

# Učinkovitost CIDR- spirala u liječenju neplodnosti i sinkronizaciji estrusa mliječnih krava

---

Hlebec Marković, Natalija

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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:178:074108>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-20**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

**Natalija Hlebec Marković**

**UČINKOVITOST CIDR SPIRALA U LIJEČENJU NEPLODNOSTI I  
SINKRONIZACIJI ESTRUSA MLIJEČNIH KRAVA**

Diplomski rad

Zagreb, lipanj 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULET

KLINIKA ZA PORODNIŠTVO I REPRODUKCIJU

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod stručnim vodstvom mentora doc. dr. sc. Silvija Vince i komentorice dr. sc. Branimire Špoljarić.

PREDSTOJNIK : prof. dr. sc. Juraj Grizelj, dr. med. vet.

MENTOR : doc. dr. sc. Silvijo Vince, dr. med. vet.

ČLANOVI POVJERENSTVA ZA OBRANU DIPLOMSKOG RADA :

1. doc. dr. sc. Silvijo Vince
2. dr.sc. Branimira Špoljarić
3. doc. dr. sc. Ivan Folnožić
4. prof. dr. sc. Marko Samardžija (zamjena)

*Zahvaljujem svojem mentoru, doc. dr. sc. Silviju Vince i komentorici, dr. sc. Branimiru Špoljariću, na savjetima u izboru teme, ukazanom povjerenju, pomoći i strpljenju tijekom izrade ovoga rada.*

*Zahvaljujem se i Ratku Juričiću, dr. vet. med., iz Veterinarske ambulante Cestica i Velimiru Berta, dr. vet. med., iz Veterinarske ambulante Jalžabet na ustupljenim informacijama i savjetima.*

*Najveća hvala mojem suprugu Marinku, kćerima Teni i Lauri, mami, s veka mi, što su mi pomogli u studiranju, vjerovali u mene, na njihovoj neizmjerljivoj žrtvi, razumijevanju, strpljenju i bezuvjetnoj podršci.*

*Velika hvala i kolegama s fakulteta na svojoj nesebičnoj pomoći tijekom cijelog studija. Zaista sam sretna što sam upoznala sve te divne ljude.*

*Posebno zahvaljujem i brojnim prijateljima, obitelji Sačić i obitelji Cvek, Tomislavu Kalađiji i Davoru Magiću koji su mi također pomogli da ostvarim svoj cilj.*

**Popis korištenih kratica:**

CL- corpus luteum (žuto tijelo)

COD- cystic ovarian disease (cistična bolest jajnika)

FSH- folikulostimulirajući hormon

GnRH- gonadotropni oslobađajući hormon

LH- luteinizirajući hormon

PGF $2\alpha$ - prostaglandin F $2\alpha$

UO- umjetno osjemenjivanje

CIDR- Controlled Internal Drug Release

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA</b> .....	2
<b>2.1. SPOLNI CIKLUS KRAVE</b> .....	2
2.1.1. Faze spolnog ciklusa .....	2
2.1.2. Neurohormonalna regulacija spolnog ciklusa .....	2
2.1.3. Folikularna dinamika tijekom spolnog ciklusa.....	5
2.2. Servis period .....	6
2.3. Umjetno osjemenjivanje krava .....	6
2.4. Metode sinkronizacije estrusa krava .....	7
2.4.1. Prostaglandini .....	8
2.4.2. Ovsynch .....	8
2.4.3. Gestageni .....	9
<b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....	14
3.1. Uzorak životinja .....	14
3.2. Podatci o životinjama .....	14
3.3. Sinkronizacija estrusa .....	14
3.4. Statistička analiza podataka.....	16
<b>4. REZULTATI</b> .....	17
<b>5. RASPRAVA</b> .....	21
<b>6.ZAKLJUČCI</b> .....	23
<b>7. LITERATURA</b> .....	24
<b>8. SAŽETAK</b> .....	26
<b>9. SUMMARY</b> .....	27
<b>10. ŽIVOTOPIS</b> .....	28

# 1. UVOD

Govedarstvo je najvažnija grana stočarstva i poljoprivrede koja čini temelj razvoja ukupne stočarske proizvodnje i od višestruke je gospodarske važnosti. Govedarstvo je u posljednje vrijeme prešlo s ekstenzivne na intenzivnu proizvodnju. Skoro cjelokupna mljekarska proizvodnja je bazirana na velikim farmama, sve je manje seoskih gospodarstava koja drže mali broj krava. Za rasplodnu sposobnost krava odgovorno je najčešće genetsko nasljeđe, okolišni čimbenici, menadžment te zdravstveno stanje stada. Kako su životinje pod stalnim stresom zbog želje vlasnika da se poboljša njihova reproduktivnost, organizam se nije u stanju u kratkom vremenu prilagoditi prvobitnom fiziološkom stanju. Zbog toga dolazi do raznih poremećaja. Glavnina se očituje na reproduktivnom sustavu. Stoga je potreban je pouzdan sustav (detekcija estrusa i programi UO-a u protokolom točno određeno vrijeme). Na velikim farmama teško se provodi detekcija estrusa, propusti se 20-30% krava u estrusu. Zbog toga je nužna suradnja stočara i veterinar, poznavanje poremećaja u reprodukciji i liječenje istih. Studij veterine upisala sam ponajviše zbog interesa za porodništvo i reprodukciju životinja, zbog čega sam se odlučila i na pisanje diplomskog rada iz ovog područja.

Cilj diplomskog rada bio je obraditi dostupne podatke o učinkovitosti CIDR vaginalnog umetka na različitim farmama u Varaždinskoj i Bjelovarsko-bilogorskoj županiji.

## **2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA**

### **2.1. SPOLNI CIKLUS KRAVE**

#### **2.1.1. Faze spolnog ciklusa**

Spolni ciklus je razdoblje od početka jednog do početka drugog estrusa. Kod krava traje 21 dan (19-24), a dijeli se na četiri faze (TOMAŠKOVIĆ i sur., 2007). To su: proestrus (proestrus), estrus (oestrus), metestrus (metoestrus) i diestrus (dioestrus). Krave su tipične poliestrične i uniparne životinje. Na duljinu spolnog ciklusa utječu pasmina, prehrana, proizvodnja mlijeka, prisutstvo bika i način držanja. Prva faza je proestrus. Traje najčešće jedan do tri dana. U toj fazi dolazi do pojačane aktivnosti organa spolnog sustava te dolazi do razvoja i dozrijevanja folikula. Maternica se povećava, javlja se kongestija i edem na endometriju, sluznica rodnice je hiperemična, povećava se broj stanica u epitelu, a superficialni sloj orožnjava. Druga faza je estrus. U estrusu je plotkinja spremna za pripust ili umjetno osjemenjivanje. Traje između 2 i 36 sata, prosječno 18 sati. Žlijezde sluznice maternice, cerviksa i predvorja vagine luče pojačane količine sluzi. Bistra, viskozna, staklasta sluz rasteže se od stidnice do tla. Vaginalni epitel i endometrij su kongestivni i hiperemični, a cerviks je otvoren. Kod životinja u estrusu dolazi do promjena u vladanju, nemirne su, više se kreću, imaju slabiji apetit, smanjena je proizvodnja mlijeka, pokušavaju zaskakivati druge životinje, te dopuštaju da budu zaskočene. Metestrus je faza koja slijedi nakon estrusa. Traje 3-4 dana. Dolazi do tvorbe žutog tijela, pretvorbe granulosa u luteinske stanice. Iscjedak iz spolnih organa se smanjuje ili potpuno gubi. Četvrta faza je diestrus, razdoblje aktivnosti žutog tijela koje luči velike količine progesterona. Sluznica rodnice je blijeda, cerviks je zatvoren. Traje od 12-14 dana. Dolazi do hiperplazije i hipertrofije žlijezda maternice zbog pripreme za nidaciju. Ukoliko životinja nije gravidna dolazi do regresije žutog tijela.

#### **2.1.2. Neurohormonalna regulacija spolnog ciklusa**

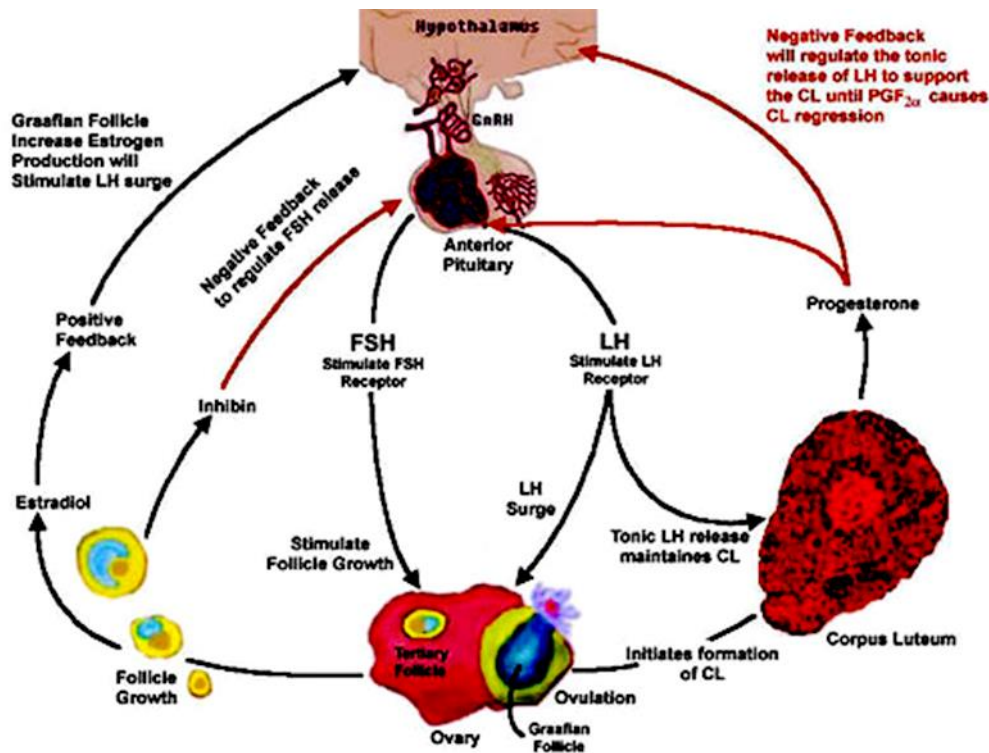
Regulacija spolne aktivnosti odvija se preko živčanog i endokrinog sustava. Osjetila registriraju informacije iz okoliša, a optički i mirisni živac i osjetilni živci prenose poruku u mozak. Mozak prevodi informacije i reagira slanjem živčanog impulsa kroz živčana vlakna u ciljni organ. Hormonski sustav šalje informacije putem kemijskih glasnika. Nakon dostizanja ciljanih



stanica hormon izazva reakciju. Ciljane stanice imaju hormonske specifične receptore. Nakon vezanja na receptor, poruka se može prenijeti. Ova će poruka dovesti do odgovora na stanice, koji obično uključuje aktivaciju ili inaktivaciju. Funkcija jednog hormona u stanici može biti indukcija ili degradacija receptora za drugog glasnika. Receptori mogu biti blokirani viškom hormona. Većina receptora treba drugi glasnik za prijenos poruke. Jedan od najpoznatijih sekundarnih glasnika je ciklički AMP (cAMP). Nakon vezanja na receptor, hormon aktivira sustav adenilat-ciklaze smješten u staničnoj membrani. ATP se nakon toga pretvara u cAMP. cAMP, drugi glasnik, aktivira neaktivnu cAMP-protein-kinazu-A koja se dijeli u aktivnu katalitičku jedinicu i regulacijsku jedinicu. Aktivna katalitička jedinica protein-kinaze stimulira fosforilaciju proteina ili enzima koji uzrokuje stanične procese, kao što je sinteza proteina, rast ili izlučivanje hormona (PTASZYNSKA, 2003.).

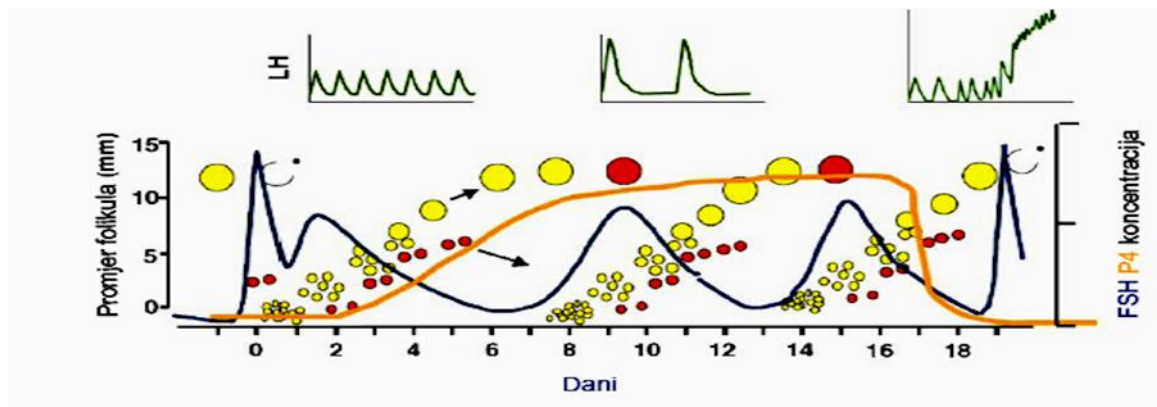
#### 2.1.2.1. Regulacija ciklusa ženskih jedinki

Razdoblja bez redovite cikličke aktivnosti čine glavni dio života plodne ženske životinje. Ipak je većina pozornosti usmjerena na razdoblja cikličke aktivnosti. Ovo je razdoblje u kojem se čovjek najčešće miješa u proces reprodukcije, a tijekom tog perioda najčešće se javljaju problemi povezani s uzgojem. CNS prima informacije iz okoliša životinje i prenosi ih do jajnika preko osi hipotalamus-hipofiza. Hipotalamus i hipofiza su strukture koje su usko povezane s ventralnim dijelom mozga. Mehanizam povratne sprege većine hormona regulira vlastitu stopu izlučivanja. Nakon podražaja iz središnjeg živčanog sustava u hipotalamusu endokrini neuroni proizvode GnRH. GnRH se transportira kroz hipotalamus-hipofiza portalni sustav do prednjeg režnja hipofize. Ovdje potiče gonadotropne stanice hipofize da luče folikulostimulirajući hormon (FSH) i luteinizirajući hormon (LH). FSH potiče razvoj folikula jajnika. U theca stanicama folikula, LH stimulira sintezu androstenediona iz kolesterola. Androstenedion se pretvara u testosteron. Iznad određene granične razine estradiola, hipotalamus reagira s valom GnRH. Ovaj GnRH val pridonosi LH valu koji inicira ovulaciju. Učinak estradiola je i indukcija simptoma estrusa (PTASZYNSKA, 2003.).



Slika 1. Prikaz neurohormonalne regulacije spolnog ciklusa

Granuloza stanice proizvode i inhibin. Dobio je naziv zbog negativnih povratnih informacija o oslobađanju FSH iz hipofize, čime se kontrolira razvoj folikula. Nakon ovulacije ostatci folikula preuređuju se u žuto tijelo pod utjecajem LH. Šupljina folikula je ispunjena krvnim žilama, a granulozne stanice rastu. Žuto tijelo je sekretorni organ koji proizvodi progesteron i oksitocin. Progesteron je neophodan za normalni ciklus u krava, a nakon začeća to je glavni hormon koji je odgovoran za održavanje trudnoće. Smanjuje se otpuštanje GnRH i inhibiraju nove ovulacije. Priprema endometrija za nidaciju embrija i inhibira nekontrolirane kontrakcije stijenke maternice. Ako jajna stanica nije oplodena, oko 16. dana nakon ovulacije, iz endometrija maternice će osloboditi prostaglandin. Prostaglandin djeluje luteolitički, pokreće regresiju žutog tijela. Luteolitički mehanizam prostaglandina nije potpuno razjašnjen, ali poznato je da smanjenje opskrbu krvlju žutog tijela vazokonstrikcijom. Također se smatra da oksitocin proizveden u žutom tijelu ima ulogu u luteolizi. Kao rezultat regresije žutog tijela koncentracija progesterona u krvi će se smanjiti. To inicira novu folikularnu fazu i razvoj pre-ovulacijskog folikula. Razdoblje sazrijevanja folikula, estrusa i ovulacije, koje karakterizira proizvodnja estradiola, naziva se folikularna faza ciklusa. Faza koja je dominirala progesteronom, od ovulacije do luteolize, naziva se luteinska faza ciklusa (PTASZYNSKA, 2003.).



Slika 2. Folikularna dinamika tijekom spolnog ciklusa

### 2.1.3. Folikularna dinamika tijekom spolnog ciklusa

U jajnicima spolno zrelih jedinki neprekidno se odvija folikulogeneza u kojoj sazrijevaju jajne stanice. Folikulogeneza završava ovulacijom najčešće jednog folikula na čijem mjestu se kasnije stvara žuto tijelo. Za vrijeme spolnog ciklusa u krave i junice dominantni folikul dosegne promjer od približno 10 do 20 mm. Ostali folikuli na jajnicima dosegnu maksimalnu veličinu od 8 mm i na jajnicima su svakodnevno zabilježeni (IRELAND i ROCHE, 1987.). U krava i junica se razvoj folikula odvija u valovima, pri čemu se većina spolnih ciklusa sastoji od dva ili tri vala razvoja folikula. U svakom valu, grupa malih antralnih folikula promjera 3 do 5 mm s receptorima za gonadotropne hormone počinje rasti. To se naziva faza odabira. Unutar svake grupe jedan folikul postaje dominantan (faza selekcije) i nastavlja rasti (faza dominacije) te izlučuje više  $17\beta$ -estradiola, inhibina i drugih čimbenika. Pojačana sekrecija dominantnog folikula uzrokuje atreziju i regresiju ostalih folikula. U prisustvu žutog tijela dominantni folikul ostaje u funkciji nekoliko dana. Nakon što postigne svoju maksimalnu veličinu (10-15 mm u promjeru) i on bude podvrgnut atreziji (faza prestanka dominacije). Dominantni folikul počinje kontinuirano rasti i sintetizirati  $17\beta$ -estradiol 3. ili 4. dana ciklusa. Žuto tijelo negativnom povratnom spregom regulira pulziranje LH te stoga dominantni folikul, koji je ovisan o podršci LH, postaje atretičan (IRELAND i ROCHE, 1987.). Početni pad sekrecije  $17\beta$ -estradiola događa se 6. dana ciklusa, a prati ga gubitak dominacije između 7. i 9. dana spolnog ciklusa. Prestanak funkcije dominantnog folikula dovodi do kratkotrajnog porasta FSH u plazmi što stimulira pojavu novoga vala folikula. Ovaj uzorak rasta folikula ponavlja se dok ne dođe do regresije žutog tijela istovremeno s fazom dominacije dominantnog folikula. Ovaj folikul oslobođen negativne povratne sprege progesterona kojega producira žuto tijelo na

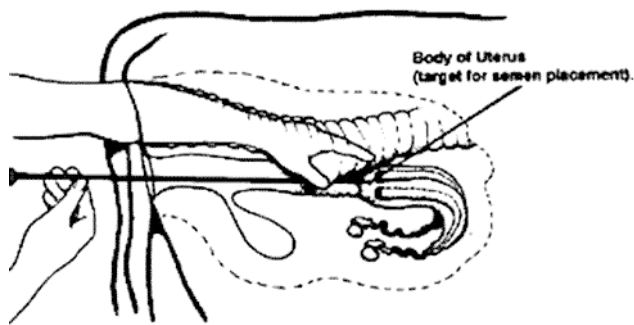
hipotalamus-hipofiznu os, nastavlja rasti sve do predovulacijske veličine ( $\pm 20$  mm) te pokreće hormonske događaje koji dovode do ovulacije (IRELAND i ROCHE, 1987.). Jedan folikularni val traje 8 do 10 dana, a broj folikularnih valova unutar spolnog ciklusa ovisi o vijeku i funkciji žutog tijela. U većine krava i junica dominantni folikul prvog vala regresira, a pojava drugoga folikularnog vala rezultiraju s prisustvom dominantnog folikula drugoga vala. U ciklusima s dva vala dozrijevanje drugog dominantnog folikula događa se istovremeno sa spontanom regresijom žutoga tijela, te taj folikul ovulira nakon luteolize. U drugom slučaju drugi dominantni folikul može atrezirati te započinje treći folikularni val (IRELAND i ROCHE, 1987.). Folikularni valovi se javljaju oko 2. i 11. dana, ili 2., 9. i 16. dana spolnog ciklusa, ovisno je li riječ o dva ili tri vala. U pojedinim krava i junica mogu se pojaviti čak i četiri folikularna vala.

## **2.2. Servis period**

Vrijeme od poroda do prve koncepcije naziva se servis period. Svima je u cilju što više skratiti taj period, iako, ako je previše kratak, dovodi do iscrpljivanja krava, posebice visoko mliječnih, te se smanjuje proizvodni vijek. Servis period trebao bi iznositi između 60 i 90 dana, iznimno 100 kod visokomliječnih krava ( TOMAŠKOVIĆ i sur.2007.).

## **2.3. Umjetno osjemenjivanje krava**

Umjetno osjemenjivanje je zahvat kojim se unose spermiji u određene dijelove spolnih organa ženki na umjetan način. Na taj način sprječava se širenje spolnih zaraza, te se koristi sjeme najkvalitetnijih rasplodnjaka. Spermiji nakon dolaska u spolne organe nisu odmah sposobni za oplodnju, nego tek za nekoliko sati, procesom kapacitacije. Najbolji rezultati postižu se ako spermiji u trenutku ovulacije budu u jajovodu i dočekaju jajnu stanicu. Ovulacija u krava i junica događa se 1 do 16 sati nakon prestanka vanjskih znakova estrusa. Znakovi estrusa uključuju nemir, povećanu aktivnost, slabiji apetit, smanjenu proizvodnju mlijeka, zaskakivanje drugih životinja i dopuštanje da ih se zaskoči, edem i hiperemija stidnice i pojava bistre, viskozne, staklaste sluzi. Većina krava počinje se tjerati noću i rano ujutro. Idealno vrijeme za osjemenjivanje je 6 do 24 sati prije ovulacije. Prije osjemenjivanja potrebno je krave pregledati vaginalno i rektalno. Važno je utvrditi prije osjemenjivanja da li se životinja stvarno tjera. Nepotrebno uzbuđenje može ometati fiziološke mehanizme važne za postizanje dobre stope koncepcije.



Slika 3. Umjetno osjemenjivanje krave bimanualnom metodom

Kako bi se izbjegla mogućnost ulaska u uretralni otvor na podu rodnice, pistolet za osjemenjivanje treba umetnuti u vulvu prema gore pod kutem od 30 do 40 stupnjeva. Sjeme treba dospjeti u tijelo maternice. Točno polaganje vrha pistoleta najvažnija je vještina uključena u tehniku osjemenjivanja. Deponiranje sjemena u grlić maternice ili u rogove maternice može rezultirati nižim stopama koncepcije. Postupak osjemenjivanja je sljedeći: prvo se opere i obriše stidnica, nakon toga se prstima jedne ruke rašire stidne usne i drugom rukom se po dorzalnoj stjenci rodnice uvuče pistolet sve do forniksa rodnice. Nakon toga se rukom ulazi u rektum i fiksira cerviks. Drugom rukom se uvlači vrh pistoleta duboko intracervikalno. Tijekom aplikacije se pistolet lagano izvlači, tako da se sjeme podjednako rasporedi. Odlaganje sperme trebalo bi potrajati oko pet sekundi (GALLAGHER i SENGER, 1989.; HERAK-PERKOVIĆ i sur., 2012.; TOMAŠKOVIĆ i sur., 2007.).

## 2.4. Metode sinkronizacije estrusa krava

Visokoproduktivna mliječna goveda imaju različitu fiziologiju reprodukcije. Kod njih dolazi do bržeg protoka krvi kroz jetru, bržeg metaboliziranja estradiola, stoga su slabije izraženi znakovi estrusa, povećan je promjer ovulatornog folikula, pa se javlja visoki postotak anovulacije, dvostruke i zakašnjele ovulacije. Tijekom rane laktacije značajno povećanje proizvodnje mlijeka povećava pojavnost različitih reproduktivnih poremećaja. Nemoguće je zadovoljiti energetske potrebe, te dolazi do negativnog energetskog balansa. Energetski balans tijekom prva tri tjedna laktacije u svezi je s periodom između telenja i prve ovulacije (Butler i sur., 2000.). Kod tih krava dolazi do mobilizacije masnoća i akumulacije triglicerida u jetri, što dovodi do jetrene lipidoze i smanjene plodnosti nakon porođaja. Negativni energetski balans narušava lučenje LH, te žuta tijela takvih krava luče manje progesterona.

Kod krava s aktivnim jajnicima ovulacija i estrus se mogu regulirati na tri načina: pomoću prostaglandina, kako bi se potaknula rana regresija žutog tijela; pomoću kombinacije prostaglandina i GnRH analoga da bi se sinkronizirao razvoj folikula nakon inducirane luteolize, te pomoću progestagena koji djeluju kao žuto tijelo.

#### 2.4.1. Prostaglandini

Između 6. i 16. dana ciklusa aplikacija prostaglandina će inducirati regresiju žutog tijela čime će se završiti lutealna faza. Započet će nova folikularna faza i životinja će ući u estrus. Kod sinkronizacije skupine životinja, jedna aplikacija najčešće nije dovoljna. Aplikiranje prostaglandina bi trebalo ponoviti za 11 do 13 dana, jer bi tad sve morale imati funkcionalno žuto tijelo. Razdoblje između apliciranja i pojave estrusa ovisi o statusu jajnika u vrijeme aplikacije, pri čemu brže sazrijeva folikul koji je u vrijeme aplikacije bio veći. Vrijeme oplođivanja je između 72 i 96 sati od druge aplikacije (TOMAŠKOVIĆ i sur., 2007.).

#### 2.4.2. Ovsynch

Cilj Ovsynch protokola je prekinuti dominaciju folikula, kako bi izazvali rast novog folikularnog vala u svrhu postizanja optimalnog promjera ovulatornog folikula (14-19 mm) prilikom UO-a. Kombinacija GnRH i prostaglandina dovodi do veće homogenosti folikularnog stanja jajnika u vrijeme indukcije luteolize. Kao rezultat toga, poboljšana je preciznost nastupa estrusa nakon prostaglandin-inducirane luteolize, što omogućuje sinkronizaciju i folikularnog razvoja i regresije žutog tijela.



Slika 4. Shema Ovsynch protokola

### 2.4.3. Gestageni

Gestageni (progestageni ,progestini) su tvari različite kemijske strukture, a zajedničko im je da prevode proliferacijsku fazu endometrija u sekrecijsku, te tako pripremaju maternicu za nidaciju oplodjenog jajašca. Od prirodnih gestagena najpoznatiji je progesteron. On je kemijski steroid, derivat pregnana (DELAK, 1985.). Progesteron izlučuje žuto tijelo i placenta. U nadbubrezima se nalazi i 17-alfa-hidroksiprogesteron. Progesteron je bijeli prašak, netopiv u vodi a topiv u mastima i organskim otapalima. Nakon resorpcije progesteron se u krvi veže za bjelančevine a u jetri se transformira u pregnandiol, koji se veže na glukuronsku kiselinu i izlučuje urinom. U proliferacijskoj fazi količina progesterona u krvi je mala, dok u sekrecijskoj može biti i 20 puta veća. U kasnijoj fazi graviditeta u krvi su velike količine progesterona. Progesteron koji se nalazi u urinu potječe uglavnom iz posteljice. Progesteron djeluje na vaginu, cerviks, endometrij, miometrij i središnji živčani sustav. Upravo zbog njegovog djelovanja sluz u cerviksu postaje gusta i neprohodna za spermije. Zahvaljujući djelovanju estrogena i progesterona razvija se mliječna žlijezda. Za razliku od velikih količina progesterona koje inhibiraju tvorbu folikula i ovulaciju, male stimuliraju ovulaciju, što se koristi za sinkronizaciju estrusa. Trajanje tretmana je 10 do 12 dana. Kako bi se osiguralo da prirodno žuto tijelo regresira do kraja liječenja, progestageni se moraju kombinirati s luteolitičkim faktorom. Opcije su: primjena estradiola na početku liječenja ili ubrizgavanje prostaglandina na kraju. Estradiol ne samo da skraćuje životni vijek žutog tijela već također utječe na folikularnu dinamiku. Estrogeni koji se primjenjuju u vrijeme umetanja implantata progestagena potiču supresiju dominantnog folikula i pojavu novog folikularnog vala. U necikličkih kravama progestageni senzibiliziraju hipotalamus-hipofiznu os. Estrusi i ovulacija, nakon tretmana s progestagenima, javljaju se ranije i s preciznijim vremenom nego što se dogodilo nakon injiciranja prostaglandina.

### 2.4.3.1. CIDR SPIRALE

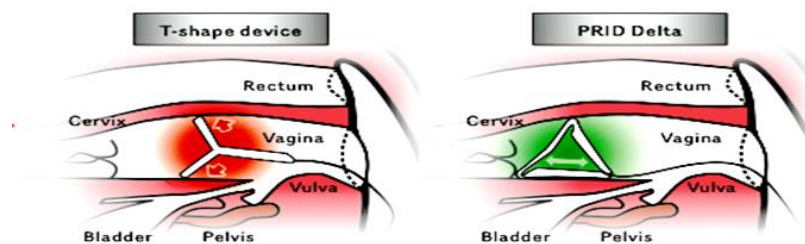


Slika 5. Slika 4. CIDR umetak (Izvor: [www.zoetisus.com](http://www.zoetisus.com) )

#### Povijest upotrebe CIDR-a

CIDR (Controlled Internal Drug Release) je intravaginalni progesteronski umetak koji se koristi kod liječenja neplodnosti i sinkronizacije estrusa krava. Koristi se diljem svijeta zbog prednosti koje takav oblik aplikacije ima nad injekcijskim. Aplikacija takvog umetka ne oštećuje sluznicu i tkivo, kao što je to kod injekcija, te se progesteron oslobađa tehnikom apsorpcije kroz vaginalnu sluznicu kontroliranom brzinom u krvotok. Takav način aplikacije spominje se još 1960. godine, kad su se intravaginalno umetali gestageni pomoću poliuretanih spužvica kod ovaca. 1970. godine takve se spužvice počinju koristiti i kod krava i kobilica. Problem je bio iscjedak zbog iritacije, te potrebno vrijeme zadržavanja umetka. Nakon toga, silicijska se guma koristi kao medij za otpuštanje progesterona. Takve su spirale poznate kao PRID (Progesteron Releasing Intravaginal Device). CIDR spirale počinju se razvijati 1980. godine, a u prodaju su krenule 1987.





Slika 6. Razlika PRID i CIDR spirale (Izvor: <http://www.reproduction.com>)

#### Način djelovanja CIDR-a

Progesteron vrši supresiju estrusa, što ga čini važnim za sinkronizaciju estrusa u stadima životinja. Oslobođanje progesterona je konstantno i proporcionalno. Kada se CIDR ukloni na kraju razdoblja liječenja, u životinji dolazi do brzog pada koncentracije sistemskog progesterona. Na taj način promovira sinkronizirani estrusni učinak unutar stada i omogućava umjetno osjemenjivanje stada. CIDR sadrži prethodno oblikovani žareni najlon obložen silikonskim polimerom impregniranim progesteronom. Krila CIDR umetka imaju sposobnost da se presaviju zajedno kako bi se umetnuli intravaginalno. Jednom umetnuta, krila se vraćaju na prvobitni položaj T oblika i primjenjuju pritisak na vaginalne zidove kako bi se umetak držao na mjestu. CIDR umetak uklanja se nakon perioda liječenja povlačenjem plastičnog repa koji izlazi iz vulve. Progesteron se oslobađa i uzrokuje da se koncentracija progesterona u krvi brzo povećava. Maksimalne koncentracije se postižu unutar sat vremena nakon umetanja. Progesteron djeluje prema istom mehanizmu kao tipični steroidni hormon. Difundira kroz staničnu membranu i jezgrinu membranu, vezujući se na progesteronski receptor u jezgri, uzrokujući tako promjenu stanične fiziologije.

#### Način primjene CIDR-a

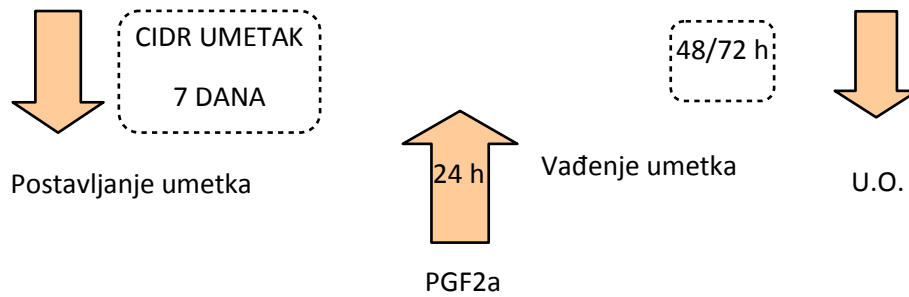
Za najbolje rezultate aplikator se opere dezinficijensom i temeljito očisti područje vulve. Stavi se tijelo umetka u aplikator, s repom u utoru. Postavi se umetak s repom na donjoj strani aplikatora i zakrene se, zatim pritisne klip i povuče lagano aplikator. Moguće je izrezati višak repa, tako da ga druge krave ne pokušaju izvaditi.

Kod ovaca i koza umetak sadrži 0,3 progesterona po umetku a kod krava 1,38 g. Nije uputno koristiti ga u goveda nedovoljne veličine ili dobi za uzgoj ili u goveda s abnormalnim, nezrelim ili zaraženim genitalnim traktima. CIDR se može primjenjivati u razdoblju od 7 do 15 dana. Kraća razdoblja umetanja postala su uobičajena upotrebom kombinacije s prostaglandinima i estradiolom. Razlog upotrebe niskih koncentracija progesterona je razvoj perzistentnih

dominantnih folikula u krava. Takvi folikuli povećanih promjera vrše supresiju razvoja ovulirajućih folikula i povećavaju učestalost oslobađanja LH valova (AKIHIRO, 2015.)

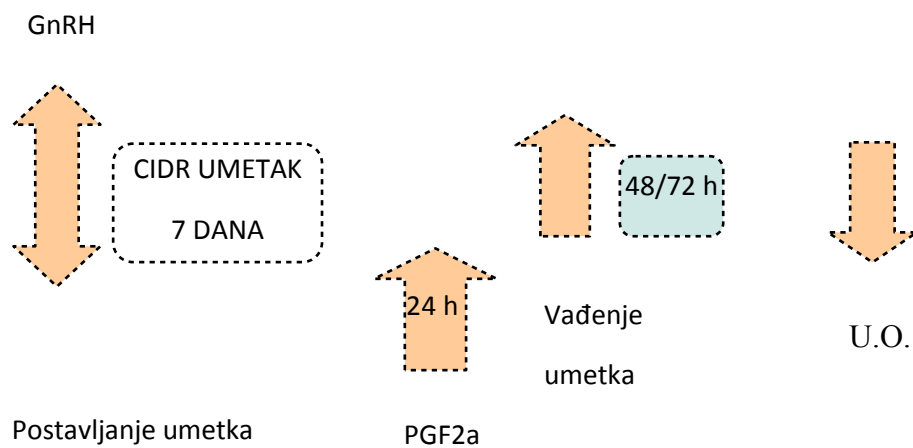
Različiti su protokoli koji uključuju CIDR:

### 1. Standardni Pfizer protokol



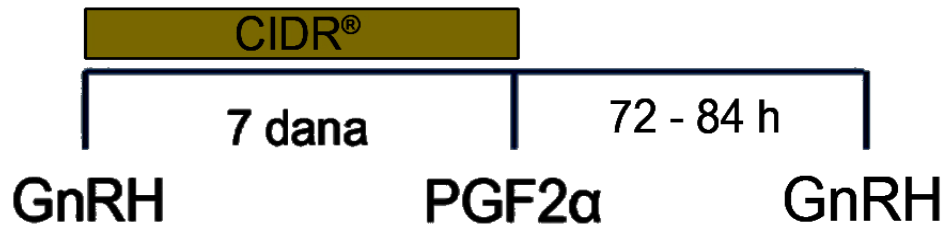
Slika 7. Standardni Pfizer protokol

### 2. Gestagen – GnRH – PGF 2 $\alpha$



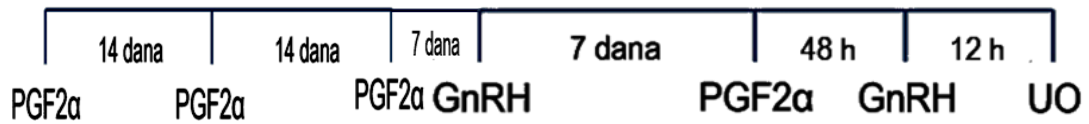
Slika 8. Gestagen – GnRH – PGF 2  $\alpha$

### 3. Select Synch i CIDR



Slika 9. Select Synch i CIDR

### 4. PGF2α + CIDR SYNCH



Slika 10. PGF<sub>2</sub>α + CIDR SYNCH

## **3. MATERIJALI I METODE**

### **3.1. Uzorak životinja**

Ukupno je prikupljeno podataka od 30 krava sa 15 različitih farmi na području djelovanja Veterinarske stanice Varaždin te Veterinarske stanice Bjelovar. Od ukupnog broja krava, 11 je bilo holstein-frizijske, a 19 simentalke pasmine goveda. Sve krave su se telile minimalno jedanput te su bile stare između 3 i 6 godina. Krave na svim farmama su držane isključivo radi proizvodnje mlijeka te u skladu sa svim pravilima o držanju i hranidbi mliječnih krava. Farme su posjedovale svoje vlastite obradive površine na kojima su uzgajali hranu za krave. Hranidba na svim farmama se sastojala od žitarica, sijena, sjenaže ili silaže te vitaminsko-mineralnih dodataka hrani, ovisno o kojoj proizvodnoj skupini životinja se radilo. Na farmama se svakodnevno radila dvokratna mužnja.

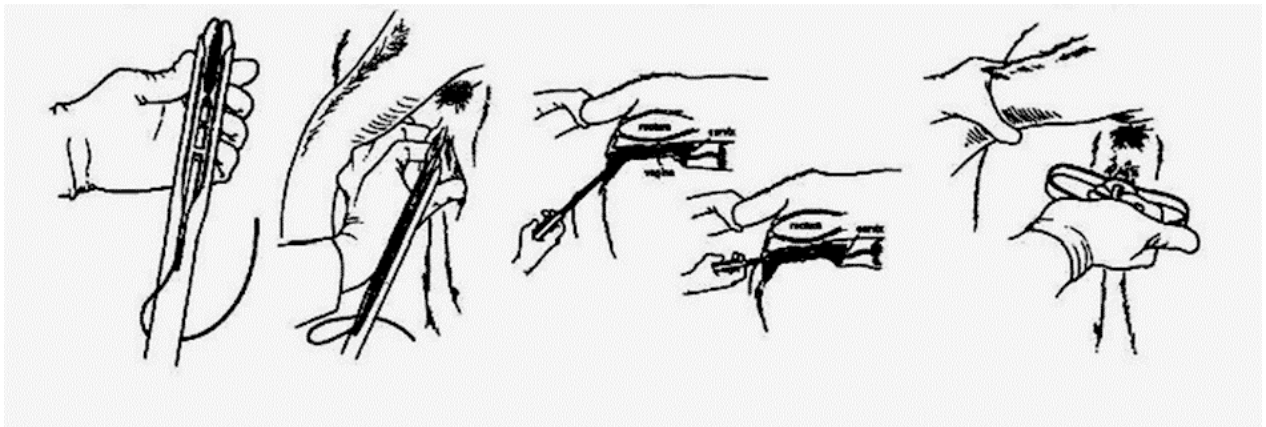
### **3.2. Podatci o životinjama**

Podatci o životinjama su prikupljeni sa reprodukcijsko-zdravstvenih kartona krava. Prepisani su sljedeći podaci: matični broj krave, pasmina, dob, datum zadnjeg poroda, datum umetanja CIDR-a, da li je prije aplikacije imala cistu na jajniku (0=nije; 1=je), da li je nakon primjene CIDR-a i umjetnog osjemenjivanja krava ostala gravidna ili nije.

### **3.3. Sinkronizacija estrusa**

Svim kravama estrus je sinkroniziran upotrebom vaginalnog umetka CIDR® 1380, Pfizer, Kanada (Controlled Internal Drug Release), proizvoda odobrenog i registriranog od Ministarstva poljoprivrede, Uprave za veterinarstvo u Hrvatskoj isključivo za upotrebu u krava i junica. Proizvod nema karence za meso i mlijeko. Jedan vaginalni umetak sadrži 1,38 g progesterona. Umetak je oblika slova „T“ (postrana krilca), a izrađen je od najlonske jezgre obavijene silikonskim elastomerom impregniranim progesteronom koji se postupno otpušta i resorbira kroz sluznicu rodnice u krvotok. Vaginalni umetak postavlja se u rodnicu krava pomoću aplikatora na sljedeći način (slika 1.): aplikator mora biti čist i uronjen u otopinu antiseptika koji ne draži rodnicu krave; prije rukovanja vaginalnim umetkom potrebno je navući

sterilne rukavice za jednokratnu upotrebu; krilca umetka potrebno je presavinuti prije umetanja u aplikator tako da neznatno vire iz kraja aplikatora, prednji kraj aplikatora potrebno je premazati manjom količinom lubrikanta; kravi se podigne rep te očisti stidnica i perineum, aplikator se pažljivo uvede u rodnicu, prvo u okomitom smjeru, a potom vodoravno dok se ne osjeti određeni otpor. Vrpca za uklanjanje vaginalnog umetka mora slobodno visiti, a ručka aplikatora se mora pritisnuti tako da se cilindar može vratiti unatrag prema ručki. Na taj se način oslobode krilca koja umetak uvrste u prednjem dijelu rodnice. Nakon postavljanja umetka izvadi se aplikator, a vrpca za vađenje se ostavi da visi iz stidnice, te se aplikator očisti i dezinficira prije ponovne primjene



Slika 11. Prikaz umetanja vaginalnog umetka u rodnicu krave pomoću aplikatora.

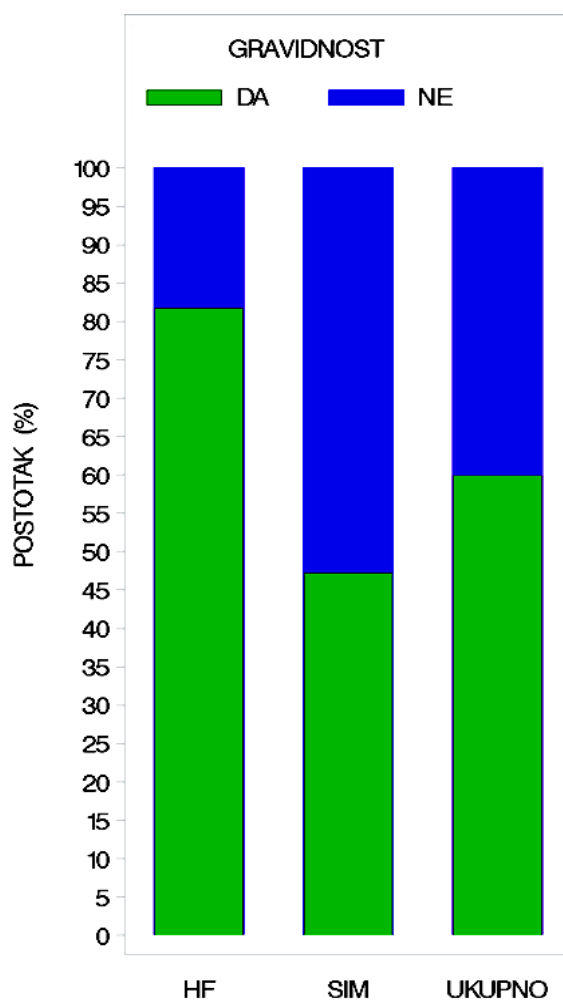
Protokol sinkronizacije estrusa u krava se sastojao od aplikacije vaginalnog umetka i ostavljanja u rodnici kroz period od 7 dana. Šestog dana od aplikacije umetka, kravama se aplicirao prostaglandin F2 $\alpha$  i.m. (Estrumate®, Schering-Plough, Friesoythe, Njemačka) u dozi od 2 mL (500  $\mu$ g kloprostenola). Sedmog dana vaginalni umetak se uklonio laganim povlačenjem za vrpca. Estrus se očekivao unutar 1-3 dana od vađenja umetka te se krava umjetno osjemenila 12 h nakon pojave znakova estrusa.

### **3.4. Statistička analiza podataka**

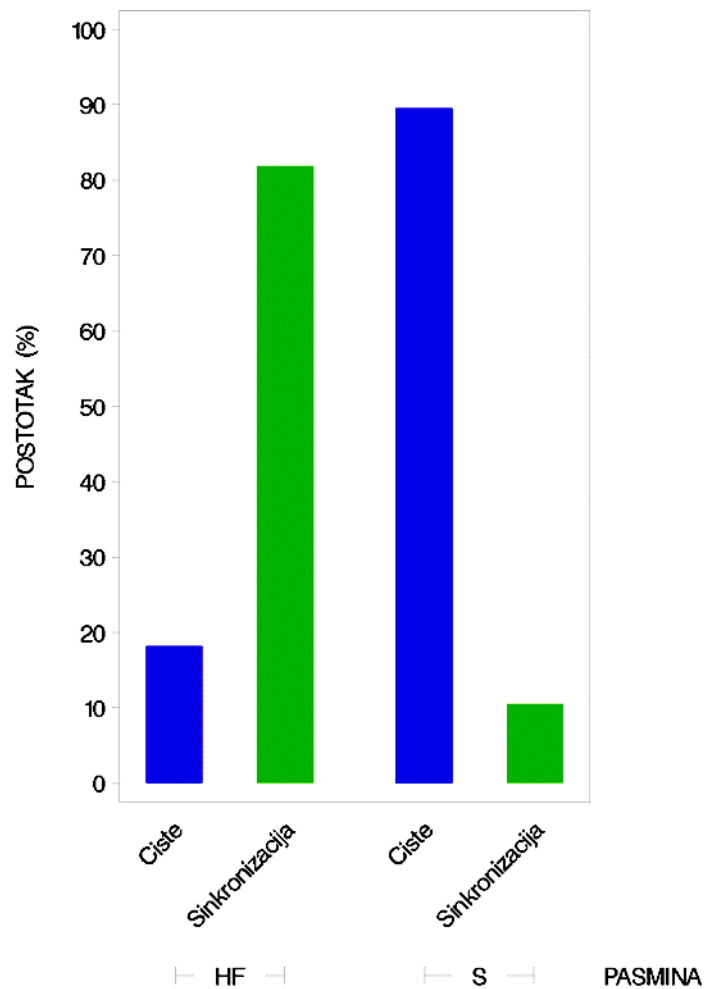
Statistička analiza podataka učinjena je pomoću programskog paketa SAS 9.4 (Statistical Analysis Software 2002-2012 by SAS Institute Inc., Cary, SAD). Deskriptivna statistika napravljena je pomoću SAS procedura PROC MEANS i PROC FREQ. Proporcije su analizirane hi-kvadrat testom koristeći FREQ proceduru. Kvantitativni podatci analizirani su GLM procedurom. Razina statističke značajnosti postavljena je na  $p < 0,05$ .

## 4. REZULTATI

Od ukupno 30 krava, gravidno je nakon aplikacije CIDR vaginalnog umetka i umjetnog osjemenjivanja ostalo 18 krava (60%) (Grafikon 1.). Veći broj gravidnosti zabilježen je u holstein-frizijske pasmine goveda (9/11) u odnosu na simentalsku pasminu goveda (9/19).



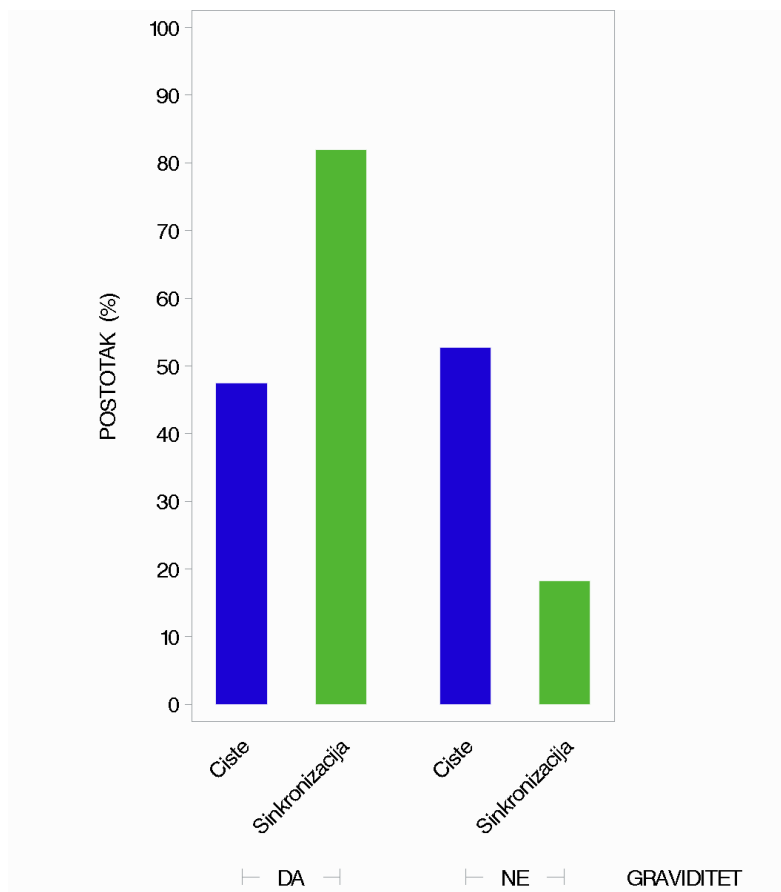
Grafikon 1. Postotak gravidnih krava nakon aplikacije CIDR vaginalnog umetka prema pasmini (HF- holstein frizijska pasmina; SIM- simentalska pasmina)



Grafikon 2. Postotak krava po pasmini (HF – holstein-frizijska pasmina; S – simentalaska pasmina) prema korištenju CIDR-a u svrhu sinkronizacije estrusa ili u svrhu liječenja cista na jajnicima.

Radi sinkronizacije estrusa CIDR je korišten u 11 krava, dok je u liječenju cista na jajniku korišten u 19 krava (Grafikon 2.). U krava holstein-frizijske pasmine CIDR se više koristio kao metoda sinkronizacije goveda (9/11) dok se u simentalске pasmine goveda više koristio kao metoda liječenja cista na jajnicima (17/19).

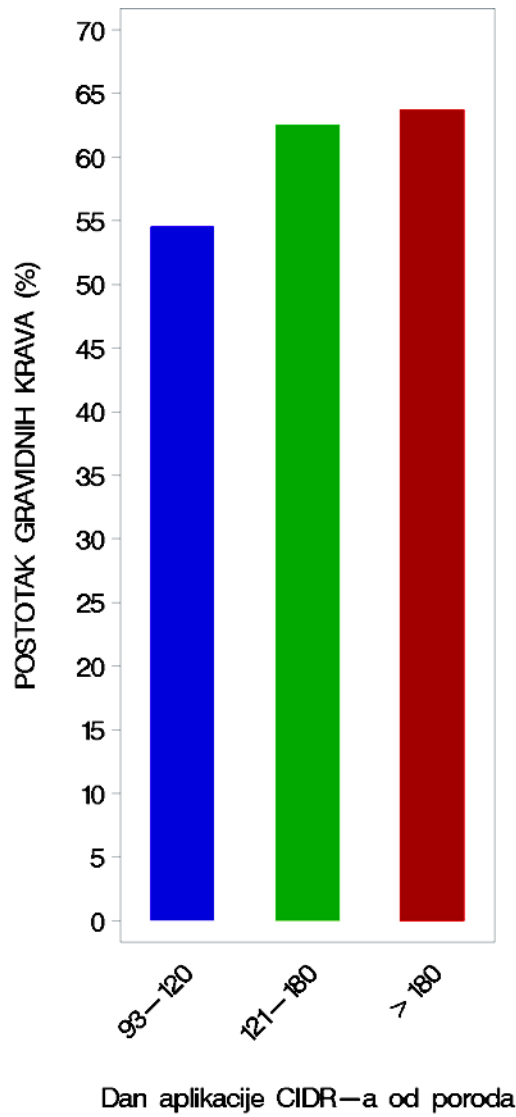




Grafikon 3. Postotak gravidnih krava ovisno o korištenju CIDR vaginalnog implantata za sinkronizaciju estrusa ili liječenju cista na jajnicima

Postotak gravidnih krava je bio veći kada je CIDR vaginalni implantat bio korišten u svrhu sinkronizacije estrusa (81.8%), dok je kod liječenja cista na jajnicima postotak gravidnih krava bio manji (47,4%) (grafikon 3.).

Medijan i standardna devijacija vremena aplikacije CIDR spirale nakon poroda iznosilo je  $155 \pm 47$  dana, odnosno  $224 \pm 54$  dana za holstein frizijsku pasminu te  $128 \pm 35$  za simentsku pasminu goveda. Kada su krave grupirane prema vremenu aplikacije CIDR vaginalnog implantata od poroda u 3 grupe (1 grupa: 93-120 dana, 2 grupa: 121-180 dana, 3 grupa: >180 dana) postotak gravidnosti u sve tri grupe se nije statistički značajno razlikovao (grafikon 4.).



Grafikon 4. Postotak gravidnih krava prema vremenu aplikacije CIDR vaginalnog implantata od poroda

## 5. RASPRAVA

CIDR spirale se ne koriste često u liječenju neplodnosti i sinkronizaciji estrusa, jer su skuplje u odnosu na druge načine liječenja i kontrole estrusa, a ekonomske mogućnosti stočara su ograničene. Međutim, vlasnici se ipak odlučuju za njih kad druge metode ne daju zadovoljavajuće rezultate ili kada se radi o vrijednim životinjama. Stočari često nisu upućeni u mogućnosti korištenja CIDR vaginalnog umetka, ali na preporuku veterinara prihvaćaju ovu metodu. U ovom istraživanju farmeri su se većinom odlučivali koristiti CIDR umetak zbog liječenja neplodnosti (ciste na jajnicima) kod simentalne pasmine vjerojatno zbog veće vrijednosti životinja, dok su se u holstein-frizijske pasmine više odlučivali za korištenje u svrhu sinkronizacije estrusa. Nakon apliciranja CIDR-a graviditet je zabilježen u 60 % krava, od čega je više bilo krava holstein-frizijske pasmine. Vjerojatno je to zato što se kod njih CIDR koristio kao metoda sinkronizacije estrusa, dok kod krava simentalne pasmine u svrhu liječenja cisti na jajnicima. Vrijeme proteklo od posljednjeg telenja nije značajno utjecalo na rezultate koncepcije krava nakon umjetnog osjemenjivanja.

Ciljevi istraživanja autora PULLEY i STEVENSON (2015.) bili su odrediti učinak dodatka progesterona putem CIDR umetka na ishod graviditeta u prisutnosti ili odsutnosti povišenog progesterona, tj. prisutnosti ili odsutnosti žutog tijela, u krava u kojima je ovulacija sinkronizirana primjenom 5-dnevnog Ovsynch program. Zaključeno je da učinkovitost CIDR umetka ovisi o progesteronu kod krava koje započinju tretman (STEVENSON i sur., 2006.). Kod krava s visokim koncentracijama progesterona smanjena je koncepcija kada se tretiraju s progesteronskim umetkom, dok krave s niskim progesteronom ili one bez funkcionalnog žutog tijela mogu poboljšati koncepciju zbog dopunskog progesterona u 5-dnevnom programu. Presinkronizacija estrusa u kravama s PG i GnRH nije poboljšala postotak koncepcije. Ovaj nedostatak presinkronizacijskog učinka može biti posljedica primjene 5-dnevnog, a ne 7-dnevnog programa, nakon presinkronizacije s prostaglandinom i GnRH (RIBEIRO i sur., 2012.). U ovom istraživanju postotak koncepcije u krava kod kojih je CIDR korišten u svrhu sinkronizacije estrusa je bio iznad prosjeka što može značiti da te krave nisu imale visoku koncentraciju progesterona prilikom umetanja spirale (CHEBEL i sur., 2010; LARSON i sur., 2007.). Dokazana je učinkovitost CIDR spirale kod prethodno osjemenjivanih krava u resinkronizaciji estrusa i smanjenju embrionalne smrtnosti (ALNIMER i LUBBADEH, 2008.).

Usklađivanje estrusa ovisi u velikoj mjeri ovisi o folikularnoj dinamici među skupinom krava koje su podvrgnute sinkronizaciji estrusa (MORAES i sur., 2016.). THOMAS i sur., (2017.)

uspoređivali su 14-dnevni i 9-dnevni CIDR protokol, pri čemu je udio junica kod kojih je nastupio estrus nakon uklanjanja CIDR bio veći ( $P = 0,01$ ) kod junica podvrgnutih 14-d CIDR-PG tretmanu (88%) u usporedbi s 9-d CIDR-PG tretmanom (83%). Istraživanje THOMAS i sur., (2017.) dokazuje da se primjenom PGF $2\alpha$  kod umetanja CIDR-a može skratiti ukupna duljina protokola CIDR-PG za 5 dana. Kraći 9-d CIDR-PG protokol rezultirao je sličnom folikularnom dinamikom i poboljšao sinkronizaciju estrusa i stopu graviditeta u usporedbi s duljim 14-D CIDR-PG protokolom.

## 6.ZAKLJUČCI

1. Od ukupno 30 krava, gravidno je nakon aplikacije CIDR vaginalnog umetka i umjetnog osjemenjivanja ostalo 18 krava (60%) . U holstein-frizijske pasmine goveda spirala se više koristila u svrhu sinkronizacije estrusa, a kod simentalke pasmine goveda u svrhu liječenja neplodnosti (ciste na jajnicima).
2. Postotak gravidnih krava je bio veći kada je CIDR vaginalni implantat bio korišten u svrhu sinkronizacije estrusa (81.8%), dok je kod liječenja cista na jajnicima postotak gravidnih krava bio manji (47,4%).
3. Medijan i standardna devijacija vremena aplikacije CIDR spirale nakon poroda iznosilo je  $155\pm 47$  dana, odnosno  $224\pm 54$  dana za holstein frizijsku pasminu te  $128\pm 35$  za simentalSKU pasminu goveda. Kada su krave grupirane prema vremenu aplikacije CIDR vaginalnog implantata od poroda u 3 grupe (1 grupa: 93-120 dana, 2 grupa: 121-180 dana, 3 grupa: >180 dana) postotak gravidnosti u sve tri grupe se nije statistički značajno razlikovao.

## 7. LITERATURA

1. AKIHIRO, I. (2015): Studies on Intravaginal Progesterone Administration for Reproductive Improvement in Cattle General introduction 1-18, Usage of Cidr for timed AI protocols in heifers. Pp. 19-39. (<http://www.lib.yamaguchi-u.ac.jp/yunoca/handle/DT0810225>. 30. Svinja 2015).
2. ALNIMER M. A., W. F. LUBBADEH (2008): Effect of progesterone (P4) intravaginal device (CIDR) to reduce embryonic loss and to synchronize return to oestrus of previously timed inseminated lactating dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 107, 36-47.
3. CHEBEL, R. C., M. J. AL-HASSAN, P. FRICKE, J. SANTOS, J. LIMA, J. STEVENSON, R. GARCIA (2010): Supplementation of progesterone via controlled internal drug release inserts during ovulation synchronization protocols in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 93, 922-931.
4. DELAK, M. (1985): Veterinarska farmakologija. Stvarnost Zagreb. Pp. 320-323.
5. GALLAGHER, G., P. SENGER (1989): Concentrations of spermatozoa in the vagina of heifers after deposition of semen in the uterine horns, uterine body, or cervix. *J. Reprod. Fertil.* 86, 19-25.
6. HERAK- PERKOVIĆ, V., Ž. GRABAREVIĆ, J. KOS (2012): Veterinarski priručnik. Rasplod krava. Pp. 1773-1775.
7. IRELAND, J. J., J. F. ROCHE (1987): Hypotheses regarding development of dominant follicles during a bovine oestrous cycle. U: Follicular growth and ovulation rate in farm animals (J. F. Roche, D. O'Callaghan, Eds). Martinus Nijhoff Dordrecht, pp. 1-18.
8. LARSON, S., W. BUTLER, W. CURRIE (2007): Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 102, 172-179.
9. MORAES, J. G. N., P. R. B. SILVA, N. BORTOLETTO, A. L. A. SCANAVEZ, R. C. CHEBEL (2016): Plasma progesterone concentration and ovarian dynamics of lactating Jersey cows treated with 1 or 2 intravaginal progesterone inserts. *J. Dairy Sci.* 99, 2353- 2357.
10. Pfizer Animal Health. Pfizer, Inc., 2008. Web. [www.cidr.com](http://www.cidr.com) [25. Svibnja 2017.]

11. PTASZYNSKA, M. (2003): Compendium of animal reproduction. 8th ed., Intervet Scheringplough Animal Health, pp. 1-22.
12. PULLEY, S., J. STEVENSON (2015): Five-day resynchronization programs in dairy cows including presynchronization and progesterone at two stages following artificial insemination. *J. dairy Sci.* 98, 1-13.
13. RIBEIRO, E., M. FAVORETO, L. GRECO, R. BISINOTTO (2012): Fertility in dairy cows following presynchronization and administering twice the luteolytic dose of prostaglandin as one or two injection in the 5-day timed artificial insemination protocol. *Theriogenology* 78, 273-284.
14. STEVENSON, J., J. PURSLEY, H. GARVERICK, P. FRICKE, D. KESLER, M. WILTBANK (2006): Treatment of Cycling and Noncycling Lactating Dairy Cows with Progesterone During Ovsynch. *J. Dairy Sci.* 89, 2567- 2578.
15. THOMAS, J. M., J. LOCKE, B. BISHOP, J. ABEL, M. SMITH, D. PATTERSON (2017): Evaluation of the 14-d CIDR-PG and 9-d CIDR-PG protocols for synchronization of estrus in *Bos indicus*-influenced and *Bos taurus* beef heifers. *Theriogenology* 92, 190-196.
16. TOMAŠKOVIĆ, A., Z. MAKEK, T. DOBRANIĆ, M. SAMARDŽIJA (2007): Rasplodivanje krava i junica. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Pp. 31-159.

## **8. SAŽETAK**

### **Učinkovitost CIDR-spirala u liječenju neplodnosti i sinkronizaciji estrusa mliječnih krava**

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi učinkovitost CIDR-spirala u sinkronizaciji estrusa i liječenju neplodnosti kod krava. U tu svrhu slučajnim odabirom uzeti su podaci od 30-krava s 15 različitih farmi Varaždinske i Bjelovarsko-bilogorske županije. Podatci koji su prepisani s kartona su matični broj krave, pasmina, starost životinje, datum zadnjeg poroda, datum umetanja CIDR-a, da li je prije aplikacije imala cistu na jajniku te dali je nakon primjene CIDR-a i umjetnog osjemenjivanja krava ostala gravidna ili ne.

Gravidno je nakon aplikacije CIDR-a i umjetnog osjemenjivanja ostalo 60 % krava, što je zadovoljavajući rezultat. Veći uspjeh koncepcije zabilježen je kod krava holstein-frizijske pasmine, jer se kod njih CIDR umetak više koristio kao metoda sinkronizacije estrusa.

Postotak gravidnih krava je bio veći kada je CIDR vaginalni implantat bio korišten u svrhu sinkronizacije estrusa, dok je kod liječenja cista na jajnicima postotak gravidnih krava bio manji.

Kada su krave grupirane prema vremenu aplikacije CIDR vaginalnog implantata od poroda u 3 grupe, postotak gravidnosti u sve tri grupe se nije statistički značajno razlikovao .

Ključne riječi: krava, koncepcija, progesteron, CIDR umetak



## **9. SUMMARY**

### **Efficacy of CIDR Spirals in the Treatment of Infertility and Synchronization of Dairy Extrusion Cows**

The aim of this study was to determine the effectiveness of the CIDR device for the purpose of estrous synchronization and treatment of infertility in cows. For this purpose, randomized selection of 30 cows from fifteen farms in Varaždin and Bjelovar-Bilogora county was taken. The data recorded on the carton were: the cattle breed, age of the animal, the date of the last parturition, the insertion date of the CIDR, whether it had cyst on the ovary before the application of CIDR and pregnancy status after CIDR treatment and artificial insemination.

After CIDR application and artificial insemination, 60% of cows remained pregnant, which is a satisfactory result. A greater success of the conception was observed in cows of Holstein-Friesian breeds, because for that breed CIDR was used mainly for the purpose of estrous synchronization.

The percentage of pregnant cows was higher when the CIDR vaginal implant was used for the estrous synchronization, while in the treatment of ovary cysts the percentage of pregnant cows was lower.

When cows were grouped in 3 groups according to the time of application of CIDR vaginal implant after parturition, the percentage of pregnancy in all three groups did not differ statistically.

Key words: cow, conception, progesterone, CIDR device

## 10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 28. ožujka 1990. godine u Varaždinu. Pohađala sam Osnovnu školu Kneginec Gornji i Glazbenu školu u Varaždinu. 2008. godine završila sam Prvu Gimnaziju Varaždin, te sam iste godine upisala Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zbog rođenja svojih dviju kćeri, dvije sam godine mirovala sa studijem. Upoznata s mnogim područjima veterinarske medicine najviše me zainteresiralo područje reprodukcije, te sam iz tog razloga odlučila izraditi ovaj diplomski rad na Klinici za porodništvo i reprodukciju pod stručnim vodstvom mentora doc. dr. sc. Silvija Vince i komentorice dr. sc. Branimire Špoljarić.