

KONCENTRACIJA FUNKCIONALNIH BIOMARKERA KOBALAMINA I FOLNE KISELINE U SERUMU KOD PASA S KRONIČNIM GASTROINTESTINALNIM POREMEĆAJIMA: RETROSPEKTIVNA STUDIJA

Pongrac, Elizabeta

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:575554>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-06**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET

Elizabeta Pongrac

**KONCENTRACIJA FUNKCIONALNIH BIOMARKERA
KOBALAMINA I FOLNE KISELINE U SERUMU KOD PASA S
KRONIČNIM GASTROINTESTINALNIM POREMEĆAJIMA:
RETROSPEKTIVNA STUDIJA**

Zagreb, 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

KLINIKA ZA UNUTARNJE BOLESTI

Ovaj diplomski rad je izrađen na Klinici za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod stručnim vodstvom:

MENTORICA izv. prof. dr. sc. Martine Crnogaj i

MENTOR doc. dr. sc. Darka Grdena

Predstojnica klinike za unutarnje bolesti: doc.dr.sc. Iva Šmit

ČLANOVI POVJERENSTVA ZA OBRANU DIPLOMSKOG RADA:

1. prof. dr. sc. Damjan Gračner
2. izv.prof. dr.sc. Mirna Brkljačić
3. izv. prof. dr. sc. Martina Crnogaj
4. dr.sc. Blanka Beer Ljubić (zamjena)

Zahvala

Tijekom pisanja ovog diplomskog rada i tijekom mog studiranja mnogi su mi pomogli.

Zahvaljujem se doktorici Efendić na brojnim savjetima i na nesebičnoj podršci koju je uvijek pružala.

Zahvaljujem se docentu Grdenu i profesoru Gračneru koji su bili izvrsni voditelji volontera i uvijek težili tome da budem što bolja.

Zahvaljujem se svim profesorima, docentima i doktorima na Klinici za unutarnje bolesti koji su me svakodnevno učili, bodrili, gurali dalje. Hvala im na svemu što su me naučili i na svim prilikama koje su mi pružili.

Najviše od svega zahvaljujem se svojoj mentorici profesoricu Martini Crnogaj koja je svojom stručnošću, strpljenjem te uloženi radom uvelike pomogla u realizaciju ovog diplomskog rada. Hvala Vam na svojoj podršci koju ste mi pružili tijekom pisanja ovog diplomskog rada, ali i svakodnevno od početka volontiranja. Uvijek ste mi bili podrška i nesebično ste pomagali oko svakog problema.

Zahvaljujem se svojim kolegama i prijateljima koji su proživljavali svaki trenutak ovog studiranja sa mnom. Hvala vam za najljepše dane u životu i hvala što ste uvijek bili tu za mene. Zaista ste prijatelji koje bi svatko poželio.

Posebna zahvala ide mojoj obitelji i Ivanu. Hvala Vam što ste vjerovali u mene od samog početka, hvala vam na svojoj podršci i ljubavi koju ste mi pružali. Bez vas ovo sve ne bi bilo moguće.

Popis korištenih kratica:

IF - intrinzični faktor

CE - chronic enteropathies (kronične enteropatije)

ARE - antibiotic- responsive enteropathy (enteropatija koja reagira na liječenje primjenom antibiotika)

FRE - food-responsive enteropathy (enteropatija koja reagira na liječenje koje se bazira na promjeni hrane)

IRE - immunosuppressant-responsive enteropathy (enteropatija koja reagira na liječenje primjenom imunosupresivnih lijekova)

SIBO - small intestinal bacterial overgrowth (bakterijsko preraštanje tankog crijeva)

EPI - exocrine pancreatic insufficiency (egzokrina insuficijencija gušterače)

TLI- trypsin-like immunoreactivity (dodati hrvatski)

IBD- inflammatory bowel disease (upalna bolest crijeva- UBC)

MMA - methylmalonic acid (metilmalonična kiselina)

PLE - protein losing enteropathy (enteropatija s gubitkom proteina)

RTG pretraga- rendgenološka pretraga

CoA - koenzim A

Popis priloga:

Tablica 1. Klinička diferencijacija između proljeva iz tankog i debelog crijeva

Tablica 2. Interpretacija koncentracije kobalamina i folne kiseline u serumu kod pasa

Tablica 3. Supkutana suplementacija kobalamina

Tablica 4. Oralna suplementacija kobalamina

Tablica 5. Pasminska struktura u istraživanoj skupini

Tablica 6. Najčešće dijagnoze i njihova povezanost s koncentracijom albumina u istraživanoj skupini

Tablica 7. Najčešće dijagnoze i njihova povezanost s koncentracijom kobalamina i folne kiseline u istraživanoj skupini

Tablica 8. Povezanost interpretacije biomarkera kobalamina i folne kiseline i najučestalijih dijagnoza u istraživanoj skupini pasa

Slika 1. Apsorpcija kobalamina u probavnom sustavu

Slika 2. Apsorpcija folne kiseline u probavnom sustavu

Slika 3. Najčešći gastrointestinalni poremećaji koji uzrokuju promjenu u koncentraciji kobalamina i folne kiseline

Slika 4. Prikaz zastupljenosti spolova u istraživanoj skupini

Slika 5. Prikaz zastupljenosti dobi u istraživanoj skupini

Slika 6. Trajanje kroničnih gastrointestinalnih simptoma u istraživanoj skupini

Slika 7. Zastupljenost najčešćih kroničnih gastrointestinalnih simptoma u istraživanoj skupini

Slika 8. Zastupljenost proljeva i povraćanja u istraživanoj skupini

Slika 9. Najčešće dijagnoze i njihova zastupljenost u istraživanoj skupini

Slika 10. Prikaz koncentracija albumina u serumu u istraživanoj skupini

Slika 11. Koncentracija kobalamina u serumu u istraživanoj skupini

Slika 12. Koncentracija folne kiseline u serumu u istraživanoj skupini

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA	3
2.1. METABOLIZAM KOBALAMINA KOD PASA	3
2.2. METABOLIZAM FOLNE KISELINE KOD PASA	4
2.3. NAJČEŠĆI GASTROINTESTINALNI POREMEĆAJI KOJE PRATI POREMEĆENI METABOLIZAM KOBALAMINA I FOLNE KISELINE KOD PASA.....	5
2.3.1. KRONIČNE ENTEROPATIJE	6
2.3.2. EGZOKRINA INSUFICIJENCIJA GUŠTERAČE (EPI)	8
2.3.3. LIMFOM	9
2.3.4. ENTEROPATIJA S GUBITKOM PROTEINA	9
2.4. KONCENTRACIJA KOBALAMINA I FOLNE KISELINE U SERUMU KOD PASA.....	10
2.4.1. FIZIOLOŠKA KONCENTRACIJA KOBALAMINA U SERUMU	10
2.4.2. SNIŽENA KONCENTRACIJA KOBALAMINA.....	13
2.4.3. POVIŠENA KONCENTRACIJA KOBALAMINA U SERUMU	14
2.4.4. FIZIOLOŠKA KONCENTRACIJA FOLNE KISELINE U SERUMU	15
2.4.5. SNIŽENA KONCENTRACIJA FOLNE KISELINE U SERUMU.....	15
2.4.6. POVIŠENA KONCENTRACIJA FOLNE KISELINE U SERUMU	16
2.4.7. SUPLEMENTACIJA KOBALAMINA I FOLNE KISELINE	16
3. MATERIJALI I METODE.....	19
4. REZULTATI.....	21
4.1. PRIKAZ OSNOVNIH PODATAKA SKUPINE ISTRAŽIVANIH PASA.....	21
4.2. NAJČEŠĆE DIJAGNOZE I NJIHOVA ZASTUPLJENOST KOD ISTRAŽIVANE SKUPINE	25
4.3. SLIKOVNA DIJAGNOSTIKA.....	27
4.4. KONCENTRACIJA KOBALAMINA I FOLNE KISELINE U SERUMU	28
4.4.1. POVEZANOST KONCENTRACIJE KOBALAMINA I FOLNE KISELINE SA DIJAGNOZAMA	29
5. RASPRAVA.....	33
6. ZAKLJUČCI	38
7. POPIS LITERATURE	39
8. SAŽETAK.....	45
9. SUMMARY	47
10. ŽIVOTOPIS.....	48

1. UVOD

Simtomi poremećaja gastrointestinalnog sustava jedni su od glavnih problema zbog kojih vlasnik dovede svog psa na pregled kod veterinara. Akutni problemi često prođu samo uz manju ili nikakvu intervenciju veterinara dok kronični gastrointestinalni problemi zahtjevaju opsežnu dijagnostiku te potom ciljano liječenje.

Uz standardne dijagnostičke postupke (klinički pregled, slikovna dijagnostika, laboratorijska dijagnostika, parazitološke pretrage, endoskopija/ dijagnostička laparotomija s biopsijama) posljednjeg desetljeća razvijaju se i druge pretrage poput biomarkera koji bi mogli pomoći u dijagnostičkoj procjeni ili praćenju pacijenata ili koji mogu procijeniti odgovor na različite oblike liječenja. Postoji puno skupina biomarkera poput funkcionalnih, biokemijskih, mikrobiomskih, meta-biomskih, proteomskih, genetskih, staničnih i sl. (HEILMANN i STEINER, 2018.). U ovom diplomskom radu obradit će se dva funkcionalna biomarkera: kobalamin (vitamin B12) i folna kiselina (vitamin B9). Kod pasa kobalamin i folna kiselina najznačajniji su kao biomarkeri koji su indikatori gastrointestinalnih poremećaja (HANISCH i sur., 2018.). Određivanje koncentracije kobalamina i folne kiseline u serumu može nas usmjeriti prema sastavljanju liste diferencijalnih dijagnoza kod pacijenata s kroničnim proljevom, povraćanjem ili kroničnim gubitkom težine (NELSON i COUTO, 2020.).

Ovaj rad je retrospektivno istraživanje u kojem će se obraditi podaci pasa s kroničnim gastrointestinalnim problemima zaprimljenih na Klinici za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u periodu od 1.siječnja 2017. do 1. rujna 2021. godine.

Ciljevi istraživanja:

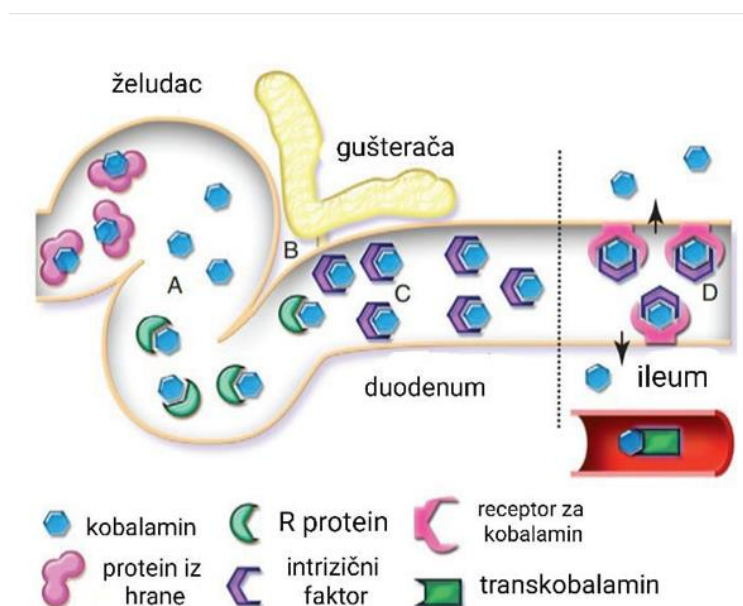
- utvrditi zastupljenost pasmina, dobnu i spolnu predispoziciju u istraživanoj skupini pasa s kroničnim gastrointestinalnim problemima
- utvrditi zastupljenost najčešćih simptoma u istraživanoj skupini pasa s kroničnim gastrointestinalnim problemima
- utvrditi najčešće dijagnoze koje su uzrokovale kronične gastrointestinalne probleme u istraživanoj skupini pasa
- odrediti koncentraciju biomarkera kobalamina i folne kiseline u istraživanoj skupini pasa s kroničnim gastrointestinalnim problemima

- utvrditi da li postoji povezanost najčešćih dijagnoza u istraživanoj skupini s koncentracijom kobalamina i folne kiseline te njihov utjecaj na daljnju dijagnostiku i prognozu.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

2.1. METABOLIZAM KOBALAMINA KOD PASA

Kobalamin (vitamin B12) vitamin je topiv u vodi, a njegov glavni izvor je hrana životinjskog podrijetla. Ipak, malu količinu kobalamina može proizvesti mikrobiom probavnog trakta. Preživači i drugi biljojedi imaju sposobnost proizvodnje kobalamina u svom gastrointestinalnom sustavu dok svejedi i mesojedi nemaju tu mogućnost. Mikrobiom kod pasa može proizvesti kobalamin iz kobalta, ali s obzirom da je mjesto proizvodnje kobalamina tada distalnije od mjesta njegove apsorpcije, tako proizveden kobalamin nije od prevelikog značaja za životinju (ETTINGER i sur., 2017.), (KATHER, 2019.). Kobalamin iz hrane vezan je za protein iz hrane i tek u želucu biva oslobođen pod djelovanjem pepsinogena i želučane kiseline (HALL i sur., 2005.). Kobalamin se nakon toga veže za glikoprotein R-protein (haptokorin, transkobalamin I) koji je prisutan u želučanom soku i slini i štiti kobalamin od bakterijskog iskorištavanja u proksimalnim dijelovima probavnog trakta (WASHABAU i DAY, 2013.).

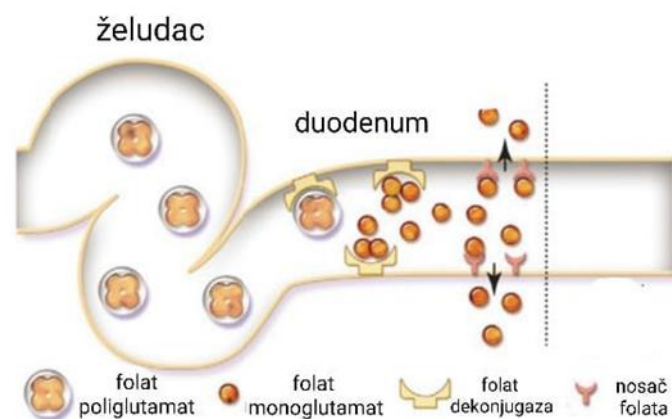


Slika 1. Apsorpcija kobalamina u probavnom sustavu (Modificirano iz: Canine and feline gastroenterology, R.J. Washabau, M.J. Day, 2013.)

U duodenumu kompleks R-protein-kobalamin biva dekonjugiran pomoću pankreasne proteaze, a kobalamin se dalje veže za intrinzični faktor (IF) koji ima jednu od glavnih uloga u apsorpciji kobalamina. On se kod pasa primarno sintetizira u gušterači, ali u manjem obimu može i u želucu (WASHABAU i DAY, 2013.). Konačno mjesto apsorpcije kobalamina je u ileumu gdje se nalaze receptori visoko specifični za kompleks kobalamin-IF (HALL i sur., 2005.). Kobalamin se u ileumu odvaja od IF pomoću lizosoma u enterocitima te se veže na novi transportni protein, transkobalamin II, nakon čega bude transportiran kroz krvotok do ciljnih tkiva (KATHER i sur., 2019.). Shematski prikaz apsorpcije kobalamina u probavnom sustavu prikazan je na slici 1.

2.2. METABOLIZAM FOLNE KISELINE KOD PASA

Folna kiselina ili folat (vitamin B9) vitamin je topiv u vodi. U hrani je prisutan kao folat glutamat te se u tom obliku ne može apsorbirati (HALL i sur., 2005.). U duodenumu dolazi do dekonjugacije folat poliglutamata u folat monoglutamat pomoću enzima sluznice tankog crijeva. Nadalje, folat monoglutamat biva apsorbiran putem specifičnih nosača za folnu kiselinu koji su smješteni u duodenumu (STEINER, 2008.). Shematski prikaz apsorpcije folne kiseline u probavnom sustavu prikazan je na slici 2.

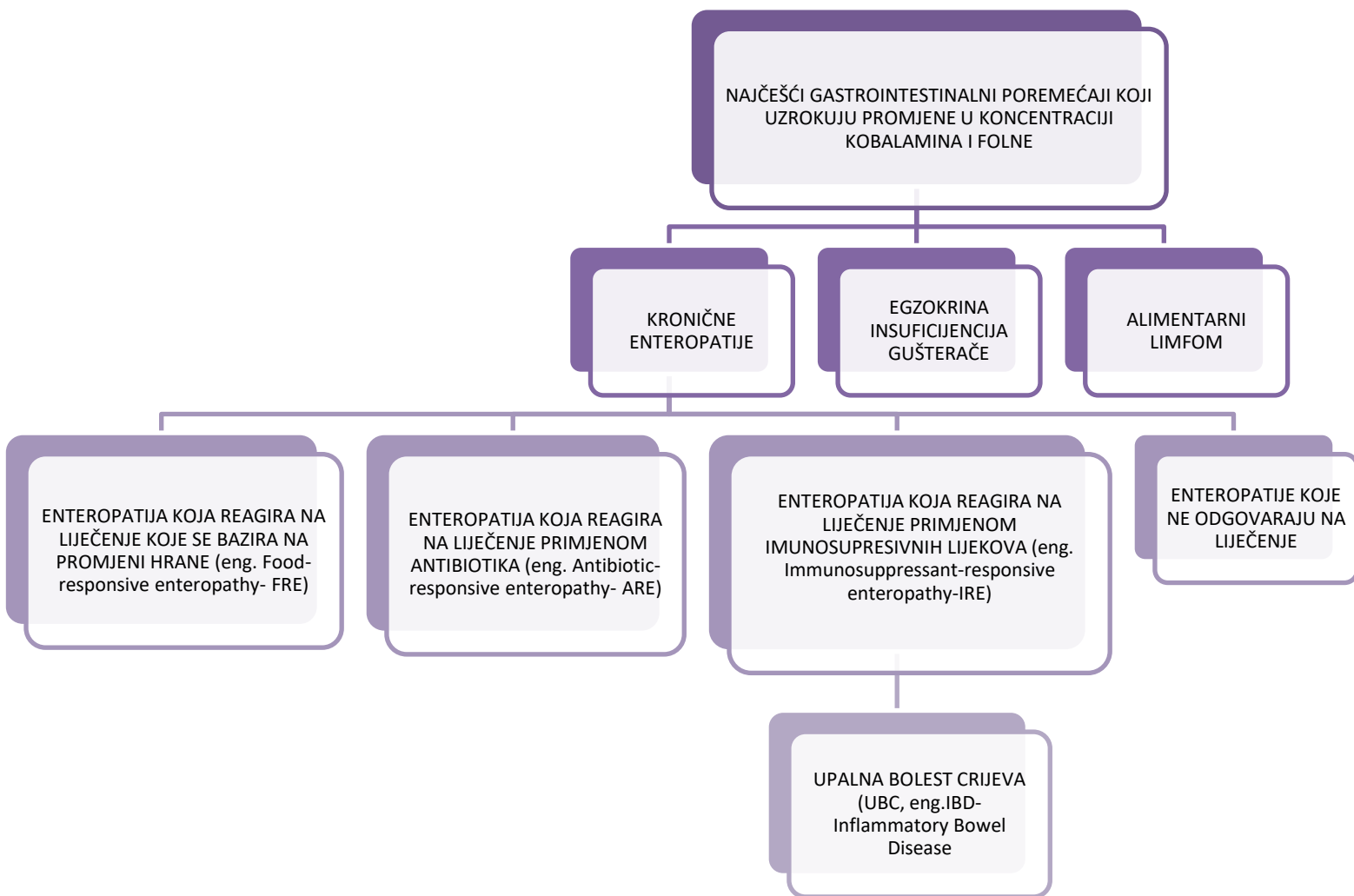


Slika 2. Apsorpcija folne kiseline u probavnom sustavu (Modificirano iz Canine and feline gastroenterology, R.J. Washabau, M.J. Day, 2013.)

2.3. NAJČEŠĆI GASTROINTESTINALNI POREMEĆAJI KOJE PRATI POREMEĆENI METABOLIZAM KOBALAMINA I FOLNE KISELINE KOD PASA

Apsorpcija kobalamina i folne kiseline u tankom crijevu ovisi o puno faktora te se može koristiti kao procjena za gastrointestinalne bolesti. S obzirom na različita mjesta apsorpcije kobalamina i folne kiseline u tankom crijevu, njihova koncentracija u serumu može pomoći u lokalizaciji procesa u crijevima (STEINER, 2008.).

Najčešći gastrointestinalni poremećaji koje prati poremećeni metabolizam kobalamina i folne kiseline su kronične enteropatije, egzokrina insuficijencija gušterače i alimentarni limfom (Slika 3.). Svima su im zajednički simptomi kao što su povraćanje, proljev, anoreksija, letargija i sl. (KATHER, 2019.).



Slika 3. Najčešći gastrointestinalni poremećaji koji uzrokuju promjenu u koncentraciji kobalamina i folne kiseline

2.3.1. KRONIČNE ENTEROPATIJE

Kronične enteropatije (eng. Chronic Enteropathies- CE) skupina su gastrointestinalnih poremećaja koje prate kronični i rekurentni simptomi bolesti gastrointestinalnog sustava te histopatološki upala sluznice (HEILMANN i STEINER, 2018.). Klasificiraju se prema odgovoru na liječenje na: enteropatiju koja reagira na liječenje koje se bazira na promjeni hrane (eng. Food-responsive enteropathy - FRE), enteropatiju koja reagira na liječenje primjenom antibiotika (eng. Antibiotic-responsive enteropathy - ARE), enteropatiju koja reagira na liječenje primjenom imunosupresivnih lijekova (eng. Immunosuppressant-responsive enteropathy - IRE) i enteropatiju koja ne reagira na liječenje. Kao sinonim za enteropatiju koja reagira na liječenje primjenom imunosupresivnih lijekova koristi se i idiopatska upalna bolest crijeva (UBC, eng. IBD- Inflammatory Bowel Disease) (DANDRIEUX i MANSFIELD, 2019.).

Kronične enteropatije obilježavaju kronični perzistentni ili rekurentni klinički probavni simptomi, povraćanje, proljev, gubitak na težini i slično, a dijagnosticiraju se na temelju odgovora na terapiju (KATHER i sur., 2019.) izuzev IBD-a koji se dijagnosticira histopatološkom pretragom nakon biopsije probavnog trakta.

Čak 50% pasa koji imaju kroničnu inflamatornu enteropatiju reagira na promjenu hrane, a češća pojavnost FRE zabilježena je kod pasa mlađih dobnih skupina s blažom kliničkom slikom (DANDRIEUX, 2016.). Klinička dijagnoza FRE bazira se na provođenju eliminacijske dijeta koja bi se trebala sastojati od čistoga izvora proteina s kojim se životinja do tada nije susretala ili hidroliziranih proteina. Kod FRE pacijenata eliminacijska dijeta dovest će do nestanka probavnih simptoma, dok će ponovno uvođenje starih namirnica dovesti do povratka probavnih simptoma (WASHABAU i DAY, 2013.). Eliminacijska dijeta trebala bi se provoditi barem 12 tjedana iako će većina pasa već nakon 14 dana reagirati na promjenu hrane (DANDRIEUX, 2016.).

Enteropatija koja reagira na liječenje primjenom antibiotika (eng. Antibiotic-responsive enteropathy – ARE; sinonimi eng. Small Intestine Bacterial Overgrowth – SIBO, disbioza crijeva) definira se kao apsolutni porast broja bakterija u proksimalnim dijelovima tankih crijeva. Broj bakterija u tankom crijevu pod kontrolom je brojnih mehanizama, a kada isti zakažu dolazi do preraštanja bakterija kao posljedica nekontrolirane proliferacije bakterija (ETTINGER i sur., 2017.). Kod ljudi se ARE javlja sekundarno na primarni poremećaj kao posljedica posredovanja primarnog poremećaja u kontroli mehanizama u broju bakterija u

tankim crijevima. Kod pasa ARE može nastati idiopatski ili sekundarno kao posljedica neke gastrointestinalne bolesti (STEINER, 2008.). Posljedično ARE dolazi do poremećaja u apsorpciji hranjivih tvari i tekućine zbog disfunkcije enzima iz mikrovila, kao i zbog promjenjene permeabilnosti sluznica, dekonjugacije žučnih kiselina i stimulacije sekrecije kolonocita (WASHABAU i DAY, 2013.). Prilikom dijagnostike jako je važno razlučiti ARE od potencijalno patogenih bakterija kao što su *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, i enterotoksigenih *Clostridium perfringens* i *Clostridium difficile* (STEINER, 2008.).

Enteropatijama koje reagiraju na liječenje primjenom imunosupresivnih lijekova smatraju se one koje reagiraju na kortikosteroide. Pojam idiopatski IBD koristi se naizmjenično s pojmom IRE kod pasa koji nisu reagirali na promjenu hrane ili na liječenje s antibioticima, a kod kojih postoji histopatološki dokazana upala u probavnom sustavu (DANDRIEUX, 2016.).

Upalna bolest crijeva zajednički je naziv koji se koristi u gastroenterologiji za opis pacijenata s kroničnim simptomima gastrointestinalnog sustava kod kojih su histopatološki potvrđene upalne infiltrativne promjene u sluznici želuca ili crijeva (HALL i GERMAN, 2011.).

Prema histopatološkom nalazu IBD se dijeli na:

- limfocitno-plazmocitni enteritis
- eozinofilni enterokolitis
- granulomatozni enteritis
- neutrofilni enteritis (ETTINGER i sur., 2017.).

S obzirom da IBD može zahvatiti i tanko i debelo crijevo, simptomi su različiti. Promjena volumena stolice, mekane stolice, gubitak težine i melena najčešće su simptomi upale u tankim crijevima dok se hematokezija (pojava krvave stolice većinom iz donjeg gastrointestinalnog trakta), sluz u stolici, diskezija (poteškoća u defekaciji), tenezam i povećana frekvencija defekacije najčešće povezuju s upalom u debelom crijevu (POULIN, 2018.). Razlike između proljeva porijeklom iz tankog i proljeva iz debelog crijeva navedene su u tablici 1.

Tablica 1. Klinička diferencijacija između proljeva iz tankog i debelog crijeva
(modificirano po POULIN, 2018.)

SIMPTOM	BOLEST TANKOG CRIJEVA	BOLEST DEBELOG CRIJEVA
GUBITAK TEŽINE	da	rijetko
POLIFAGIJA	ponekad	rijetko do odsutno
MEKANA STOLICA	da	ponekad
FREKVENCIJA DEFEKACIJE	često normalna	ponekad vrlo frekventna
VOLUMEN STOLICE	često povećan	ponekad smanjen zbog povećane frekvencije defekacije
KRV U STOLICI	melena (rijetko)	hematokezija (ponekad)
SLUZ U STOLICI	nije uobičajeno	ponekad
TENEZAM	nije uobičajeno	ponekad
POVRAĆANJE	moгуće	moгуće
DISKEZIJA	nije uobičajeno	ponekad

2.3.2. EGZOKRINA INSUFICIJENCIJA GUŠTERAČE (EPI)

Egzokrinu insuficijenciju gušterače (eng. Exocrine pancreatic insufficiency - EPI) prati nedostatna proizvodnja probavnih enzima što dovodi do nedovoljne apsorpcije hranjivih tvari i kliničkih znakova kao što su gubitak težine unatoč normalnom ili povećanom apetitu te kronični proljevi (WESTERMARCK i WIBERG, 2012.). Najčešći uzrok EPI kod pasa je acinusna atrofija gušterače, a nešto rjeđe kronični pankreatitis ili neoplazije gušterače. Atofija acinarnih stanica gušterače dovodi do nedostatne sekrecije probavnih enzima i posljedično do ozbiljne malapsorpcije. Kronični pankreatitis dovodi do razvoja atrofije i fibroze gušterače s posljedičnom destrukcijom gušteračinog tkiva (WIBERG, 2014.). S obzirom da je egzokrini dio gušterače najvažniji izvor intrizičnog faktora, egzokrina insuficijencija gušterače dovodi do smanjene sekrecije intrizičnog faktora i posljedično tome smanjene apsorpcije kobalamina (WASHABAU i DAY, 2013.). Metoda dokazivanja

egzokrine insuficijencije gušterače je pomoću mjerenja TLI-a (eng. trypsin-like immunoreactivity) u serumu (SOETART i sur., 2018.). Koncentracija < 2,7 µg/l TLI-a u serumu ukazuje na EPI (TORRESON i sur, 2021.). Najveća pojavnost bolesti zabilježena je kod njemačkih ovčara, škotskih ovčara i chow chow-a (WESTERMARCK i WIBERG, 2012.).

2.3.3. LIMFOM

Alimentarni limfom može zahvaćati gornji ili donji dio probavnog sustava, jetru i gušteraču, a karakterizira ga infiltracija neoplastičnim limfocitima s ili bez povećanja mezenterijalnih limfnih čvorova. Na temelju histopatološke pretrage može se podijeliti na limfocitni koji sadrži male stanice te je niskog stupnja i dobro je diferenciran i limfoblastični koji sadrži velike stanice i visokog je stupnja, a ujedno je i prognostički nepovoljniji (GIEGER, 2011.).

Upalna bolest crijeva i alimentarni limfom bolesti su koje uzrokuju slične perzistentne ili intermitentne gastrointestinalne simptome poput povraćanja, proljeva, gubitka na težini i ponekad letargije (WILLARD, 2012.; POULIN, 2018.). S obzirom da ove dvije bolesti zahtjevaju različiti pristup liječenju i imaju različitu prognozu iznimno je bitno prije početka liječenja postaviti točnu dijagnozu (CARRASCO i sur. 2014.). Preporučena dijagnostička metoda je biopsija probavnog trakta (endoskopska ili “full thickness biopsy“ tijekom dijagnostičke laparotomije) te histopatološka pretraga biopsata, no ponekad ni to nije dovoljno za postavljanje dijagnoze jer iako unutar stijenke crijeva postoji stanični infiltrat koji morfološki odgovara alimentarnom limfomu ponekad su uz to vidljivi i raznovrsni tipovi limfatičnih stanica (limfociti, eozinofili, plazma stanice) u kombinaciji s upalnim staničnim infiltratom te je tom slučaju poželjno napraviti imunohistokemijsku pretragu kako bi se razlučio limfom od upalne bolesti crijeva (CARRASCO i sur., 2014.; PIPLICA i sur., 2020.).

2.3.4. ENTEROPATIJA S GUBITKOM PROTEINA

Osim klasifikacije prema odgovoru na terapiju, postoji i podjela s obzirom na gubitak proteina kroz probavni sustav na enteropatiju s gubitkom proteina (eng. Protein-losing enteropathy- PLE) i na onu bez gubitka proteina. Sve gore navedene kronične inflamatorne enteropatije mogu se javiti s i bez gubitka proteina (DANDRIEUX, 2016.). Najčešće se povezuje sa sekundarnom limfangiektazijom koja se javlja zbog limfoplazmocitnog enteritisa, ali može se

javiti i kod infiltrativnih procesa kao što je limfom i kod svih drugih kroničnih enteropatija (ALTENSPACH i IENNARELLA-SERVANTEZ, 2020.).

Mnoge bolesti tankog crijeva mogu dovesti do gubitka proteina putem probavnog sustava (SCHMITZ i sur., 2019.). Klinički znakovi uključuju proljev, povraćanje, anoreksiju, gubitak težine, a zbog hipoalbuminemije može doći do izljeva u prsnu i/ili trbušnu šupljinu ili do perifernih edema. U istraživanju koje su proveli CRAVEN i WASHABAU (2018.) utvrđena je hipoalbuminemija kod 21/23 pasa koji su imali enteropatiju s gubitkom proteina. Češća pojavnost PLE je utvrđena kod jorkširskih terijera, border kolija, njemačkih ovčara i rotvajlera sekundarno zbog IBD-a. Najčešće komplikacije PLE-a su snižena koncentracija kobalamina, hiperkoagulabilnost, hipokalcemija i izljev u prsnu i/ili trbušnu šupljinu (CRAVEN i WASHABAU, 2018.).

2.4. KONCENTRACIJA KOBALAMINA I FOLNE KISELINE U SERUMU KOD PASA

Kobalamin i folna kiselina funkcionalni su biomarkeri pomoću kojih se procjenjuje gastrointestinalna permeabilnost i apsorpcija. Određivanje koncentracije kobalamina i folne kiseline u serumu može nas usmjeriti prema sastavljanju liste diferencijalnih dijagnoza kod pacijenata s kroničnim proljevom ili kroničnim gubitkom težine. Ovisno o sniženoj ili povišenoj koncentraciji kobalamina i folne kiseline može se suziti izbor diferencijalnih dijagnoza (HEILMANN i STEINER, 2018.; NELSON i COUTO, 2020.). Interpretacija koncentracije kobalamina i folne kiseline u serumu prikazana je u tablici 3.

2.4.1. FIZIOLOŠKA KONCENTRACIJA KOBALAMINA U SERUMU

Fiziološka vrijednost kobalamina u serumu je između 221-590 pmol/l (referentna vrijednost preuzeta iz Synlab laboratorija). Postoje blaga odstupanja u referentnim vrijednostima između pojedinih laboratorija. Međutim, koncentracija kobalamina u serumu nije uvijek pravi pokazatelj stanja na staničnoj razini. Ako je transport kobalamina u stanicu poremećen, može doći do intracelularne deficijencije kobalamina dok je istovremeno koncentracija kobalamina u serumu nepromijenjena (KATHER i sur., 2019.). Kod deficijencije kobalamina na razini stanice vrlo važan dijagnostički pokazatelj je metilmalonična kiselina (eng. Methylmalonic

acid- MMA). Kobalamin je esencijalni kofaktor za konverziju metilmalonil- CoA (koenzim A) u sukcinil-CoA pa u slučaju nedostatka kobalamina ne dolazi do spomenute reakcije zbog čega dolazi do nakupljanja MMA intracelularno i sistemski (BERGHOFF i sur, 2012.). Dosadašnja istraživanja pokazala su da 25-100% pasa sa sniženom koncentracijom kobalamina imaju povišenu koncentraciju MMA u serumu (TORESSON i sur., 2018.). MMA se rutinski mjeri kod ljudi i izvrstan je dijagnostički pokazatelj, no nažalost kod pasa se još ne primjenju kao rutinska metoda (KATHER i sur., 2019.). Nalaz kobalamina u referentnim vrijednostima ne isključuje kronične enteropatije (HEILMANN i STEINER, 2018.).

Tablica 2. Interpretacija koncentracije kobalamina i folne kiseline u serumu kod pasa
(modificirano po Steiner, 2008.)

		KONCENTRACIJA KOBALAMINA U SERUMU		
		POVIŠENA	NORMALNA	SNIŽENA
KONCENTRACIJA FOLATA U SERUMU	POVIŠENA	<ul style="list-style-type: none"> • povećan broj bakterija u duodenumu • ARE 	<ul style="list-style-type: none"> • povećan broj bakterija u duodenumu • ARE 	<ul style="list-style-type: none"> • ARE ili bolesti koje zahvaćaju ileum • odrediti koncentraciju TLI kako bi se isključio EPI
	NORMALNA	<ul style="list-style-type: none"> • kronični upalni ili neoplastični procesi 	<ul style="list-style-type: none"> • ne isključuje gastrointestinalni poremećaj 	<ul style="list-style-type: none"> • bolesti koje zahvaćaju ileum • odrediti koncentraciju TLI kako bi se isključio EPI
	SNIŽENA	<ul style="list-style-type: none"> • bolesti koje zahvaćaju duodenum • IBD, limfom, gljivična infekcija probavnog sustava 	<ul style="list-style-type: none"> • bolesti koje zahvaćaju duodenum • IBD, limfom, gljivična infekcija probavnog sustava 	<ul style="list-style-type: none"> • difuzne bolesti sluznice probavnog sustava • IBD, limfom, gljivična infekcija probavnog sustava

ARE- antibiotic-responsive enteropathy; TLI- trypsin-like immunoreactivity; EPI- exocrine pancreatic insufficiency; IBD- inflammatory bowel disease

2.4.2. SNIŽENA KONCENTRACIJA KOBALAMINA

Snižena koncentracija kobalamina najčešće se javlja kod pasa s kroničnim enteropatijama, s egzokrinom insuficijencijom gušterače i kod alimentarnog limfoma (HEILMANN i STEINER, 2018.). Osim toga snižena koncentracija B12 u određenih pasmina pasa može biti i hereditarna.

Kronične enteropatije:

Patološke promjene u ileumu dovode do destrukcije receptora za kompleks kobalamin-intrizični faktor što dovodi do malapsorpcije kobalamina te posljedično tome deficijencije kobalamina (ETTINGER i sur, 2017.).

Enteropatija koja reagira na liječenje primjenom antibiotika može dovesti do povećanja kompeticije za kobalaminom što rezultira sniženom apsorpcijom kobalamina. Bakterije u crijevu kompetitivno se vežu za receptore u ileumu za kompleks kobalamin-intrizični faktor i tako sprječavaju daljnju apsorpciju kobalamina. *Bacteroides spp.* glavni su mikroorganizmi uključeni u kompeticiju jer mogu iskoristiti kobalamin-intrizični faktor kompleks dok se sve druge bakterije mogu samo direktno vezati na slobodni kobalamin (WASHABAU i DAY, 2013.).

Egzokrina insuficijencija gušterače:

Dosadašnja istraživanja pokazala su da 55% pasa s egzokrinom insuficijencijom gušterače ima sniženu koncentraciju kobalamina (SOETART i sur., 2018.; KATHER i sur., 2019.). Razlog sniženog kobalamina kod egzokrine insuficijencije gušterače objašnjen je u poglavlju 2.3.2. Deficijencija kobalamina smatra se nepovoljnim prognostičkim pokazateljem kod pasa koji boluju od EPI (TORESSON i sur., 2021.).

Alimentarni limfom:

Temeljem istraživanja pokazalo se da je kod 16% pasa koji imaju alimentarni limfom prisutna snižena koncentracija kobalamina koja je ujedno i loš prognostički faktor. Postoji poveznica između snižene koncentracije kobalamina i infiltracije ileuma s neoplastičnim limfocitima. Neoplastični limfociti oštećuju receptore u gastrointestinalnom sustavu koji su potrebni za apsorpciju kobalamina (HEILMANN i STEINER, 2018.; KATHER i sur., 2019.).

Hereditarno:

Spominje se i nasljedna malapsorpcija kobalamina koja se javlja zbog abnormalnosti receptora potrebnih za vezanje kobalamin-intrizični faktor kompleksa posebice kod velikih šnaucera, biglova i border kolija (ETTINGER i sur., 2017.).

Snižena koncentracija kobalamina kod pasa s kroničnim enteropatijama i kroničnim proljevima nepovoljan je prognostički faktor (TORESSON i sur., 2019.).

2.4.3. POVIŠENA KONCENTRACIJA KOBALAMINA U SERUMU

Donedavno se u veterinarskoj medicini smatralo da povišena koncentracija kobalamina u serumu nema kliničkog značaja. Međutim, unazad nekoliko godina povećana koncentracija kobalamina u serumu pokazala se značajnom kod pasa s kroničnim upalnim i neoplastičnim procesima (KATHER i sur., 2020.). Kod ljudi se povišena koncentracija kobalamina povezuje s mijeloproliferativnim, jetrenim, renalnim, autoimunim i neoplastičnim procesima. Kod akutnih sistemskih upala kod ljudi zabilježena je povišena koncentracija transkobalamina II (KATHER i sur., 2020.). Najnovija istraživanja kod pasa pokazala su da je povišena koncentracija kobalamina najčešće prisutna kod gastrointestinalnih bolesti (najčešće kod FRE, hemoragijskog gastroenteritisa, akutnog gastritisa i kod prisutstva stranog tijela u probavnom sustavu), kod bolesti jetre (kronični hepatitis i portosistemiški šant), kod endokrinoloških bolesti (diabetes mellitus i hiperadrenokortizam), kod kroničnog zatajenja bubrega i kod neoplazija (RIZ i sur., 2021.).

2.4.4. FIZIOLOŠKA KONCENTRACIJA FOLNE KISELINE U SERUMU

Fiziološka koncentracija folne kiseline u serumu kreće se od 7.5-17.5 ng/ml (referentna vrijednost preuzeta iz Synlab laboratorija). Postoje blaga odstupanja u referentnim vrijednostima između pojedinih laboratorija. Koncentracija folne kiseline u serumu ne mora uvijek biti točan pokazatelj stanja na staničnoj razini (STANLEY i sur., 2018.).

2.4.5. SNIŽENA KONCENTRACIJA FOLNE KISELINE U SERUMU

Snižena koncentracija folne kiseline u serumu javlja se zbog kronične malapsorpcije u proksimalnim dijelovima tankog crijeva (HEILMANN i STEINER, 2018.).

Kronične enteropatije:

STEINER (2008.) u svom istraživanju navodi da se snižena koncentracija folne kiseline u serumu može javiti kod pasa s kroničnim enteropatijama (posebice kod IBD-a) i alimentarnim limfomom. Takve rezultate prijavljuju i HEILMANN i STEINER (2018.) u svom istraživanju gdje navode da je folna kiselina snižena u 14% pasa kod kroničnih enteropatija.

Osim probavnih uzroka snižena koncentracija folne kiseline može se javiti i kod pasa s hipotireoidizmom (GOLYNSKI i sur., 2017.), ali i kod pasa sa regenerativnom i imunosno posredovanom hemolitičkom anemijom (STANLEY i sur., 2018.).

Kod ljudi je folna kiselina snižena kod megaloblastične neregenerativne anemije, međutim istraživanja provedena na psima imaju drugačije rezultate kao što je već gore navedeno. Tako je snižena koncentracija folne kiseline zabilježena kod pasa s regenerativnom anemijom (21%) i s imunosno posredovanom hemolitičkom anemijom (22%) (STANLEY i sur., 2018.).

2.4.6. POVIŠENA KONCENTRACIJA FOLNE KISELINE U SERUMU

Povišena koncentracija folne kiseline u serumu može biti indikator ARE. Bakterije u ileumu i debelom crijevu mogu proizvesti velike količine folata. Zbog toga što su nosači folne kiseline smješteni u duodenumu, folat koji se proizvede u distalnim dijelovima crijeva ne može se apsorbirati. Ako bakterije prerastu u duodenumu, gdje je mjesto apsorpcije folne kiseline, folna kiselina bit će apsorbirana što će uzrokovati povećanje koncentracije u serumu (WASHABAU i DAY, 2013.).

Dosadašnja istraživanja pokazala su da 67% pasa koji boluju od egzokrine insuficijencije gušterače ima povišenu koncentraciju folne kiseline. Razlog tome je što disbioza u crijevima može dovesti do povišenja folata koji su stvorile bakterije (SOETART i sur., 2018.).

2.4.7. SUPLEMENTACIJA KOBALAMINA I FOLNE KISELINE

Kobalamin je koenzim u sintezi stanica te obnova enterocita bez njega nije dostatna. Upravo zbog toga je nužna suplementacija kobalamina kod pasa sa kroničnim probavnim problemima, a koji imaju sniženu koncentraciju kobalamina u serumu. Tome govore u prilog istraživanja koja navode da psi koji nisu primali suplementaciju kobalamina imaju vrlo slabi odgovor na terapiju u usporedbi sa psima kojima se uz istu terapiju suplementirao cijanokobalamin. Tijekom suplementacije klinički simptomi kao što su povraćanje, proljev i mršavljenje počinju se povlačiti (HANISCH i sur., 2018.). Donedavno se suplementacija radila isključivo supkutanom primjenom, no istraživanja su dokazala da oralna suplementacija cijanokobalamina ima isti učinak (KATHER i sur., 2019.).

Protokol za supkutanu suplementaciju kobalamina (KATHER i sur., 2019.):

1. kroz šest tjedana 1x tjedno potkožna aplikacija cijanokobalamina u dozi prikazanoj u tablici 3.
2. mjesec dana pauze
3. jednokratna potkožna aplikacija cijanokobalamina u dozi prikazanoj u tablici 3.
4. kontrola koncentracije kobalamina u serumu mjesec dana nakon zadnje aplikacije

Protokol za oralnu suplementaciju kobalamina (TORRESO, 2021.):

1. doza od 0.25 do 1 mg dnevno ovisno o težini životinje (vidi tablicu 4.) kroz 12 tjedana.

U istraživanju TORRESON, (2021.) zabilježeno je povećanje koncentracije kobalamina u serumu kod 5/6 pasa već 19-29 dana nakon peroralne primjene.

2. kontrola koncentracije kobalamina u serumu tjedan dana nakon zadnje aplikacije

Tablica 3. Supkutana suplementacija kobalamina (modificirano prema <https://vetmed.tamu.edu/gilab/research/cobalamin-information/>)

Masa psa (kg)	<5 kg	5-10 kg	10-20 kg	20-30 kg	30-40kg	40-50g	>50 kg
Doza kobalamina	250 µg	400 µg	600 µg	800 µg	1000 µg	1200 µg	1500 µg

Tablica 4. Oralna suplementacija kobalamina (modificirano prema HANISCH i sur., 2018.)

Masa psa (kg)	<10 kg	10-20 kg	>20 kg
Doza kobalamina	250 µg	500 µg	1000 µg

Ne postoje istraživanja koja potvrđuju pozitivan utjecaj suplementacije folne kiseline na kronične gastrointestinalne probleme. Ipak, istraživanja kod kojih se eksperimentalno inducirala smanjena koncentracija folne kiseline u serumu pokazala su da je to dovelo do pojave kliničkih simptoma bolesti, stoga se suplementacija folne kiseline ipak preporuča, a jedan od razloga je i to što je oralna terapija (tablete) folne kiseline financijski prihvatljiva, a uporaba je sigurna za pse (IZVOR: <https://vetmed.tamu.edu/gilab/research/folate-information/>).

Protokol za oralnu suplementaciju folne kiseline (HEILMANN i STEINER, 2018.):

1. Doza od 200-400 µg po psu ovisno o težini životinje (10 µg/kg) svakih 24 sata kroz mjesec dana.

2. Kontrola nije potrebna osim u slučaju kada je došlo do pogoršanja kliničkih simptoma. U tom slučaju je preporuka kontrolirati koncentraciju folne kiselinu u serumu tjedan nakon zadnje aplikacije.

3. MATERIJALI I METODE

Pregledom arhive Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u vremenskom periodu od 1. siječnja 2017. do 1. rujna 2021. prikupljeni su i obrađeni podaci svih pasa s kroničnim gastrointestinalnim poremećajima za koje postoje cjeloviti arhivski podatci koji uključuju: podatke o spolu, pasmini, starosti, anamnezu, klinički nalaz, laboratorijske nalaze krvi (hematološka i biokemijske pretrage krvi), koncentraciju biomarkera kobalamina i folne kiseline, koncentraciju TLI kod sumnje na EPI, nalaz slikovnih pretraga RTG-a i ultrazvuka abdomena te ako su provedene, nalaz endoskopske pretrage/ dijagnostičke laparotomije s patohistološkim nalazima biopsata. U navedenom razdoblju 68 pasa je ispunilo navedene kriterije. Od ukupnog broja njih 36 su bili mužjaci, a 32 ženke različitih pasmina i dobnih skupina.

Tijekom pregleda svim psima su uzeti uzorci krvi iz cefalične vene. Uzorci su sakupljeni u dvije različite epruvete. Prva epruveta je sadržavala antikoagulans s kalij-etilen diaminotetraoctenom kiselinom (EDTA), a druga gel bez antikoagulansa. U uzorku krvi s antikoagulansom EDTA određeni su hematološki parametri. Uzorci krvi uzeti u epruvetu s gelom bez antikoagulansa ostavljeni su na sobnoj temperaturi tijekom 20-ak minuta kako bi se zgrušali te su nakon toga centrifugirani na 3000 okretaja u minuti tijekom 15 minuta kako bi se izdvojio serum. Iz dijela seruma učinjene su biokemijske pretrage, a iz dijela kobalamin, folna kiselina i kod nekih životinja TLI. Bitno je naglasiti da su životinje prilikom uzimanja uzoraka krvi za analizu kobalamina, folne kiseline i TLI morale biti minimalno 12 sati natašte. TLI je rađen kod životinja sa sumnjom na EPI s ciljem dokazivanja ili isključivanja EPI. Hematološke i biokemijske pretrage napravljene su u laboratoriju Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu dok je serum za određivanje koncentracije kobalamina, folne kiseline i TLI poslan u specijalizirane laboratorije Synlab ili Laboklin.

Abdominalna radiografija obavljena je u dvije osnovne projekcije snimanja, profilna (laterolateralna) i sagitalna (ventrodorzalna ili dorzoventralna), koristeći Siemens Multix Fusion uređaj.

Ultrazvučni pregled abdomena rađen je pomoću Esaote MyLabTM40. Pregledani su svi organi trbušne šupljine s naglaskom na probavne organe.

Endoskopska pretraga napravljena je na 17 pasa. Psi su tijekom zahvata bili u općoj inhalacijskoj endotrahealnoj anesteziji. Tijekom endoskopije svim psima je biopsijom uzeto 10-13 uzoraka stijenke želuca i proksimalnog dijela duodenuma. Biopsati su zatim poslani na Zavod za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu kako bi se provela histopatološka pretraga.

U statističkoj analizi i obradi podataka korištene su osnovne metode deskriptivne statistike, a za obradu podataka korišten je računalni program Microsoft Office Excel© i Python.

4. REZULTATI

4.1. PRIKAZ OSNOVNIH PODATAKA SKUPINE ISTRAŽIVANIH PASA

Poštujući kriterije navedene u materijalima i metodama, u istraživanje je uključeno ukupno 68 pasa. Najzastupljenija pasmina sa kroničnim gastrointestinalnim problemima bili su križanci 20% (14/68), zatim malteški psić 10% (7/68), njemački ovčar 8% (6/68), kavalirski španijel kralja Charlesa 5% (4/68), labrador retriever i lagotto romagnolo 4% (3/68) te graničarski koli, čiuvava, mops, pudl mali, irski seter i patuljasti gubičar s po 2% (2/68). Ostale pasmine su imale po jednog predstavnika u istraživanoj populaciji (tablica 5.).

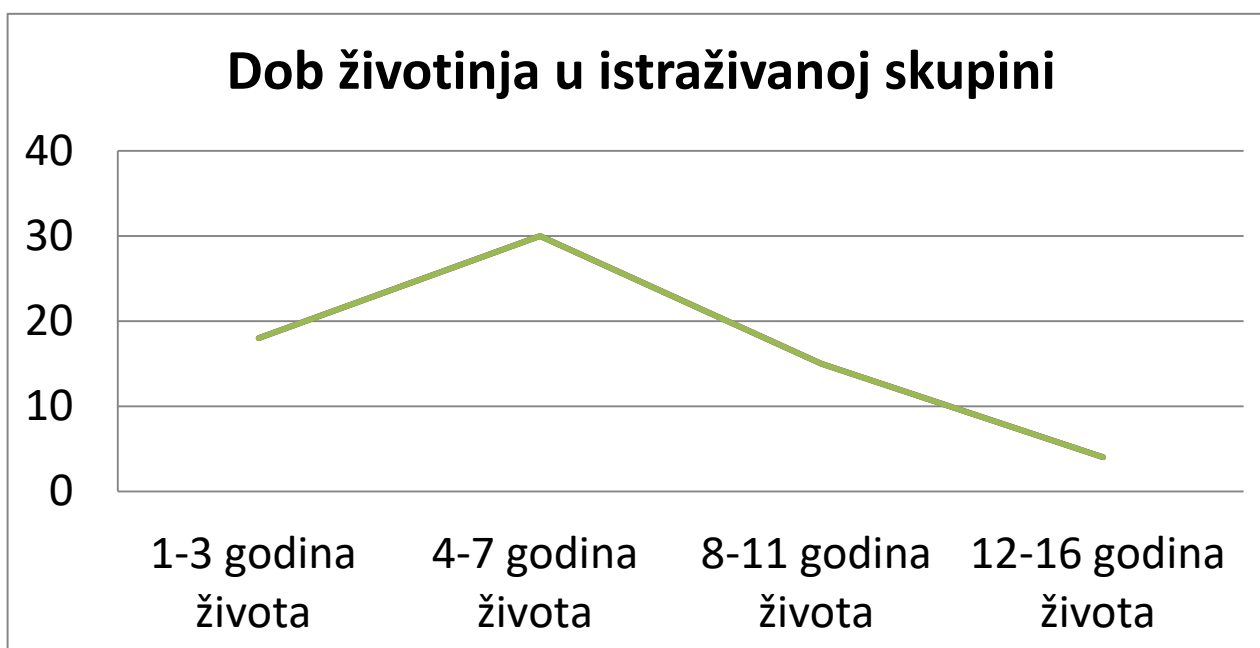
S obzirom na zastupljenost spolova u pretraživanoj skupini mužjaci su zastupljeni s 53% (36/68) dok su ženke zastupljene s 47% (32/68) (Slika 4.). Medijan dobi pasa u istraživanoj skupini je bio 6 godina (raspon od 1 do 16 godina) (Slika 5.).

Tablica 5. Pasminska struktura u istraživanoj skupini

Pasmina	Broj pasa
križanac	14
malteški psić	7
njemački ovčar	6
kavalirski španijel kralja Charlesa	4
labrador retriever, lagotto romagnolo	3
graničarski koli, čiuvava, mops, pudl mali, irski seter, patuljasti gubičar	2
shi-tzu, zapadno-škotski terijer, kovrčavi bišon, aljaški malamut, veliki gubičar, rotvajler, američki koker španijel, erdel terijer, ruski crni terijer, engleski seter, tornjak, francuski buldog, američki stafordski terijer, havanski psić, jorkširski terijer, mađarska vižla, njemački bokser, sibirski haski	1



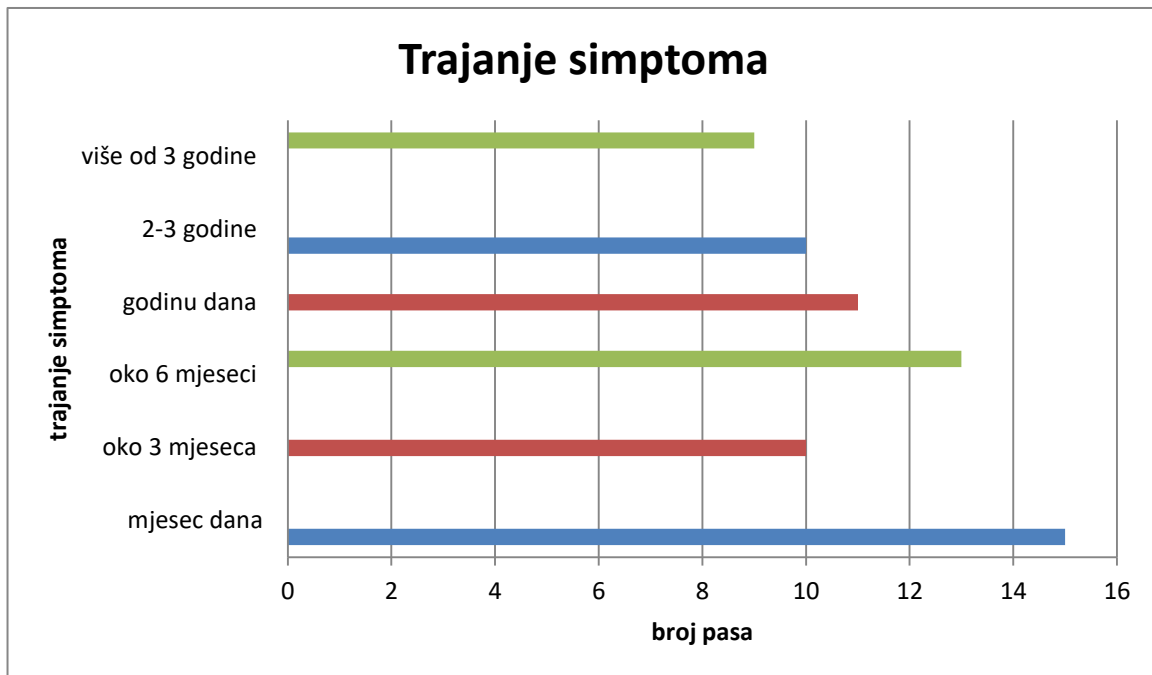
Slika 4. Prikaz zastupljenosti spolova u istraživanoj skupini



Slika 5. Prikaz zastupljenosti dobi pasa u istraživanoj skupini

Prema trajanju kroničnih gastrointestinalnih simptoma 22% pasa (15/68) imalo je simptome u trajanju mjesec dana, 14% pasa (10/68) imalo je simptome u trajanju 3 mjeseca, 19% pasa (13/68) imalo je simptome u trajanju oko 6 mjeseci, 16% (11/68) u trajanju oko godine dana,

14% (10/68) u trajanju 2-3 godine dok je 13% pasa (9/68) imalo simptome u trajanju dužem od 3 godine (Slika 6). Prosječno trajanje simptoma bilo je oko 6 mjeseci. Kod pasa koji su imali sniženu koncentraciju kobalamina u serumu u usporedbi s onima koji su imali koncentraciju kobalamina u referentnim vrijednostima zabilježeno je duže trajanje simptoma.

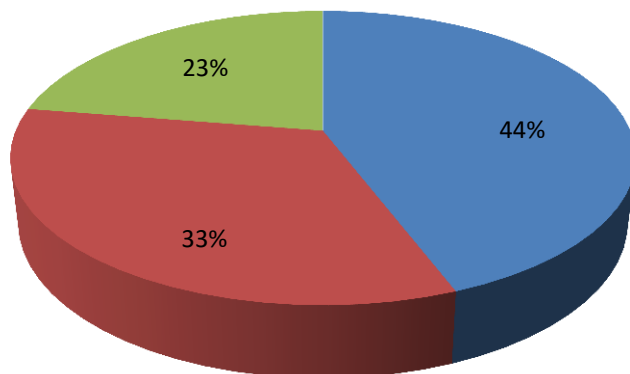


Slika 6. Trajanje kroničnih gastrointestinalnih simptoma u istraživanoj populaciji

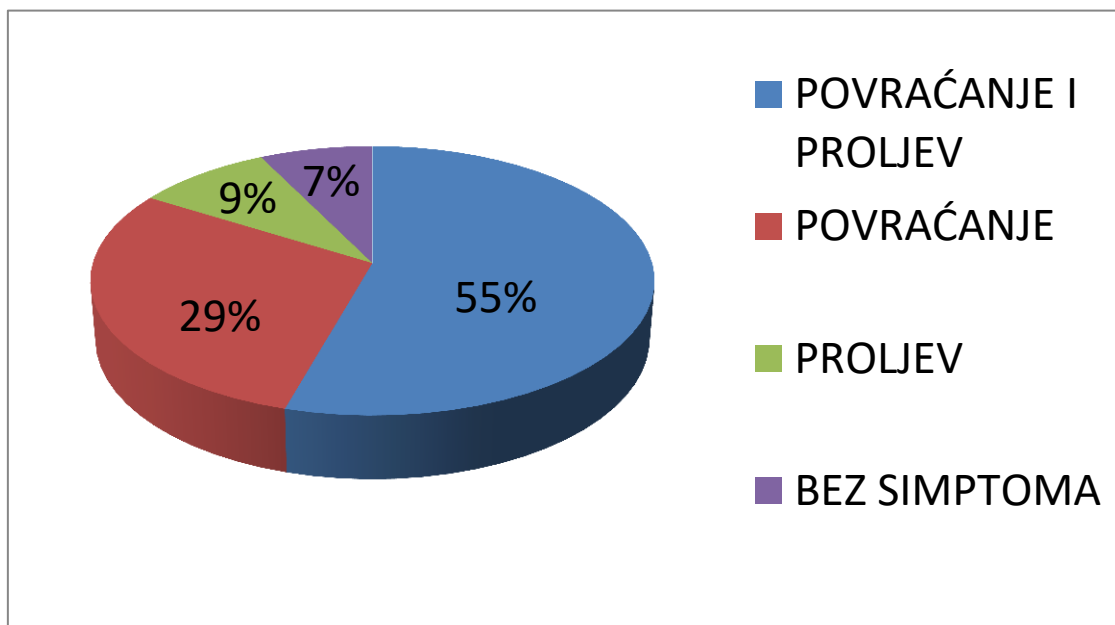
Najčešći probavni simptomi koji su se pojavili kod pasa u pretraživanom uzorku bili su: proljev 44% (57/68), povraćanje 33% (43/68) i mršavljenje 23% (29/68) (Slika 7.). Od toga su kod 55% pasa (37/68) bili prisutni i proljev i povraćanje, kod 29% pasa (20/68) samo povraćanje, kod 9% (6/68) samo proljev dok 7% pasa (5/68) nije imalo niti proljev niti povraćanje (Slika 8.).

Najčešći simptomi i njihova zastupljenost

■ PROLJEV ■ POVRAĆANJE ■ MRŠAVLJENJE



Slika 7. Zastupljenost najčešćih kroničnih gastrointestinalnih simptoma kod istraživane skupine

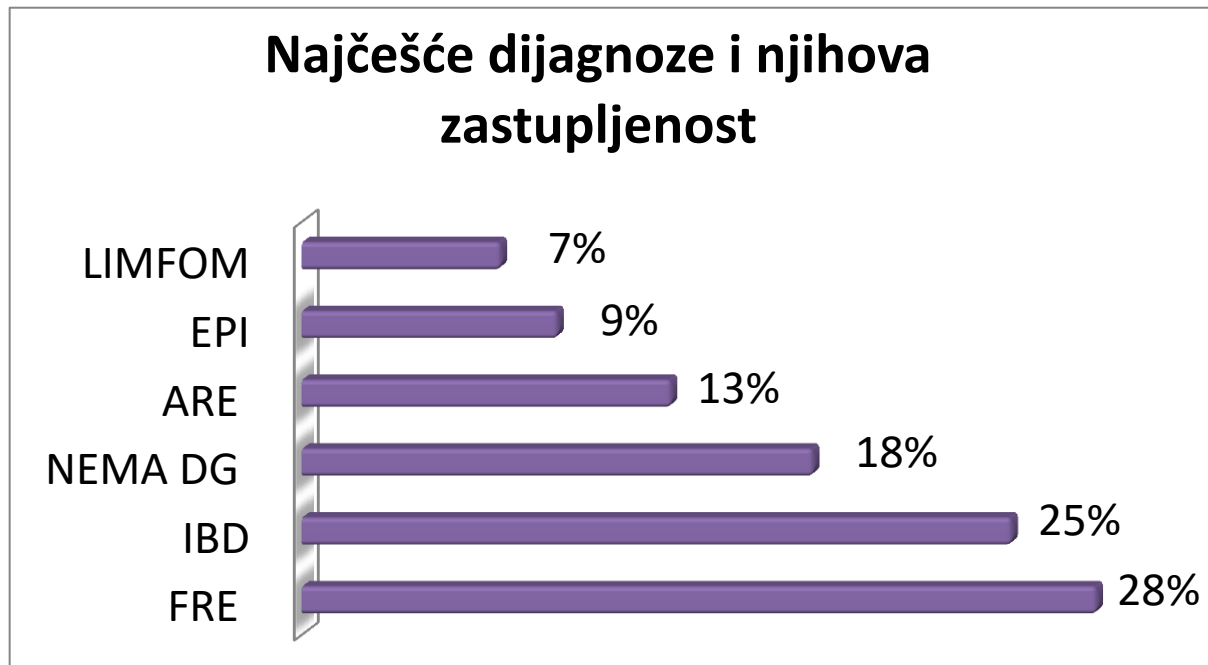


Slika 8. Zastupljenost proljeva i povraćanja kod istraživane skupine

4.2. NAJČEŠĆE DIJAGNOZE I NJIHOVA ZASTUPLJENOST KOD ISTRAŽIVANE SKUPINE

Najzastupljenije dijagnoze u pretraživanom uzorku bile su enteropatija koja reagira na liječenje koje se bazira na promjeni hrane s 28% (19/68), upalna bolest crijeva s 25% (17/68), enteropatija koja reagira na liječenje primjenom antibiotika s 13% (9/68), egzokrina insuficijencija gušterače s 9% (6/68) i limfom s 7% (5/68). Kod 18% pasa (12/68) konačna dijagnoza nije se mogla postaviti zbog nedostatka podataka (Slika 9.).

Kod 25% pasa (17/68) napravljena je endoskopska pretraga u sklopu koje su biopsijom uzeti uzorci stijenke želuca i proksimalnog dijela duodenuma koji su zatim poslani na Zavod za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu gdje je učinjena histopatološka pretraga biopsata. Na dijagnozu upalne bolesti crijeva upućivalo je 100% pacijenata (17/17).

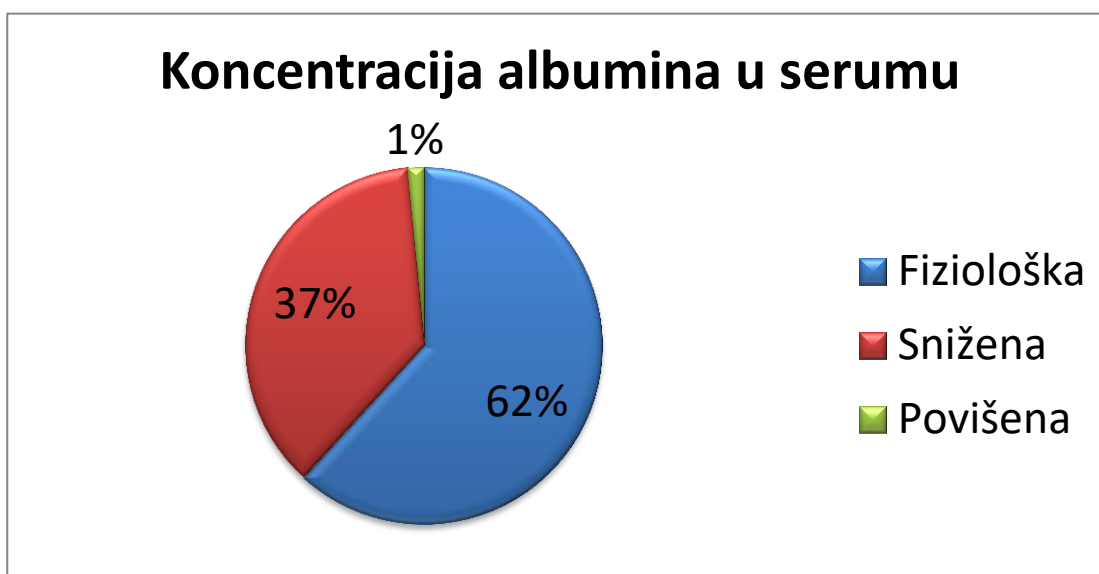


Slika 9. Najčešće dijagnoze i njihova zastupljenost u istraživanoj skupini

(EPI- Exocrine pancreatic insufficiency; ARE- Antibiotic-responsive enteropathy; DG- dijagnoza; IBD- Inflammatory bowel disease; FRE- Food-responsive enteropathy)

Kako bismo odredili učestalost enteropatije s gubitkom proteina u istraživanoj skupini određivali smo koncentraciju albumina. Hipoalbuminemija, a pritom i učestalost PLE dijagnoza u istraživanoj populaciji zabilježena je u 37% pasa (25/68), koncentracija albumina u referentnim vrijednostima kod 62% pasa (42/68) dok je hiperalbuminemija bila prisutna kod 1% pasa (1/68) (Slika 10.). Pojavnost hipoalbuminemije kod pojedinih dijagnoza prikazana je u tablici 6.

Koncentracija albumina bila je snižena kod 65% pasa (11/17) koji su imali dijagnozu IBD-a, 35% pasa (6/17) imalo je koncentraciju albumina u referentnim vrijednostima dok nijedan pas nije imao povišenu koncentraciju albumina. Kod enteropatije koja reagira na liječenje koje se bazira na promjeni hrane vrijednosti albumina bile su snižene kod 37% pasa (7/19), u referentnim vrijednostima kod 63% pasa (12/19), a nijedan pas nije imao povišene vrijednosti albumina. Albumini su bili sniženi kod 67% pasa (4/6) koji su imali dijagnozu egzokrine insuficijencije gušterače, a u fiziološkim granicama kod 33% pasa (2/6). Albumini su bili sniženi kod 22% pasa (2/9) koji su imali dijagnozu ARE, a povišene albumine nije imao nijedan pas. Vrijednosti albumina u referentnim vrijednostima zabilježene su kod 78% pasa (7/9). Kod pasa koji su bolovali od limfoma, 20% pasa (1/5) imalo je sniženu koncentraciju albumina, a 80% (4/5) imalo je koncentraciju u referentnim vrijednostima.



Slika 10. Prikaz koncentracija albumina u serumu u istraživanoj skupini

Tablica 6. Najčešće dijagnoze i njihova povezanost s koncentracijom albumina u istraživanoj skupini

Najčešće dijagnoze	Snižena koncentracija albumina	Povišena koncentracija albumina	Koncentracija albumina u referentnim vrijednostima
FRE (n=19)	36% (7/19)	0% (0/19)	64% (12/19)
IBD (n=17)	65% (11/17)	0% (0/17)	35% (6/17)
ARE (n=9)	22% (2/9)	0% (0/9)	78% (7/9)
EPI (n=6)	67% (4/6)	0% (0/6)	33% (2/6)
LIMFOM (n=5)	20% (1/5)	0% (0/5)	80% (4/5)

(FRE- Food-responsive enteropathy; IBD- Inflammatory bowel disease; ARE- Antibiotic-responsive enteropathy; EPI- Exocrine pancreatic insufficiency;)

4.3. SLIKOVNA DIJAGNOSTIKA

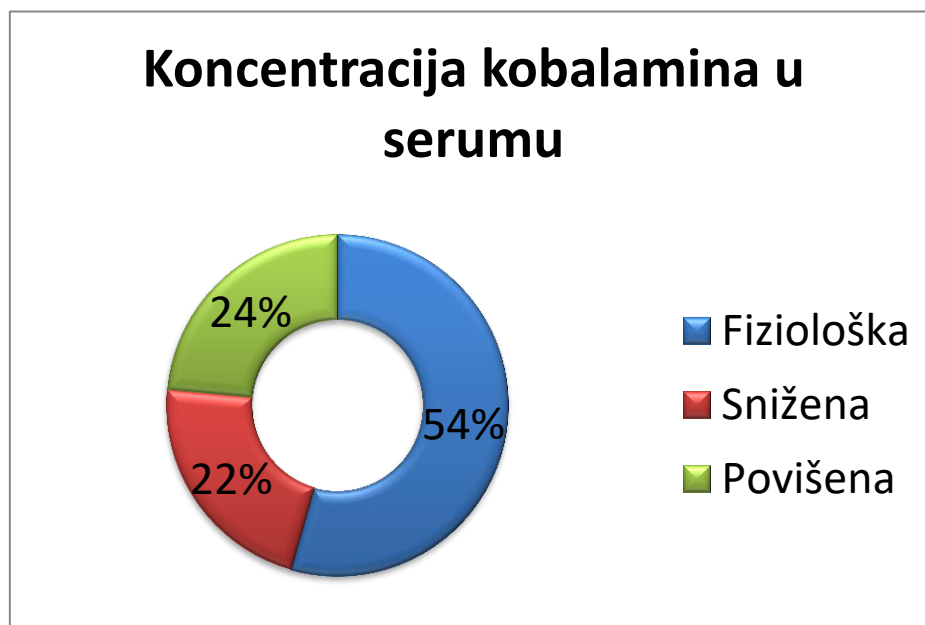
Rendgenološka pretraga (RTG) abdomena rađena je kod 90% pasa (61/68), od čega je kod 80% pasa (49/61) nalaz RTG pretrage bio negativan dok su kod 11% pasa (7/61) opisane promjene u vidu prisutnosti plina u probavnom sustavu, a kod ostalih 9% (5/61) opisane su promjene u vidu gastroenteritisa.

Kod 82% pasa (56/68) rađena je ultrazvučna pretraga trbušne šupljine od čega su kod 89% pasa (50/56) zabilježene ultrazvučne promjene iz kojih su navedene diferencijalne dijagnoze u

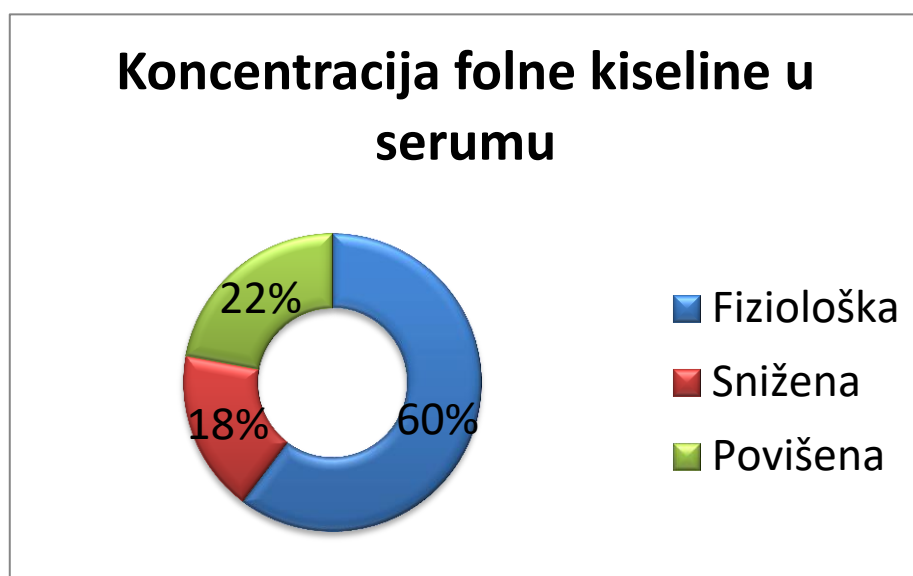
vidu: gastropatije, enteropatije, kolonopatije i limfadenopatije. Kod preostalih 11% pasa (6/56) ultrazvučne promjene bile su nespecifične.

4.4. KONCENTRACIJA KOBALAMINA I FOLNE KISELINE U SERUMU

U pretraživanoj populaciji pasa s kroničnim gastrointestinalnim poremećajima koncentracija kobalamina u referentnim vrijednostima izmjerena je kod 54% pasa (37/68), snižena koncentracija kod 22% (15/68), a povišena kod 24% pasa (16/68) (Slika 11). Kod 60% pasa (41/68) izmjerene su fiziološke vrijednosti folne kiseline, kod 18% (12/68) izmjerene su snižene koncentracije folne kiseline, a kod 22% pasa (15/68) izmjerene su povišene vrijednosti folne kiseline u serumu (Slika 12.).



Slika 11. Koncentracija kobalamina u serumu u istraživanoj skupini



Slika 12. Koncentracija folne kiseline u serumu u istraživanoj skupini

4.4.1. POVEZANOST KONCENTRACIJE KOBALAMINA I FOLNE KISELINE SA DIJAGNOZAMA

Najčešće dijagnoze i njihova poveznica s koncentracijom kobalamina i folne kiseline navedene su u tablici 7.

Od 17 pasa (25%) kod kojih je postavljena dijagnoza IBD-a koncentracija kobalamina bila je snižena kod 29% pasa (5/17), 6% (1/17) imalo je povišenu koncentraciju kobalamina dok je 65% pasa (11/17) imalo koncentraciju kobalamina u serumu u referentnim vrijednostima. Folna kiselina bila je snižena kod 24% pasa (4/17), povišena kod 12% (2/17), a u referentnim vrijednostima kod 65% pasa (11/17).

Kod 28% pasa (19/68) bila je postavljena dijagnoza FRE. Kod 16% pasa (3/19) zabilježena je snižena koncentracija kobalamina, kod 21% (4/19) koncentracija kobalamina bila je povišena dok je 63% pasa (12/19) imalo koncentraciju kobalamina u referentnim vrijednostima. Kod 5% pasa (1/19) koji imaju dijagnozu FRE koncentracija folne kiseline je bila snižena, kod 21% (4/19) bila je povišena, a kod 74% pasa (14/19) bila je u referentnim vrijednostima.

Dijagnoza EPI postavljena je kod 9% pasa (6/68) od čega je 100% pasa (6/6) imalo sniženu koncentraciju kobalamina u serumu. Kod 83% pasa (5/6) koncentracija folne kiseline bila je u referentnim vrijednostima dok je kod 17% pasa (1/6) ona bila snižena.

Kod 13% pasa (9/68) ustanovljena je ARE. Povišena koncentracija kobalamina zabilježena je kod 11% pasa (1/9) dok je kod 89% pasa (8/9) bila zabilježena koncentracija kobalamina u referentnim vrijednostima. Folna kiselina bila je snižena kod 11% pasa (1/9), povišena kod 67% pasa (6/9), a u referentnim vrijednostima kod 22% (2/9).

Tablica 7. Najčešće dijagnoze i njihova povezanost s koncentracijom kobalamina i folne kiseline u istraživanoj skupini

Najčešće dijagnoze	Snižena koncentracija B12	Povišena koncentracija B12	Koncentracija B12 u referentnim vrijednostima	Snižena koncentracija folne kiseline	Povišena koncentracija folne kiseline	Koncentracija folne kiseline u referentnim vrijednostima
FRE (n=19)	15% (3/19)	21% (4/19)	64% (12/19)	5% (1/19)	21% (4/19)	74% (14/19)
IBD (n=17)	30% (5/17)	6% (1/17)	64% (11/17)	24% (4/17)	12% (2/17)	64% (11/17)
ARE (n=9)	0% (0/9)	11% (1/9)	89% (8/9)	11% (1/9)	66% (6/9)	23% (2/9)
EPI (n=6)	100% (6/6)	0% (0/6)	0% (0/6)	17% (1/6)	0% (0/6)	83% (5/6)
LIMFOM (n=5)	20% (1/5)	60% (3/5)	20% (1/5)	20% (1/5)	40% (2/5)	40% (2/5)
PLE (n=25)	36% (9/25)	0% (0/25)	64% (16/25)	16% (4/25)	0% (0/0)	84% (21/25)

(IBD- Inflammatory bowel disease; FRE- Food-responsive enteropathy; EPI- Exocrine pancreatic insufficiency; ARE- Antibiotic-responsive enteropathy, PLE- Protein losing enteropathy)

Dijagnoza limfoma postavljena je kod 7% pasa (5/68) od kojih je 20% (1/5) imalo sniženu koncentraciju kobalamina, 20% (1/5) fiziološku koncentraciju dok su ostali psi 60% (3/5) imali povišenu koncentraciju kobalamina. Folna kiselina bila je snižena kod 20% pasa (1/5), a povišena i u fiziološkim vrijednostima kod 40% (2/5) pasa.

Kod 37% pasa (25/68) postavljena je dijagnoza PLE. Kod 36% pasa (9/25) koji su imali sniženu koncentraciju albumina zabilježena je i snižena koncentracija kobalamina. Zabilježena je korelacija od 0.12 između sniženog kobalamina i sniženih albumina što nam ukazuje na sukladan rast obje vrijednosti. Kod 64% pasa (16/25) koncentracija kobalamina u serumu je bila u referentnim vrijednostima dok nijedan pas nije imao povišenu koncentraciju kobalamina u serumu. Kod 84% pasa (21/25) koncentracija folne kiseline bila je u referentnim vrijednostima, kod 16% (4/25) koncentracija je bila snižena dok nijedan pas nije imao povišenu koncentraciju folne kiseline u serumu.

Povezanost interpretacije biomarkera kobalamina i folne kiseline s najučestalijim dijagnozama u istraživanoj skupini pasa prikazana je u tablici 8. Povezanost je kod dijagnoze EPI bila 100% (6/6), kod ARE 67% (6/9), kod IBD-a 53% (9/17), kod FRE kod 21% (4/19) dok je povezanost kod limfoma 60% (3/5).

Tablica 8. Povezanost interpretacije biomarkera kobalamina i folne kiseline i najučestalijih dijagnoza u istraživanoj skupini pasa

DIJAGNOZE	POVEZANOST INTERPRETACIJE KOBALAMINA I FOLNE KISELINE S NAJUČESTALIJIM DIJAGNOZAMA (%)
EPI	100% (6/6)
ARE	67% (6/9)
LIMFOM	60% (3/5)
IBD	53% (9/17)
FRE	21% (4/19)

(EPI- Exocrine pancreatic insufficiency; ARE- Antibiotic-responsive enteropathy; IBD- Inflammatory bowel disease; FRE- Food-responsive enteropathy)

Pet od 68 pacijenata (7%) eutanazirano je zbog nepovoljne prognoze. Četiri od 5 pacijenata (80%) koji su eutanazirani u trenutku eutanazije imali su izrazito sniženu koncentraciju albumina koja je dovela do komplikacija i lošeg kliničkog stanja životinja. Tri od 5 pacijenata (60%) koji su eutanazirani u trenutku eutanazije imali su sniženu koncentraciju kobalamina.

5. RASPRAVA

Od 68 pasa koji uključeni u ovo istraživanje križanci su bili najzastupljeniji 20% (7/68), među ukupno uključenih 29 pasmina najbrojniji su bili malteški psić 10% (7/68), njemački ovčar 8% (6/68), kavalirski španijel kralja Charlesa 5% (4/68), labrador retriever i lagotto romagnolo 4% (3/68) te graničarski koli, čiuvava, mops, pudl mali, irski seter, patuljasti gubičar 2% (2/68) što u većem dijelu odgovara BERGHOFF i sur. (2013.) kod kojih su najzastupljeniji bili križanci (18%), labrador retrieveri (7%), njemački ovčari (5%), bokseri (4%), koker španijeli (4%) i engleski buldozi (4%). Prema istraživanju autora DANDRIEUX i MANSFIELD (2019.) najzastupljeniji su bili križanci, francuski buldog, kavalirski španijel kralja Charlesa, rotvajler, njemački ovčar, border koli i bokser dok SOETART i sur. (2018.) navode najveću zastupljenost sljedećih pasmina: njemački ovčar, kavalirski španijel kralja Charlesa i graničarski koli. U obzir treba uzeti i to da su križanci jedni od najpopularnijih pasa te da je moguće da su zbog toga i najzastupljeniji u ovom istraživanju.

U ovom istraživanju mužjaci su bili zastupljeni s 53% (36/68) dok su ženke bile zastupljene s 47% (32/68) što je sukladno rezultatima BERGHOFFa i sur. (2013.) kod kojih su u istraživanju prevladavale ženke s 51% (29/56) nad mužjacima koji su bili zastupljeni s 49% (27/56) i sa SOETART i sur. (2018.) kod kojih isto prevladavaju ženke s 55% (165/299) nad mužjacima koji su zastupljeni s 45% (134/299). Navedeni podaci ukazuju na to da je struktura spolova podjednaka i da ne postoji spolna predispozicija za kronične gastrointestinalne poremećaje.

Prosječna starost pasa kod postavljanja dijagnoze bila je 6 godina (od 1 do 16 godina) što prati dostupnu literaturu pa tako BERGHOFF i sur. (2013.) navode prosječnu dob od 6 godina (od 0.4 do 13 godina, a TORESSON i sur. (2018.) navode prosječnu dob od 6.2 (1.5-13).

U našem istraživanju trajanje simptoma varira od mjesec dana do više od 3 godine, a najviše pacijenata imalo je simptome u trajanju oko šest mjeseci što je sukladno istraživanju DIXON-a i sur. (2021.) kod kojih je prosječno trajanje simptoma bilo između 6 i 12 tjedana.

Rendgenološka (RTG) pretraga abdomena rađena je kod 90% pasa (61/68). Od toga je kod 80% pasa (49/61) nalaz RTG pretrage bio negativan. Kod 11% pasa (7/61) opisane su promjene u vidu prisutnosti plina u probavnom sustavu dok su kod 9% pasa (5/61) opisane promjene u vidu gastroenteritisa. Rezultati ovog istraživanja su u suglasnosti sa rezultatima

koje su objavili WASHABAU i DAY (2013.) u kojima navode da rendgenološka pretraga nije od velike pomoći kod pasa s kroničnim enteropatijama.

Kod 82% pasa (56/68) rađena je ultrazvučna pretraga abdomena. Kod većine pasa 89% (50/56) ultrazvučne promjene bile su umjerene u vidu gastropatija, enteropatija, kolonopatija i limfadenopatija što se poklapa sa istraživanjem SCHMITZ (2019.).

Najčešći simptomi u našem istraživanju bili su proljev, povraćanje i mršavljenje što je u skladu s dosadašnjim istraživanjima. DANDRIEUX I MANSFIELD (2019.) navode najučestalije simptome u vidu povraćanja i proljeva, a KATHER i sur. (2019.) perzistentne ili rekurentne kliničke probavne simptome, povraćanje i proljev.

Kod 62% pasa (42/68) zabilježena je koncentracija albumina u referentnim vrijednostima, kod 37% pasa (25/68) koncentracija albumina je snižena, a kod 1% pasa (1/68) koncentracija albumina je povišena što djelomično prati dosadašnja istraživanja. DIXON i sur. (2021.) zabilježili su pojavnost hipoalbuminemije kod 50% pasa s kroničnim gastrointestinalnim enteropatijama dok je ostatak od 50% pasa imao koncentraciju albumina u referentnim vrijednostima. ALLENSPACH i sur. (2007.) u svom istraživanju navode da 14% pasa ima sniženu koncentraciju albumina kod kroničnih enteropatija.

Kod 36% pasa (9/25) koji imaju sniženu koncentraciju albumina zabilježena je i snižena koncentracija kobalamina što je prema istraživanju ALLENSPACH i IENNARELLA-SERVANTEZ (2020.) vrlo česta pojava kod hipoalbuminemije i uz to je nepovoljan prognostički faktor. U našem istraživanju zabilježena je korelacija od 0.12 između sniženog kobalamina i sniženih albumina što nam ukazuje na sukladan rast obje vrijednosti dok su ALLENSPACH i sur. (2007.) također zabilježili visoku korelaciju između snižene koncentracije kobalamina i hipoalbuminemije.

U našem istraživanju populacije pasa s kroničnim gastrointestinalnim poremećajima kod 54% pasa (37/68) izmjerene su fiziološke vrijednosti kobalamina, kod 22% pasa (15/68) izmjerena je snižena vrijednost kobalamina, a kod 24% pasa (16/68) izmjerene su povišene vrijednosti kobalamina u serumu što je u suglasnosti sa istraživanjem RIZ i sur. (2021.) koji navode da 24.3% pasa ima sniženu koncentraciju kobalamina, 29.4% ima povišenu koncentraciju kobalamina dok 46.3% pasa ima koncentraciju kobalamina u referentnim vrijednostima što se djelomično podudara s istraživanjem KATHER i sur. (2020.) koji navode sniženu koncentraciju kobalamina kod 29% pasa koji imaju, povišenu koncentraciju kobalamina kod

3%, a koncentraciju kobalamina u referentnim vrijednostima kod 68% pasa. Kod 60% pasa (41/68) u ovom istraživanju izmjerene su fiziološke vrijednosti folne kiseline, kod 18% pasa (12/68) izmjerene su snižene koncentracije folne kiseline, a kod 22% pasa (15/68) izmjerene su povišene vrijednosti folne kiseline u serumu što je prati dostupna istraživanja (SOETART i sur., 2018.).

Od dijagnoza najzastupljenije su: enteropatija koja reagira na liječenje koje se bazira na promjeni hrane 28% (19/68), upalna bolest crijeva 25% (17/68), enteropatija koja reagira na liječenje primjenom antibiotika 13% (9/68), egzokrina insuficijencija gušterače 9% (6/68) te limfom 7% (5/68) što je u suglasnosti s dosadašnjim istraživanjima. Tako u svom istraživanju ALLENSPACH i sur. (2007.) navode da su se kod 44% pasa simptomi povukli nakon eliminacijske dijeta, a 14% pasa imalo je dijagnozu IBD-a. KAWANO i sur. (2015.) navode da je 56.2% pasa u njihovom istraživanju imalo FRE. VOLKMANN i sur. (2017.) navode da je 11% pasa imalo ARE, 8% pasa EPI, a kod 4% pasa je dijagnosticiran limfom.

Prema BERGHOFF i sur. (2013.) jedan od najčešćih uzroka snižene koncentracije kobalamina je EPI. U našem istraživanju su svi psi 100% (6/6) koji su imali potvrđenu dijagnozu EPI, imali sniženu koncentraciju kobalamina u serumu. Nadalje njih 83% (5/6) je imalo koncentraciju folne kiseline u referentnim vrijednostima, a 17% pasa (1/6) imalo je povišenu koncentraciju folne kiseline u serumu što se razlikuje od istraživanja SOETART i sur. (2018.) kod kojih je 67% pasa s EPI imalo povišenu koncentraciju folne kiseline, a kod 33% pasa vrijednosti folne kiseline bile su unutar referentnih vrijednosti. Snižena koncentracija kobalamina u našem istraživanju zabilježena je kod 30% pasa (5/17) koji imaju dijagnozu IBD-a, kod 5% pasa (1/17) zabilježena je povišena koncentracija kobalamina dok su kod 64% pasa (11/17) vrijednosti kobalamina u fiziološkim granicama. Njih 24% (4/17) imalo je sniženu koncentraciju folne kiseline, 11% (2/17) ih je imalo povišenu koncentraciju folne kiseline, a kod 64% (11/17) pasa folna kiselina bila je u fiziološkim vrijednostima što djelomično prati literaturu koja kaže da u većini slučajeva kod IBD-a dolazi do deficijencije kobalamina i folne kiseline (GHISAN i KIELA, 2017.). Koncentracija albumina bila je snižena kod 65% (11/17) pasa koji su imali dijagnozu IBD-a, 35% (6/17) pasa imalo je koncentraciju albumina u referentnim vrijednostima dok nijedan pas nije imao povišenu koncentraciju albumina što potvrđuje i literatura koja kaže da je jedan od najčešćih uzroka nastanka PLE upravo IBD (CRAVEN i WASHABAU, 2018.; SCHMITZ i sur. 2019.). Dijagnoza limfoma postavljena je kod 7% pasa (5/68) od kojih je jedan pas (20%) imao sniženu koncentraciju kobalamina, jedan pas (20%) fiziološku koncentraciju dok je 60% (3/5)

pasa imalo povišenu koncentraciju kobalamina. RIZ i sur. (2021.) navode da se povišena koncentracija kobalamina javlja u 11% slučajeva zbog neoplazija, a KATHER (2019.) navodi da se snižena koncentracija kobalamina javlja većinom kod limfocitnog alimentarnog limfoma. U našem istraživanju 28% pasa (19/68) imalo je enteropatiju koja reagira na liječenje koje se bazira na promjeni hrane. Kod 15% pasa (3/19) zabilježena je snižena koncentracija kobalamina, kod 21% (4/19) povišena koncentracija kobalamina dok je kod 64% (12/19) pasa koncentracija kobalamina bila u referentnim vrijednostima. Kod 5% (1/19) pasa koji imaju FRE koncentraciju folne kiseline bila je snižena, 21% (4/19) pasa ima povišenu koncentraciju folne kiseline, a 74% (14/19) pasa ima koncentraciju folne kiseline u referentnim vrijednostima. ALLENSPACH i sur. (2007.) navode u svom istraživanju da je samo 3% pasa (1/39) imalo sniženu koncentraciju kobalamina dok je kod svih ostalih 97% pasa (38/39) koncentracija kobalamina u serumu bila u referentnim vrijednostima. Vrijednosti albumina bile su snižene kod 36% pasa (7/19), u referentnim vrijednostima kod 64% pasa (12/19), a nijedan pas nije imao povišene vrijednosti albumina što se slaže s KAWANO i sur. (2015.) koji navode da 31% pasa s FRE ima hipoalbuminemiju. U našem istraživanju kod 13% pasa (9/68) ustanovljena je enteropatija koja reagira na liječenje primjenom antibiotika. Povišena koncentracija kobalamina zabilježena je kod 11% pasa (1/9) dok je kod 89% pasa (8/9) zabilježena koncentracija kobalamina u referentnim vrijednostima. Folna kiselina bila je snižena kod 11% pasa (1/9), povišena kod 66% pasa (6/9) pasa, a u referentnim vrijednostima kod 23% (2/9) pasa što djelomično odgovara rezultatima koje su objavili HALL (2011.) i WASHABAU i DAY (2013.) koji navode da je kod ARE većinom snižena koncentracija kobalamina i povišena koncentracija folne kiseline. STEINER, (2008.) navodi da kod ARE koncentracija kobalamina i folne kiseline u serumu mogu biti povišene ili je samo koncentracija folne kiseline povišena dok je koncentracija kobalamina u referentnim vrijednostima. U našem istraživanju snižene albumine imalo je 22% pasa (2/9) dok povišene albumine nije imao nijedan pas. Vrijednosti albumina u referentnim vrijednostima zabilježene su kod 78% pasa (7/9) što nije slučaj kod VOLKMANN i sur. (2017.) gdje nije zabilježena pojavnost hipoalbuminemije kod ARE.

Podaci iz literature navode da bi posljedično različitim mjestima apsorpcije, specifične promjene u serumskim koncentracijama kobalamina i folne kiseline mogle dati informacije o lokalizaciji bolesti u crijevima. Također navode da nas određivanje koncentracije kobalamina i folne kiseline u serumu može usmjeriti prema sastavljanju liste diferencijalnih dijagnoza kod pacijenata s kroničnim proljevom ili kroničnim gubitkom težine (HEILMANN i STEINER,

2018.; KATHER i sur., 2019.; TORESSON i sur., 2019.). U našem istraživanju postoji povezanost između specifičnih promjena u serumskim koncentracijama kobalamina i folne kiseline i dijagnoza poput EPI u (100%; 6/6), ARE (67%; 6/9), limfoma (60%; 3/5) te IBD-a (53%; 9/17) što ide u prilog tezi da određivanje tih biomarkera može pravilno usmjeriti put daljnje dijagnostike.

Pet od 68 pacijenata (7%) eutanazirano je zbog nepovoljne prognoze. Četiri od 5 pacijenata (80%) koji su eutanazirani u trenutku eutanazije imali su izrazito sniženu koncentraciju albumina što se podudara s podacima ALLENSPACH i sur. (2017.) kod kojih je 11% pasa eutanazirano zbog loše prognoze, a svi psi su imali sniženu koncentraciju albumina. Tri od 5 pacijenata (60%) koji su eutanazirani u trenutku eutanazije imali su sniženu koncentraciju kobalamina. TORESSON i sur. (2019.) i ALLENSPACH i IENNARELLA-SERVANTEZ (2020.) navode da je snižena koncentracija kobalamina kod kroničnih gastrointestinalnih poremećaja loš prognostički faktor.

6. ZAKLJUČCI

1. Kronični gastrointestinalni poremećaji najčešće se javljaju kod križanaca, malteških psića, njemačkih ovčara i kavalirskih španijela kralja Charlesa srednje do starije dobi.
2. Ne postoji spolna predispozicija za pojavu kroničnih gastrointestinalnih poremećaja.
3. Prosječno trajanje simptoma koje je vlasnike navelo da dovedu životinju na pregled je oko šest mjeseci.
4. Najčešći simptomi koje vlasnici navode u anamnezi su proljev, povraćanje i mršavljenje.
5. Najzastupljenije dijagnoze u pretraživanom uzorku FRE i IBD.
6. Slikovne pretrage: rendgenske i ultrazvučne pretrage u istraživanoj populaciji pasa nisu bile od značaja u postizanju konačne dijagnoze.
7. Zabilježena je pozitivna korelacija između snižene koncentracije albumina i snižene koncentracije kobalamina.
8. Specifične promjene u serumskim koncentracijama kobalamina i folne kiseline mogu dati informacije o lokalizaciji bolesti crijeva.
9. Postoji povezanost između specifičnih promjena u serumskim koncentracijama kobalamina i folne kiseline i dijagnoza poput EPI, ARE, IBD i limfoma što ide u prilog tezi da određivanje tih biomarkera može pravilno usmjeriti put daljnje dijagnostike
10. Snižena koncentracija kobalamina i albumina u serumu kod kroničnih gastrointestinalnih poremećaja prati nepovoljnu prognozu bolesti.

7. POPIS LITERATURE

1. Allenspach, K., B. Wieland, A. Grone, F. Gaschen (2007): Chronic Enteropathies in Dogs: Evaluation of Risk Factors for Negative Outcome. *J Vet Intern Med* 21:700–708
2. Allenspach, K., C. Iennarella-Servantez (2020): Canine protein losing enteropathies and systemic complications. *Vet Clin Small Anim.* 51(1):111-122.
3. Batt, R.M., H.C. Rutgers (2008): Diagnostic tools: Molecular- genetics- based laboratory tests. In: *Small animal gastroenterology* (J. M. Steiner, Ed.). Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover. 67-71.
4. Batt, R.M., N.U. Horadagoda, L. MClean, D. B. Morton, K. W. Simpson (2019): Identification and characterization of a pancreatic intrinsic factor in the dog. *256(3 Pt 1):G517-23.*
5. Berghoff, N., J. S. Suchodolski, J. M. Steiner (2012): Association between serum cobalamin and methylmalonic acid concentrations in dogs. *The Veterinary Journal* 191: 306–311.
6. Berghoff, N., N. K. Parnell, S. L. Hill, J. S. Suchodolski, J. M. Steiner (2013): Serum cobalamin and methylmalonic acid concentrations in dogs with chronic gastrointestinal disease. *Forum of the American College of Veterinary Internal Medicine Vol.74, No.1.* 74(1):84-9
7. Carrasco, V., A. Rodriguez-Bertos, F. Rodriguez-Franco, A. G. Wise, R. Maes, T. Mullaney, M. Kiupel (2014): Distinguishing intestinal lymphoma from inflammatory bowel disease in canine duodenal endoscopic biopsy samples. *Veterinary Pathology OnlineFirst:* 1-8.
8. Craven, M.D., R. J. Washabau (2018): Comparative pathophysiology and management of protein-losing enteropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine:* 1-20.
9. Dandrieux, J.R.S. (2016): Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same?. *Journal of Small Animal Practice* 57: 589–599.
10. Dandrieux, J.R.S., C.S. Mansfield (2019): Chronic enteropathy in canines: Prevalence, impact And management strategies. *Veterinary Medicine: Research and Reports* 10: 203–214.

11. Dixon, A., E. J. Hall, S. Adamantos, A. Kathrani, C. McGrath, V. Black (2021): Hypercoagulability in dogs with chronic enteropathy and association with serum albumin concentration. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 35:860–866.
12. German, A.J., M.J. Day, C.G. Ruaux, J.M. Steiner, D.A. Williams, E.J. Hall (2003): Comparison of direct and indirect tests for small intestinal bacterial overgrowth and antibiotic-responsive diarrhea in dogs. *J Vet Intern Med* 17: 33-43.
13. German, A.J. (2013): Diseases of Gastrointestinal tract: Bacterial overgrowth (Intestinal dysbiosis). In: *Canine and Feline Gastroenterology* (Washabu R. J., M.J. Day). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. 695-699.
14. Ghishan, F.K., P.R. Kiela (2017): Vitamins and Minerals in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Clin N Am.* 46(4):797-808
15. Gieger, T. (2011): Alimentary lymphoma in cats and dogs. *Vet Clin Small Anim* 41: 419–432.
16. Gołynski, M., K. Lutnicki, W. Krumrych, M. Szczepanik, M. Gołynska, P. Wilkołek, Ł. Adamek, Ł. Sitkowski, Ł. Kurek (2017): Relationship between total homocysteine, folic acid and thyroid hormones in hypothyroid dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine.* 31(5):1403-1405
17. Gonzales, K.L., T. R. Famula, L. C. Feng , H. M. N. Power, J. M. Bullis (2021): Folic acid supplementation does not decrease stillbirths and congenital malformations in a guide dog colony. *Journal of Small Animal Practice* 62: 286–292.
18. Hall, E.J. (2013): Diseases of Gastrointestinal tract: Structure and function. In: *Canine and Feline Gastroenterology* (Washabu R. J., M.J. Day). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. 651-663.
19. Hall, E.J. (2011.): Antibiotic-Responsive Diarrhea in Small Animals. *Vet Clin Small Anim* 41: 273–286.
20. Hall, E.J, M.J. Day (2017): Diseases of the Small intestine. In: *Textbook of Veterinary Internal medicine* (Ettinger J., Feldman E., Cote E.), 8th edition, Saunders. 3643-3738.
21. Hanisch, F., L. Toresson, T. Spillmann: Cobalaminmangel bei Hund und Katze. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 46: 309–314.

22. Heilmann, R.M., J.M. Steiner (2018): Clinical utility of currently available biomarkers in inflammatory enteropathies of dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*: 1-14.
23. Hernandez, J., E. Rouillé, F. Chocteau, M. Allard, K. Haurogné, F. Lezin, J. M. Hervé, J-M. Bach, J. Abadie, B. Lieubeau (2021): Nonhypoalbuminemic inflammatory bowel disease in dogs as disease model. *Inflammatory Bowel Diseases*, Volume 27, Issue 12: 1975–1985.
24. Kather, S., N. Grützner, P. H. Kook, F. Dengler, R. M. Heilmann (2019): Review of cobalamin status and disorders of cobalamin metabolism in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 34: 13-28.
25. Kather, S., L. Sielskia, F. Denglerb, A. Jirasekc, R. M. Heilmann (2020): Prevalence and clinical relevance of hypercobalaminaemia in dogs and cats. *The Veterinary Journal* 265: 105547
26. Kawano, K., H. Shimakura, N. Nagata, Y. Masashi, A. Suto, Y. Suto, S. Uto, H. Ueno, T. Hasegawa, T. Ushigusa, T. Naga, Y. Arawatari, K. Miyaji, K. Ohmori, T. Mizuno (2015): Prevalence of food-responsive enteropathy among dogs with chronic enteropathy in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 78(8): 1377–1380.
27. Piplica, A., S. Menčik, A. Gudan Kurilj, B. Artuković, L. Medven Zagradišnik, M. Hohšteter (2020): Razlikovanje alimentarnog limfoma od upalne bolesti crijeva te utjecaj pasmine i dobi na pojavnost patoloških promjena u probavnom sustavu pasa. *Veterinarska stanica* 51: 293-304.
28. Poulin, R.V. (2018): Inflammatory Bowel Disease (IBD). *Pacific Veterinary Conference* 14(1):21.
29. Riz, F.D., P. Higgs, G. Ruiz (2021): Diseases associated with hypercobalaminemia in dogs in United Kingdom: A retrospective study of 47 dogs. *The Canadian Veterinary Journal* 62(6): 611-616.
30. Ruaux, C.G. (2008): Diagnostic tools: Laboratory tests for the diagnosis of the intestinal disorders. In: *Small animal gastroenterology* (J. M. Steiner, Ed.). Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover. 50-55.

31. Schmitz, S.S., A. Gow, N. Bommer, L. Morrison, R. Mellanby (2019): Diagnostic features, treatment, and outcome of dogs with inflammatory protein-losing enteropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*: 1-9.
32. Soetart, N., D. Rochela, A. Drutb, L. Jaillardon (2019): Serum cobalamin and folate as prognostic factors in canine exocrine pancreatic insufficiency: An observational cohort study of 299 dogs. *The Veterinary Journal* 243: 15-20.
33. Stanley, E., E.Appleman, A. Schlag, A. Siegel (2018): Relationship between cobalamin and folate deficiencies and anemia in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* published by Wiley Periodicals: 1-8.
34. Steiner, J.M. (2005): Laboratory evaluation of gastrointestinal disease. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Gastroenterology* (Hall, E.J. , J.W. Simpson, D.A. Williams, ur.), British Small Animal Veterinary Association. 13-21.
35. Steiner, J.M. (2017): Laboratory evaluation of the gastrointestinal tract: Laborytory tools to assess intestinal function and disease. In: *Textbook of Veterinary Internal medicine* (Ettinger J., Feldman E., Cote E.), 8th edition, Saunders. 3530-3536.
36. Suchodolski, J.S. (2008): Small Intestine: Alterations in the small intestinal microflora (Small intestinal bacterial overgrowth). In: *Small animal gastroenterology* (J. M. Steiner, Ed.). Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover.202-207.
37. Texas A&M University, Veterinary medicine and Biochemical Sciences: Folate information: <https://vetmed.tamu.edu/gilab/research/folate-information/>, pristupljeno 7.2.2022.
38. Toresson, L., J.M. Steiner, E. Spodsberg, G. Olmedal, J.S. Suchodolski, J.A. Lidbury, T. Spillmann (2019): Effects of oral versus parenteral cobalamin supplementation on methylmalonic acid and homocysteine concentrations in dogs with chronic enteropathies and low cobalamin concentrations. *The Veterinary Journal* 243: 8-14.
39. Toresson, L., J. M. Steiner, E. Spodsberg, G. Olmedal, J. S. Suchodolski, J. A. Lidbury, T. Spillmann (2021): Effects of oral cobalamin supplementation on serum cobalamin concentrations in dogs with exocrine pancreatic insufficiency: A pilot study. *The Veterinary Journal* 269: 105619

40. Volkman, M., J.M. Steiner, G.T. Fosgate, J. Zentek, S. Hartmann, B. Kohn (2017): Chronic Diarrhea in Dogs – Retrospective Study in 136 Cases. *J Vet Intern Med* 31:1043–1055
41. Washabau, R.J. (2013): Integration of Gastrointestinal Function. In: *Canine and Feline Gastroenterology* (Washabu R. J., M.J. Day). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. 1-31.
42. Westermarck, E., M. Wiberg (2012): Exocrine Pancreatic Insufficiency in the Dog: Historical Background, Diagnosis and Treatment. *Companion Animal Medicine* 27: 96-103.
43. Wiberg, M.A., E. Westermarck (2002): Subclinical exocrine pancreatic insufficiency in dogs. *JAVMA*, Vol 220, No. 8: 1183-1187.
44. Wiberg, M.E. (2004): Pancreatic acinar atrophy in German shepherd dogs and rough-coated collies. Etiopathogenesis, diagnosis and treatment. A review. *Veterinary Quarterly*, 26(2): 61-75.
45. Willard, D.M. (2012): Alimentary neoplasia in geriatric dogs and cats. *Vet Clin Small Anim* 42: 693–706.
46. Willard, M.D. (2013): Diseases of Gastrointestinal tract: Malabsorption. In: *Canine and Feline Gastroenterology* (Washabu R. J., M.J. Day). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. 678-683.
47. Willard, M.D. (2020): Disorders of the intestinal tract: Diagnostic tests for the alimentary tract. In: *Small animal internal medicine* (Ed. Nelson R., Couto G.), 6th ed., Mosby Elsevier, Missouri. 412-431.
48. Willard, M.D. (2020): Disorders of the intestinal tract: Maldigestive disease. In: *Small animal internal medicine* (Ed. Nelson R., Couto G.), 6th ed., Mosby Elsevier, Missouri. 412-431.
49. Willard, M.D. (2020): Disorders of the intestinal tract: Non-protein-losing malabsorptive diseases. In: *Small animal internal medicine* (Ed. Nelson R., Couto G.), 6th ed., Mosby Elsevier, Missouri. 491-493.
50. Willard, M.D. (2020): Disorders of the intestinal tract: Relation of small intestinal dietary-responsive diarrhea and antibiotic-responsive enteropathy. In: *Small animal internal medicine* (Ed. Nelson R., Couto G.), 6th ed., Mosby Elsevier, Missouri. 493-494.

51. Xenoulis, P.G., J.M.Steiner (2013): Disease of Gastrointestinal tract: Diagnostic evaluation of the pancreas. In: Canine and Feline Gastroenterology (Washabu R. J., M.J. Day). Elsevier Saunders. St. Louis, Missouri. 803-812.

8. SAŽETAK

Koncentracija funkcionalnih biomarkera kobalamina i folne kiseline u serumu kod pasa s kroničnim gastrointestinalnim poremećajima: retrospektivna studija

Simtomi poremećaja gastrointestinalnog sustava jedni su od glavnih problema zbog kojih vlasnik dovodi svog psa na pregled kod veterinara. Kronični gastrointestinalni problemi zahtjevaju opsežnu dijagnostiku te potom ciljano liječenje. Uz standardne dijagnostičke postupke posljednjeg desetljeća razvijaju se i druge pretrage poput biomarkera koji bi mogli pomoći u dijagnostičkoj procjeni ili prognozi kod pacijenata sa kroničnim gastrointestinalnim poremećajima. U ovom radu obrađena su dva biomarkera: kobalamin i folna kiselina.

Arhiva Klinike za unutarnje bolesti Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pretražena je kako bi se obradili podaci svih pasa s kroničnim gastrointestinalnim problemima u razdoblju od 1. siječnja 2017. do 1. rujna 2021.. Uz standardne pretrage kod svih pasa uključenih u ovo istraživanje morale su biti određene i koncentracije biomarkera kobalamina i folne kiseline. Postavljene kriterije istraživanja ispunilo je 68 pasa. Najzastupljenije pasmine s kroničnim gastrointestinalnim problemima bile su križanci, malteški psić, njemački ovčar, kavalirski španijel kralja Charlesa, labrador retriever i lagotto romagnolo. Prosječno trajanje simptoma bilo je oko 6 mjeseci. Najčešći simptomi bili su povraćanje, proljev i mršavljenje. Najzastupljenije dijagnoze u istraživanoj skupini bile su enteropatija koja reagira na liječenje bazirano na promjeni hrane (FRE), upalna bolest crijeva (IBD), enteropatija koja reagira na liječenje antibioticima (ARE), egzokrina insuficijencija gušterače (EPI) i limfom. Hipoalbuminemiju je imalo 37% pasa (25/68), od toga je 36% pasa (9/25) imalo sniženu koncentraciju kobalamina. Rezultati sugeriraju da postoji povezanost između specifičnih promjena u serumskim koncentracijama kobalamina i folne kiseline i dijagnoza poput EPI u (100%; 6/6), ARE (67%; 6/9), limfoma (60%; 3/5) te IBD-a (53%; 9/17). Zbog nepovoljne prognoze eutanazirano je 5 od 68 pacijenata (7%), 4 od 5 pacijenata (80%) je u trenutku eutanazije imalo izrazito sniženu koncentraciju albumina, a 3/5 pacijenata (60%) je imalo sniženu koncentraciju kobalamina.

Specifične promjene u serumskim koncentracijama kobalamina i folne kiseline mogu dati informacije o lokalizaciji bolesti crijeva. U istraživanju je utvrđena povezanost između promjena u serumskim koncentracijama kobalamina i folne kiseline i dijagnoza poput EPI,

ARE, IBD i limfoma, što se može koristiti pri odabiru daljnjih dijagnostičkih postupaka. Snižena koncentracija kobalamina i albumina u serumu kod kroničnih gastrointestinalnih poremećaja prati nepovoljnu prognozu bolesti.

Ključne riječi: pas; kobalamin; folna kiseline; kronične enteropatije; egzokrina insuficijencija gušterače

9. SUMMARY

Serum concentrations of functional biomarkers folate and cobalamin in dogs with chronic enteropathies: a retrospective study

Symptoms of the gastrointestinal disorders are one of the main problems due to which the owner brings his dog to the vet. Chronic gastrointestinal problems require extensive diagnostics followed by specific treatment. Cobalamin and folate are functional biomarkers of gastrointestinal permeability and absorptive function. Variations in serum cobalamin and folate concentrations can, because of their absorption in different parts of intestine (cobalamin is absorbed in the distal small intestine and folate in proximal small intestine), indicate localization and help in diagnosing a specific intestinal disease.

This study included 68 dogs that were admitted to the Clinic for Internal Diseases at the Faculty of Veterinary Medicine of University of Zagreb from 1st of January 2017 to 1st of September 2021 with chronic signs of gastrointestinal disease. All dogs included in the study had their serum cobalamin and folate concentration measured. The most common breeds were mixed breed, Maltese, German Shephard, Cavalier Spaniel of King Charles, Labrador Retriever and Lagotto Romagnolo. The average duration of clinical signs was about six months. The most common clinical signs were vomiting, diarrhea and weight loss. The most common gastrointestinal diseases that interfered with cobalamin and folate metabolism were IBD, FRE, ARE, lymphoma and EPI. Serum albumin concentration was decreased in 37% of the dogs (25/68), and 36% of them (9 dogs) had decreased serum cobalamin concentration. There is evidenced correlation between changes in serum cobalamin and folate and EPI (100%; 6/6), ARE (67%; 6/9), lymphoma (60%; 3/5) and IBD (53%; 9/17). Decreased serum cobalamin and albumin concentrations in chronic gastrointestinal disorders is negative prognostic indicator.

Key words: dog; cobalamin; folate; chronic enteropathies; exocrine pancreatic insufficiency

10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 11.04.1996. u Čakovcu gdje sam završila Gimnaziju Josipa Slavenskog. Po završetku srednje škole 2015.godine upisala sam Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Od treće godine studija članica sam studentskih udruga, IVSA (International Veterinary Students' Association) i USVM (Udruga studenata veterinarske medicine). Bila sam tajnica USVM-a od 2019.-2021. godine. Sudjelovala sam na razmjeni s IVSA Alfort, Francuska. 2019. godine bila sam član organizacijskog odbora 68.IVSA kongresa koji se održao u Zagrebu i za koji smo nagrađeni Rektorovom nagradom za društveno koristan rad u akademskoj i široj zajednici.

Od 2018. godine volonter sam na Klinici za unutarnje bolesti veterinarskog fakulteta u Zagrebu. Od 2019. demonstrator sam na predmetima Klinička propedeutika i Unutarnje bolesti.

Kroz studij sudjelovala sam na nekoliko kongresa, skupova i projekata: 68th IVSA Congress Croatia, 2nd European Veterinary Students Seminar, Veterinary science and profession, 12th DDL Veterinary Seminar, 32nd EAEVE General Assembly in Zagreb, Plavi projekt - doprinos razvoju programa društveno korisnog učenja na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu, 2nd international scientific and professional meeting on reptiles and exotic animals „Reptilia” u sklopu kojeg sam izlagala poster na temu “Encephalitozoon cuniculi in rabbits: review of clinical cases (2016 – 2021)“.

Jednomjesečnu praksu u sklopu CEEPUS programa odradila sam na Veterinarskom fakultetu u Brnu.