTA, A. PELI, A. SCAGLIARINI, C. MATERA, M. CAZZOLA (2005): Immune sensitization of equine bronchus: glutathione, IL-1 expression and tissue responsiveness. *Respiratory Research* 15, str. 104.
  79. MATIJEVIC, T., J. PAVELIC (2010): Toll-like receptors: cost or benefit for cancer? *Curr Pharm Des*, 16(9), str. 1081-1090.

80. MCGORUM BC, P. M. DIXON, R. E. HALLIWELL (1993a): Responses of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease to inhalation challenges with mould antigens. *Equine Veterinary Journal* 25, str. 261–267
81. MCGORUM, B. C., P. M. DIXON, R. E. HALLIWELL (1993b): Quantification of histamine in plasma and pulmonary fluids from horses with chronic obstructive pulmonary disease, before and after ‘natural (hay and straw)’ challenges. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 36, str. 223–237.
82. MCGORUM, B. C., J. ELLISON, R. T. CULLEN (1998): Total and respirable airborne dust endotoxin concentrations in three equine management systems. *Equine Vet J* 30, str. 430–434.
83. MCPHERSON, E. A., G. H. LAWSON, J. R. MURPHY, J. M. NICHOLSON, J. A. FRASER, R. G. BREEZE, H. M. PIRIE (1978): Chronic obstructive pulmonary disease (COPD): identification of affected horses. *Equine Vet J* 10, str. 47–53.
84. MCPHERSON, E. A., G. H. LAWSON, J. R. MURPHY, J. M. NICHOLSON, R. G. BREEZE, H. M. PIRIE (1979): Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in horses: aetiological studies: responses to intradermal and inhalation antigenic challenge. *Equine Veterinary Journal* 11, str. 159–166.
85. MILLERICK-MAY, M. L., W. KARMAUS, F. J. DERKSEN, B. BERTHOLD, S. J. HOLCOMBE, N. E. ROBINSON (2011): Particle mapping in stables at an American Thoroughbred racetrack. *Equine Vet J* 43, str. 599–607.
86. MORAN, G., O. ARAYA, A. ORTLOFF, H. FOLCH (2009): Cytologic bronchoalveolar lavage findings and humoral immune response against *Aspergillus fumigatus* in Chilotes horses with recurrent airway obstructions “heaves”. *Archivos de Medicina Veterinaria* 41, str. 83–88.
87. MORAN, G., R. BURGOS, O. ARAYA, H. FOLCH (2010a): In vitro bioassay to detect reaginic antibodies from the serum of horses affected with recurrent airway obstruction. *Veterinary Research Communications* 34, str. 91–99.
88. MORAN, G., H. FOLCH, O. ARAYA, R. BURGOS, M. BARRIA (2010b): Detection of reaginic antibodies against *Faenia rectivirgula* from the serum of horses affected with Recurrent Airway Obstruction by an in vitro bioassay. *Veterinary Research Communications* 34, str. 719–726.
89. MORAN, G., H. FOLCH (2011): Recurrent airway obstruction in horses – an allergic inflammation: a review. *Veterinarni Medicina*, 56, 2011 (1), str. 1-13.

90. MORRIS, E. A., H. J. SEEHERMAN (1991): Clinical evaluation of poor performance in the racehorse: the results of 275 evaluations. *Equine Vet J* 23, str. 169–174.
91. NGUYEN, C., J. L. TEO, A. MATSUDA, M. EGUCHI, E. Y. CHI, W. R. JR. HENDERSON WR, M. KAHN (2003): Chemogenomic identification of Ref-1/AP-1 as a therapeutic target for asthma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, str. 1169–1173.
92. PERNIS, A. B., P. B. ROTHMAN (2002): JAK-STAT signaling in asthma. *Journal of Clinical Investigation* 109, str. 1279–1283.
93. PIETRA, M., A. PELI, A. BONATO, A. DUCCI, S. CINOTTI (2007): Equine bronchoalveolar lavage cytokines in the development of recurrent airway obstruction. *Veterinary Research Communications* 31, str. 313–316.
94. POTOČNJAK, D. (2012): Unutarnje bolesti: Kronična opstruktivna bolest pluća u konja. U: Herak-Perković, V., Ž. Grabarević, J. Kos, ur., *Veterinarski priručnik*, 6. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada, str. 2050-2053.
95. RANGE, F., L. MUNDHENK, A. D. GRUBER (2007): A soluble secreted glycoprotein (eCLCA1) is overexpressed due to goblet cell hyperplasia and metaplasia in horses with recurrent airway obstruction. *Veterinary Pathology* 44, str. 901–911.
96. RIIHIMAKI, M., A. RAINE, T. ART, P. LEKEUX, L. COUËTIL, J. PRINGLE (2008): Partial divergence of cytokine mRNA expression bronchial tissues compared to bronchoalveolar lavage cells in horses with recurrent airway obstruction. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 122, str. 256–264.
97. ROBINSON, N. E. (2001): International Workshop on Equine Chronic Airway Disease Michigan State University. *Equine Veterinary Journal* 33, str. 5-19.
98. ROBINSON, N. E., C. JACKSON, A. JEFcoat, C. BERNEY, D. PERONI, F. J. DERKSEN (2002): Efficacy of three corticosteroids for the treatment of heaves. *Equine Vet J* 34, str. 17–22.
99. ROSENTHAL, F. S., A. GRUNTMAN, L. L. COUËTIL (2006): A comparison of total, respirable, and real-time airborne particulate sampling in horse barns. *J Occup Environ Hyg* 3, str. 599–605.
100. ROUSSEAU, K., S. KIRKHAM, S. MCKANE, R. NEWTON, P. CLEGG, D. J. THORNTON (2007): Muc5b and Muc5ac are the major oligomeric mucins in equine airway mucus. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology* 292, str. 1396–1404.



- 101.SANDERSEN C., F. BUREAU, R. TURLEJ, L. FIÉVEZ, S. DOGNÉ, N. KIRSCHVINK, P. LEKEUX (2001): p65 Homodimer activity distal airway cells determines lung dysfunction in equine heaves. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 80, str. 315–326.
- 102.SCHMALLENBACH, K. H., I. RAHMAN, H. H. SASSE, P. M. DIXON, R. E. HALLIWELL, B. C. MCGORUM, R. CRAMERI, H. R. MILLER (1998): Studies on pulmonary and systemic *Aspergillus fumigatus*-specific IgE and IgG antibodies in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Veterinary Immunology and Immunopathology* 66, str. 245–256.
- 103.SEAHORN, T. L., R. E. BEADLE (1993): Summer pasture-associated obstructive pulmonary disease in horses: 21 cases (1983–1991). *JAVMA* 202, str. 779–782.
- 104.SEGUIN, V., S. LEMAUVIEL-LAVENANT, D. GARON, V. BOUCHART, Y. GALLARD, B. BLANCHET, S. DIQUÉLOU, E. PERSONENI, P. GAUDUCHON, A. OURRY (2010 a): An evaluation of the hygienic quality in single-species hays and commercial forages used in equine nutrition. *Grass Forage Sci* 65, str. 304–317.
- 105.SEGUIN, V., S. LEMAUVIEL-LAVENANT, D. GARON, V. BOUCHART, Y. GALLARD, B. BLANCHET, S. DIQUÉLOU, E. PERSONENI, P. GAUDUCHON, A. OURRY (2010 b): Effect of agricultural and environmental factors on the hay characteristics involved in equine respiratory disease. *Agric Ecosyst Environ* 135, str. 206–215.
- 106.SEGUIN, V., D. GARON, S. LEMAUVIEL-LAVENANT, C. LANIER, V. BOUCHART, Y. GALLARD, B. BLANCHET, S. DIQUÉLOU, E. PERSONENI, A. OURRY (2012): How to improve the hygienic quality of forages for horse feeding. *J Sci Food Agric* 92, str. 975–986.
- 107.TAHA, R., Q. HAMID, L. CAMERON, R. OLIVENSTEIN (2003): T helper type 2 cytokine receptors and associated transcription factors GATA-3, c-MAF, and signal transducer and activator of transcription factor-6 in induced sputum of atopic asthmatic patients. *Chest* 123, str. 2074–2082.
- 108.TAHON, L., S. BASELGIA, V. GERBER, M. G. DOHERR, R. STRAUB, N. E. ROBINSON, E. MARTI (2009): In vitro allergy test compared to intradermal testing in horses with recurrent airway obstruction. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 127, str. 85–93.
- 109.TAKEDA, K., S. AKIRA (2005): Toll-like receptors in innate immunity. *Int Immunol*, 17, str. 1-14.

110. TESAROWSKI, D. B., L. VIEL, W. N. MCDONELL (1996): Pulmonary function measurements during repeated environmental challenge of horses with recurrent airway obstruction (heaves). *Am J Vet Res* 57, str. 1214–1219.
111. TESFAIGZI, Y. (2006): Roles of Apoptosis in Airway Epithelia. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 34, str. 537–547.
112. TESFAIGZI, Y., M. J. FISCHER, M. DAHESHIA, F. H. GREEN, G. T. DE SANCTIS, J. A. WILDER (2002): Bax is crucial for IFN $\gamma$ -induced resolution of allergen-induced mucous cell metaplasia. *Journal of Immunology* 169, str. 5919–5925.
113. TESFAIGZI, Y., J. F. HARRIS, J. A. HOTCHKISS, J. R. HARKEMA (2004): DNA synthesis and Bcl-2 expression during the development of mucous cell metaplasia in airway epithelium of rats exposed to LPS. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology* 286, str. 268–274.
114. THANNICKAL, V. J., D. Y. LEE, E. S. WHITE, Z. CUI, J. M. LARIOS, R. CHACON, J. C. HOROWITZ, R. M. DAY, P. E. THOMAS (2003): Myofibroblast differentiation by transforming growth factor-beta1 is dependent on cell adhesion and integrin signaling via focal adhesion kinase. *Journal of Biological Chemistry* 278, str. 12384–12389.
115. TRAUB-DARGATZ, J. L., M. D. SALMAN, J. L. VOSS (1991): Medical problems of adult horses, as ranked by equine practitioners. *JAVMA* 198, str. 1745–1747.
116. TURGUT, K., H. H. SASSE (1989): Influence of clenbuterol on mucociliary transport in healthy horses and horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Veterinary Record* 125, str. 526–530.
117. TURLEJ, R. K., L. FIÉVEZ, C. F. SANDERSEN, S. DOGNÉ, N. KIRSCHVINK, P. LEKEUX, F. BUREAU (2001): Enhanced survival of lung granulocytes in an animal model of asthma: evidence for a role of GM-CSF activated STAT5 signaling pathway. *Thorax* 56, str. 696–702.
118. UMETSU, D., J. J. MCINTIRE, O. AKBARI, C. MACAUBAS, R. H. DEKRUYFF (2002): Asthma: an epidemic of dysregulated immunity. *Nature Immunology* 3, str. 715–720.
119. WAGNER, B. (2009): IgE in horses: Occurrence in health and disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 132, str. 21–30.
120. WEGMANN, M. (2008): Animal models of chronic experimental asthma – strategies for the identification of new therapeutic targets. *Journal of Occupational Medical Toxicology* 3, str. 4.

121. WILLOUGHBY, R. A., G. L. ECKER, S. L. MCKEE, L. J. RIDDOLLS (1991): Use of scintigraphy for the determination of mucociliary clearance rates in normal, sedated, diseased and exercised horses. *Canadian of Journal Veterinary Research* 55, str. 315–320.
122. WINDER, N. C., R. VON FELLEBERG (1987): Chronic small airway disease in horses slaughtered in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd* 129, str. 585–593.
123. WITOWSKI, J., K. KSIAZEK, A. JORRES (2004): Interleukin-17: a mediator of inflammatory responses. *Cellular and Molecular Life Science* 61, str. 567–579.
124. WOOD, L. G., P. G. GIBSON, M. L. GARG (2003): Biomarkers of lipid peroxidation, airway inflammation and asthma. *European Respiratory Journal* 21, str. 177–186.
125. WOODS, P. S., N. E. ROBINSON, M. C. SWANSON, C. E. REED, R. V. BROADSTONE, F. J. DERKSEN (1993): Airborne dust and aeroallergen concentration in a horse stable under two different management systems. *Equine Vet J* 25; str. 208–213.
126. YAMASHITA, M., A. ONODERA, T. NAKAYAMA (2007): Immune mechanism of allergic airway disease: regulation by transcriptions factors. *Critical Reviews in Immunology* 26, str. 539–546.

## 6. SAŽETAK

### Rekurentna opstrukcija dišnih puteva u konja u svjetlu higijene smještaja i držanja

Iako je zbog sličnosti kroničnoj opstruktivnoj plućnoj bolesti (KOPB) u ljudi ovo stanje godinama nazivano KOPB konja, zahvaljujući novijim znanstvenim spoznajama usvojen je novi, primjereniji naziv – rekurentna opstrukcija dišnih puteva konja (*Recurrent Airway Obstruction* - RAO).

RAO je bolest koja se razvija najčešće u starijih konja držanih u staji i izloženih alergenima iz okoliša (organska prašina, mikroorganizmi, endotoksini, plijesni). Ubrzo nakon izlaganja alergenima u oboljelih konja dolazi do imunološke reakcije. Učinak T stanica na ostale stanice ostvaruje se izlučivanjem medijatora upale koji su dalje odgovorni za razvoj upale i aktivaciju leukocita u dišnim putevima. Aktivirane upalne stanice reagiraju „respiratornim praskom“, a posljedica je oslobađanje reaktivnih spojeva kisika (ROS-a). ROS modulira aktivaciju transkripcijskih faktora poput nuklearnog faktora kappa B (NF- $\kappa$ B) i aktivatorskog proteina-1 (AP-1) u stanicama bronhijalnog epitela, alveolarnim makrofazima, neutrofilima i mastocitima. Upala dišnih puteva, posebno nakupljanje neutrofila i njihovih proizvoda, uzrokuje promjene svojstava sluzi koje su posljedica promjena u kvaliteti i kvantiteti mucina. Abnormalna glikozilacija mucina povećava viskoznost sekreta što rezultira smanjenjem mukocilijarne funkcije, nakupljanjem sluzi i opstrukcijom dišnih prohoda. Remodeliranje dišnih puteva glavni je čimbenik u razvoju ireverzibilnih smetnji pri protoku zraka, a uključuje hiperplaziju vrčastih stanica i subepitelnih žlijezda, subepitelnu fibrozu, neovaskularizaciju te zadebljanje stijenke dišnih puteva.

Klinički znakovi posljedica su otpora protoku zraka u dišnim prohodima. Javljaju se kašalj, iscjedak iz nosnica, pojačan napor pri disanju te ponekad tahipneja. Ukoliko su u dišnim prohodima prisutne veće količine sluzi, mogu se čuti trahealni hropci. U kroničnim slučajevima razvija se hipertrofija vanjskog kosog trbušnog mišića, kolokvijalno poznata kao „žlijeb sipnje“. Radna sposobnost oboljelih konja je smanjena, a zbog gubitka apetita nerijetko gube i tjelesnu masu.

Bolest se dijagnosticira najčešće na temelju anamnestičkih podataka i kliničke slike. Pretragom plinova u krvi u oboljelih konja uočavaju se smanjene vrijednosti PaO<sub>2</sub> i fiziološke, ili tek blago povećane vrijednosti PaCO<sub>2</sub>. Rendgenskom pretragom prsnog koša može se uočiti peribronhalna infiltracija i prošireno plućno polje. Za sigurnu dijagnozu RAO-a rabi se bronhoalveolana lavaža (BAL).

Osnovu preventive i liječenja RAO-a čine zahvati koji utječu na okoliš životinje, posebice na smanjenje prašine i kvalitetu zraka. Od lijekova se sistemski ili inhalacijski

primjenjuju kortikosteroidi i bronhodilatatori. Prašina u stajskom zraku sastoji se od čestica različitih dijelova biljnih fragmenata, grinja, bakterija, spora, plijesni, kvasaca te endotoksina. Na njezin sastav u najvećoj mjeri utječu vrsta i oblik stočne hrane, stelje, aktivnosti radnika u staji (čišćenje, timarenje i sl.) kao i aktivnost samih životinja. Na zadržavanje prašine u zraku i vjerojatnost udisanja u različite regije dišnog trakta konja utječe količina i brzina ispuštanja sitnih fragmenata iz stelje i hrane, veličina čestica i brzina njihovog uklanjanja ventilacijom. Postupci držanja kao što je hranjenje isključivo peletiranom hranom, korištenje stelje od drvnog materijala i izvođenje konja iz staje tijekom čišćenja mogu minimizirati izloženost konja onečišćenjima iz zraka. Nove bi staje trebale težiti ka povećanju prirodne ventilacije kao i povećanju udaljenosti od potencijalnih izvora vanjskih onečišćenja poput prometnih cesta.

**Ključne riječi:** rekurentna opstrukcija dišnih puteva - RAO, konj, prašina, respiratorni sustav, higijena, staja, držanje

## **7. SUMMARY**

**Majda Požega**

### **RECURRENT AIRWAY OBSTRUCTION IN HORSES WITH THE FOCUS ON HYGIENE IN STABLES AND MENAGEMENT REGIME**

Due to its similarity to chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in humans, this condition in horses has also been called COPD of horses for many years, but thanks to recent scientific knowledge, now it is adopted a new, more appropriate name - Recurrent Airway Obstruction (RAO).

RAO is a disease that most often affects older horses kept in stables exposed to environmental allergens (organic dust, microorganisms, endotoxins, mold). Immediately after exposure to allergens, an immune response occurs. The effect of T cells is achieved by secreting inflammatory mediators, which are further responsible for the development of inflammation and the activation of leukocytes in the airways. Activated inflammatory cells respond with a respiratory burst, resulting in the release of reactive oxygen species (ROS). ROS modulates the activation of transcription factors such as nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) and activator protein-1 (AP-1) in bronchial epithelial cells, alveolar macrophages, neutrophils, and mast cells. Respiratory inflammation, especially the accumulation of neutrophils and their products, causes changes in mucus properties as a result of changes in the quality and quantity of mucin. Abnormal glycosylation of mucins has been shown to increase the viscosity of airway secretions failing mucociliary function, mucus accumulation, and airway obstruction. Respiratory remodeling is a major factor in the development of irreversible airflow disorders and includes goblet cell and mucous gland hyperplasia, subepithelial fibrosis, neovascularization and an overall thickening of the airway wall.

Clinical signs are a result of resistance to the airflow in the airways. Cough, nasal discharge, increased respiratory effort, and sometimes tachypnea may occur. If larger amounts of mucus are present in the airways, abnormal breath sounds can be heard. In chronic cases, hypertrophy of the external abdominal oblique muscle develops which is colloquially known as the "heave line". The working capacity of affected horses is reduced. Severely affected horses may also exhibit inappetence and weight loss.

Diagnosis is usually based on anamnesis and clinical signs. Examination of blood gases in affected horses showed lower PaO<sub>2</sub> and physiological or slightly higher PaCO<sub>2</sub> values. Thoracic radiography shows peribronchial infiltration and enlarged lungs. For a safe diagnosis of RAO, bronchoalveolar lavage (BAL) is used.

The basis of prevention and treatment of RAO is environment management, especially dust reduction and improvement of air quality. Corticosteroids and bronchodilators could be administered systemically or by inhalation. Dust consists of plant fragments, mites, bacteria, spores, molds, yeasts, and endotoxins. Its composition is largely influenced by the type and form of animal feed, bedding, the activities of workers in the barn (cleaning, grooming, etc.), and the activity of the animals themselves. The retention of dust in the air and the likelihood of inhalation into different regions of the horse's respiratory tract are influenced by the amount and rate of releasing the small fragments from the bedding and forage, as well as the size of the particles and the rate of their removal by ventilation. Management procedures such as feeding with a pelleted food, usage of wood shavings for bedding and removing the animals from the barn during cleaning could minimize the exposure of horses to airborne contaminants. New constructions should seek to maximize the natural ventilation of the building as well as the distance from potential pollution sources such as busy roads.

**Keywords:** Recurrent airway obstruction - RAO, horse, dust, respiratory system, hygiene, stable, management

## 8. ŽIVOTOPIS

Rođena sam na Svjetski dan zaštite životinja, 4. listopada, 1992. godine u Zagrebu. Tijekom osnovnoškolskog obrazovanja u osnovnoj školi „Slunj“ sudjelovala sam u mnogim izvannastavnim aktivnostima i na natjecanjima od kojih se posebno ističu uspjesi na županijskim i regionalnim natjecanjima iz matematike i fizike. Kao učenica generacije 2007. godine upisala sam V. gimnaziju u Zagrebu, a 2011. Veterinarski fakultet u Zagrebu. U X. semestru studija opredjelila sam se za usmjerenje: Farmske životinje i konji. Od travnja 2018. godine volontiram na Klinici za zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta. Pod vodstvom Zavoda za biologiju, patologiju i uzgoj divljači sudjelovala sam u sekcijama divljih životinja u svrhe znanstvenih projekata i radova te sam autor studentskog znanstvenog rada „Parazitofauna probavnog sustava sivoga puha“.