

UNIVERZA V LJUBLJANI  
VETERINARSKA FAKULTETA

**VPLIV NAČINA PORODA NA POKAZATELJE STRESA PRI  
NOVOROJENIH PSIH IN NJIHOVO PREŽIVETJE**

**IMPACT OF PARTURITION TYPE ON STRESS  
INDICATORS IN NEWBORN PUPPIES AND THEIR  
SURVIVAL**

Aleksandra Slapšak in Sara Raspot

Ljubljana, 2018



UNIVERZA V LJUBLJANI  
VETERINARSKA FAKULTETA

UDK 636.7.083.14:636.082.456:616-036.8:612.12(043.2)

**VPLIV NAČINA PORODA NA POKAZATELJE STRESA PRI  
NOVOROJENCIH IN NJIHOVO PREŽIVETJE**

**IMPACT OF PARTURITION TYPE ON STRESS  
INDICATORS IN NEWBORN PUPPIES AND THEIR  
SURVIVAL**

Aleksandra Slapšak in Sara Raspot

Delo je pripravljeno v skladu s Pravilnikom o podeljevanju Prešernovih nagrad študentom, pod mentorstvom doc. dr. Tanje Plavec, dr. vet. med. in somentorstvom asist. dr. Maje Zakošek Pipan, dr. vet. med., na Kliniki za male živali in Kliniki za reprodukcijo Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani.

Ljubljana, 2018

## POVZETEK

**Ključne besede:** Psi – fiziologija; novorojeni – rast in razvoj; porod – metode, carski rez, smrtnost, stopnje, preživetje; ocena po Apgarjevi; laktat – kri; glukoza – kri; kortizol – urin

Z raziskavo smo ugotavljali vpliv načina poroda na pokazatelje stresa pri novorojenih psih, njihov prirast ter smrtnost v prvem tednu življenja. Vključili smo 123 mladičev, ki so se skotili 20 psicam in jih glede na način poroda razdelili v tri skupine: elektivni carski rez, urgentni carski rez in vaginalni porod. Po porodu smo pri mladičih opravili modificirano oceno po Apgarjevi in oceno refleksov, plinsko analizo popkovne krvi z določanjem laktata in glukoze, določili smo koncentracijo laktata, glukoze in kortizola v amnijski tekočini ter koncentracijo kortizola v urinu mladičev takoj po porodu. Teden dni smo spremljali prirast mladičev in ugotavljali njegovo povezavo z izmerjenimi parametri. Mrtvorjenih mladičev je bilo 7 %, v prvem tednu jih je poginilo še 4 %, pogin ni bil odvisen od načina poroda. Po 5 minutah je bilo slabo vitalnih mladičev 31 %, po 15 minutah 9 %, po 60 minutah pa le še 1 %. Največ slabo vitalnih mladičev po 5 minutah je bilo v skupini elektivnega carskega reza (72 %). Nasprotno je bilo v skupinah mladičev skotenih z urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom največ mladičev dobro vitalnih (67 % in 95 %). Pri oceni po Apgarjevi po 15 minutah je bilo dobro vitalnih mladičev pri elektivnem carskem rezu 55 %, pri urgentnem carskem rezu 74 % in pri vaginalnem porodu 96 %. Oceni po Apgarjevi po 5 in 15 minutah sta bili statistično značilno povezani z načinom poroda, po 60 minutah te povezave več ni bilo. Koncentraciji kortizola v amnijski tekočini in urinu zelo visoko korelirata. Najvišje koncentracije kortizola so imeli mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom ( $14,01 \pm 4,10$  ng/ml v amnijski tekočini in  $16,70 \pm 4,01$  ng/ml v urinu), nato vaginalnim porodom ( $9,24 \pm 2,36$  ng/ml v amnijski tekočini in  $10,62 \pm 2,47$  ng/ml v urinu) in najnižje tisti v skupini elektivnega carskega reza ( $3,83 \pm 2,40$  ng/ml v amnijski tekočini in  $4,33 \pm 2,20$  ng/ml v urinu). Razlike v koncentraciji kortizola v amnijski tekočini in urinu med skupinami so bile statistično značilne. Ugotovili smo srednjo korelacijo med koncentracijo glukoze v amnijski tekočini in popkovni krvi, ter med glukozo in oceno po Apgarjevi po 5 in 15 minutah. Mladiči, skoteni z urgentnim carskim rezom, so imeli v amnijski tekočini koncentracijo glukoze  $2,73 \pm 2,40$  mmol/l, skoteni z vaginalnim porodom  $3,81 \pm 0,89$  mmol/l, skoteni z elektivnim carskim rezom pa  $2,80 \pm 1,42$  mmol/l. Razlika v koncentraciji glukoze v amnijski tekočini med urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom je bila statistično značilna, pri koncentraciji glukoze v popkovni krvi med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik. Koncentraciji laktata v popkovni krvi in amnijski tekočini zelo visoko korelirata. Koncentracija laktata v popkovni krvi in amnijski tekočini je negativno srednje korelirala z relativnim prirastom mladičev. Najnižje koncentracije laktata v popkovni krvi in amnijski tekočini so imeli mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom ( $3,90 \pm 1,92$  mmol/l v krvi in  $9,11 \pm 2,88$  mmol/l v amnijski tekočini), višje mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom ( $4,23 \pm 1,31$  mmol/l v krvi in  $10,25 \pm 6,82$  mmol/l v amnijski tekočini), najvišje pa mladiči v skupini vaginalnega poroda ( $10,41 \pm 3,85$  mmol/l v krvi in  $12,24 \pm 3,64$  mmol/l v amnijski tekočini). Razlika v koncentraciji laktata v krvi med urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom ter elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom je bila statistično značilna. Statistično značilna je bila tudi razlika v koncentraciji laktata v amnijski tekočini med elektivnim

carskim rezom in vaginalnim porodom. V prvem tednu življenja smo ugotovili statistično značilno razliko med relativnim prirastom mladičev skotnih z elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom na drugi in tretji dan po porodu. Pri tem so najbolje priraščali mladiči skoteni z vaginalnim porodom, najslabše pa tisti skoteni z elektivnim carskim rezom, a se je statistično značilna razlika med vsemi tremi skupinami mladičev pojavila le drugi dan po porodu. Način poroda vpliva na prirast mladičev predvsem v prvem tednu življenja.

## SUMMARY

**Key words:** Dogs – physiology; animals, newborn – growth and development; labor – methods; cesarean section; labor, obstetrics; mortality; survival rate; Apgar score; lactic acid – blood; glucose – blood; hydrocortisone – urine

The aim of the study was to assess the impact of parturition type on stress indicators in newborn puppies and their weight gain and survival in the first week after birth. We included 123 puppies (whelped by 20 bitches) which were divided into groups according to type of parturition: vaginal parturition, emergency cesarean section, elective cesarean section. After birth we determined puppy viability via the modified Apgar score and reflex scoring and measured concentrations of lactate and glucose in amniotic fluid and umbilical blood. We also measured cortisol concentrations in amniotic fluid and puppy urine. Puppy weight gain was monitored for one week. There was a total of 7 % stillborn puppies and 4 % of puppies died within the first week of life. The parturition type had no effect on puppy mortality. After 5 minutes 31 % of puppies were severely stressed, after 15 minutes 9 % and after 60 minutes only 1 %. Most severely stressed puppies after 5 minutes were in the elective cesarean section group (72 %). In contrast most puppies born via emergency cesarean section or vaginal parturition were healthy after 5 minutes (67 % and 95 %). After 15 minutes 55 % of puppies deemed healthy in the elective cesarean group, 74% in the emergency cesarean group and 96 % in the vaginal parturition group. The Apgar scores 5 and 15 minutes after birth were statistically linked to the type of parturition, after 60 minutes we established no such link. We found a very strong correlation between cortisol concentrations in amniotic fluid and urine. Puppies born via emergency cesarean section had the highest cortisol concentrations ( $14,01 \pm 4,10$  ng/ml in amniotic fluid and  $16,70 \pm 4,01$  ng/ml in urine), followed by vaginal parturition ( $9,24 \pm 2,36$  ng/ml in amniotic fluid and  $10,62 \pm 2,47$  ng/ml in urine) and elective cesarean section ( $3,83 \pm 2,40$  ng/ml in amniotic fluid and  $4,33 \pm 2,20$  ng/ml in urine). There was a statistically significant difference in amniotic fluid and urine cortisol concentrations between the different groups. We found a moderate correlation between glucose concentrations in amniotic fluid and umbilical blood, and between glucose and Apgar scores after 5 and 15 minutes. The lowest amniotic fluid glucose concentrations were found in the elective cesarean section group ( $2,80 \pm 1,42$  mmol/l), followed by emergency cesarean section ( $2,73 \pm 2,40$  mmol/l) and lastly vaginal parturition ( $3,81 \pm 0,89$  mmol/l). There was a statistically significant difference in amniotic fluid glucose concentrations between the emergency cesarean section and vaginal parturition groups, but there were no differences in umbilical blood glucose concentrations between groups. There was a very strong correlation between lactate concentrations in umbilical blood and amniotic fluid. We also found a moderate negative correlation between lactate concentrations and puppy weight gain in the first week after birth. The lowest lactate concentrations were found in puppies born with elective cesarean section ( $3,90 \pm 1,92$  mmol/l in umbilical blood and  $9,11 \pm 2,88$  mmol/l in amniotic fluid), followed by the emergency cesarean section group ( $4,23 \pm 1,31$  mmol/l in umbilical blood and  $10,25 \pm 6,82$  mmol/l in amniotic fluid) and the vaginal parturition group ( $10,41 \pm 3,85$  mmol/l in umbilical blood and  $12,24 \pm 3,64$  mmol/l in amniotic fluid). There was a statistically significant difference in umbilical blood lactate concentration between the emergency cesarean section and vaginal parturition groups. A

statistically significant difference was also found in amniotic fluid lactate concentrations between the elective cesarean section and vaginal parturition groups. In first week we found a statistically significant difference in weight gain in puppies born with elective cesarean section and vaginal parturition on the second and third day. Puppies born via vaginal parturition gained the most weight, and those born via elective cesarean section the least. Despite this, statistical differences between all puppy groups were only apparent on day 2 after birth. We can therefore conclude, that parturition type affects puppies for the first week of their life.

## KAZALO VSEBINE

<b>1 UVOD .....</b>	<b>13</b>
1.1 OPREDELITEV PROBLEMA.....	13
1.2 CILJ RAZISKOVANJA .....	14
1.3 DELOVNE HIPOTEZE .....	14
<b>2 PREGLED LITERATURE .....</b>	<b>15</b>
2.1 KAJ SPROŽI POROD – HORMONSKE SPREMEMBE V ČASU PORODA .....	15
2.2. POROD .....	16
2.2.1. Prva stopnja poroda.....	16
2.2.2 Druga in tretja stopnja poroda.....	17
2.3. DISTOCIJA .....	18
2.3.1. Etiologija distocije .....	18
2.3.2 Distocija pri različnih pasmah.....	19
2.3.3 Klinični znaki/diagnostika distocije.....	19
2.3.4 Zdravljenje distocije.....	22
2.4 CARSKI REZ .....	23
2.4.1 Elektiven carski rez.....	23
2.4.2 Urgenten carski rez .....	26
2.4.3 Anestezija pri carskemu rezu .....	26
2.4.4 Kirurški poseg .....	27
2.5 OCENA PO APGARJEVI.....	27
2.6 PLINSKA ANALIZA KRVI .....	29
2.6.1 Plinska analiza krvi novorojencev v humani medicini .....	29
2.6.2 Interpretacija rezultatov plinske analize .....	31
2.6.3 Plinska analiza krvi novorojencev v veterini .....	33
2.6.4 Merjenje laktata in glukoze v krvi novorojencev v veterini .....	34
2.7 PRIRAST MLADIČEV IN IZGUBE V PRVIH DNEH ŽIVLJENJA.....	36
<b>3 MATERIALI IN METODE .....</b>	<b>38</b>
3.1 MATERIALI .....	38
3.2 METODE .....	38
3.2.1 Kirurški poseg – carski rez in odvzem vzorcev .....	38
3.2.1.1 <i>Pregled pred anestezijo</i> .....	38

3.2.1.2 Anestezija brejih živali vključenih v raziskavo.....	39
3.2.1.3 Določanje najugodnejšega časa za elektiven carski rez .....	39
3.2.1.4 Carski rez in pridobitev vzorcev.....	41
3.2.2 Vaginalni porod in odvzem vzorcev .....	42
3.2.3 Vzorci in obdelava .....	43
3.2.3.1 Plinska analiza amnijske tekočine in popkovne krvi .....	43
3.2.3.2 Določanje laktata v amnijski tekočini in popkovni krvi .....	44
3.2.3.3 Določanje glukoze v amnijski tekočini in popkovni krvi .....	44
3.2.3.4 Določanje kortizola v urinu in amnijski tekočini .....	44
3.2.4 Ocenjevanje novorojencev .....	45
3.2.4.1 Ocena po Apgarjevi.....	45
3.2.4.1 Ocena refleksov.....	46
3.2.5 Analiza podatkov .....	47
<b>4 REZULTATI .....</b>	<b>48</b>
4.1 OSNOVNI PODATKI O PRIDOBLEJENIH VZORCIH .....	48
4.2 OCENA PO APGARJEVI – VITALNOST MLADIČEV .....	49
4.2.1 Ocena po Apgarjevi po 5 minutah .....	50
4.2.2 Ocena po Apgarjevi po 15 minutah .....	51
4.2.3 Ocena po Apgarjevi po 60 minutah .....	52
4.2.4 Povezava med oceno po Apgarjevi in načinom poroda .....	52
4.3 OCENA REFLEKSOV PRI NOVOROJENIH MLADIČIH .....	54
4.4 SPECIFIČNA TEŽA AMNIJSKE TEKOČINE.....	56
4.5 KONCENTRACIJA KORTIZOLA V AMNIJSKI TEKOČINI .....	56
4.6 KONCENTRACIJA KORTIZOLA V URINU .....	57
4.7 KONCENTRACIJA GLUKOZE V POPKOVNI KRVI.....	58
4.8 KONCENTRACIJA GLUKOZE V AMNIJSKI TEKOČINI.....	59
4.9 KONCENTRACIJA LAKTATA V POPKOVNI KRVI.....	60
4.10 KONCENTRACIJA LAKTATA V AMNIJSKI TEKOČINI .....	61
4.11 RELATIVNI PRIRAST.....	62
4.12 PLINSKA ANALIZA POPKOVNE KRVI.....	65
4.13 KORELACIJE .....	66
<b>5 RAZPRAVA .....</b>	<b>69</b>

<b>6 SKLEPI .....</b>	<b>79</b>
<b>7 ZAHVALE .....</b>	<b>80</b>
<b>8 LITERATURA .....</b>	<b>81</b>
<b>9 PRILOGE .....</b>	<b>87</b>
9.1 PRILOGA 1 – IZJAVA O SODELOVANJU V RAZISKAVI.....	87
9.2 PRILOGA 2 – OBRAZEC ZA DOLOČANJE APGAR OCENE IN REFLEKSOV .....	88

## KAZALO TABEL

Tabela 1: Število (delež) mladičev vključenih v raziskavo glede na velikost psice.....	48
Tabela 2: Število in delež mladičev pri posameznih načinih poroda in spolu, ter število živorojenih in mrtvorojenih mladičev. ....	49
Tabela 3: Število (delež) mladičev v različnih skupinah vitalnosti glede na oceno po Apgarjevi. ....	50
Tabela 4: Število (delež) mladičev z določeno oceno refleksov 5, 15 in 60 minut po porodu razdeljenih v skupine glede na način poroda. ....	55
Tabela 5: Število in delež mladičev razdeljenih v različne skupine glede na stopnjo odzivnosti refleksov.....	56
Tabela 6: Povprečja relativnih prirastov mladičev rojenih z elektivnim in urgentnim carskim rezom ter vaginalnim porodom. ....	62
Tabela 7: Spearmanov koeficient korelacije med izmerjenimi parametri v krvi in amnijski tekočini. ....	66

## KAZALO SLIK

Slika 1: Diagnostika in zdravljenje distocije (Feldman in Nelson, 2004b) .....	21
Slika 2: Določanje vitalnosti ploda s pomočjo UZ (arhiv: Medical Genetics and Reproduction, Penn University, 2015) .....	25
Slika 3: Določanje števila in velikosti plodov 10 dni pred porodom s pomočjo rentgena (arhiv: Medical Genetics and Reproduction, Penn University, 2015).....	26
Slika 4: Preoksigenacija psice (Plavec, 2011).....	40
Slika 5: Vaginalni bris pri psici prikazuje proestrus. Barvilo: Diff Quick, povečava 200x (Zakošek Pipan, 2017).....	40
Slika 6: Vaginalni bris pri psici v obdobju estrusa. Barvilo: Diff Quick, povečava 400x (Zakošek Pipan, 2015).....	41
Slika 7: Iztis mladiča iz amnijskega mehurja pri carskem rezu (Zakošek Pipan, 2017) ....	42
Slika 8: Vaginalni porod pri psici. Na sliki je mladič, ki se je porodil potem, ko je amnijski mehur že počil (arhiv: Medical Genetics and Reproduction, Penn University, 2009).....	43
Slika 9: Dovajanje kisika mladiču skotenem po elektivnem carskem rezu, ter ocena vzdražljivosti. Mladič močno podrgnemo po hrbtnem delu in ocenujemo njegovo oglašanje in premikanje (Maja Zakošek Pipan, 2017). .....	46
Slika 10: Ocenjevanje sesalnega refleksa pri mladiču (Plavec, 2017) .....	47
Slika 11: Primerjava števila točk ocene po Apgarjevi po 5 minutah med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom. .	51
Slika 12: Primerjava števila točk ocene po Apgarjevi po 15 minutah med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom. .	52
Slika 13: Število in delež mladičev glede na način poroda in Apgar razred po 5 minutah.	53
Slika 14: Število in delež mladičev glede na način poroda in Apgar razred po 15 minutah.	54
Slika 15: Število in delež mladičev glede na način poroda in Apgar razred po 60 minutah.	54

Slika 16: Primerjava koncentracije kortizola v amnijski tekočini med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom. .	57
Slika 17: Primerjava koncentracije kortizola v urinu med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom.....	58
Slika 18: Primerjava koncentracije glukoze v amnijski tekočini med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom. .	59
Slika 19: Primerjava koncentracije laktata v popkovni krvi med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom.....	60
Slika 20: Primerjava koncentraciji laktata v amnijski tekočini med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom. .	61
Slika 21: Relativni prirasti mladičev v prvem tednu (s črtami so prikazana povprečja glede na način poroda). .....	62
Slika 22: Primerjava relativnega prirasta mladičev na drugi dan med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom.....	63
Slika 23: Primerjava relativnega prirasta mladičev na tretji dan med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom.....	64
Slika 24: Primerjava relativnega prirasta mladičev na četrtni dan med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom.....	65
Slika 25: Zelo visoka korelacija in močna statistična značilnost med koncentracijo kortizola v urinu in amnijski tekočini.....	67
Slika 26: Zelo visoka korelacija in močna statistična značilnost med koncentracijo laktata v popkovni krvi in amnijski tekočini .....	67
Slika 27: Visoka korelacija in močna statistična značilnost med oceno po Apgarjevi po 5 in 15 minutah. ....	68
Slika 28: Srednja korelacija in močna statistična značilnost med relativnim prirastom mladičev in koncentracijo laktata v popkovni krvi. ....	68

## SEZNAM OKRAJŠAV IN SIMBOLOV

ACTH	adrenokortikotropni hormon
CO <sub>2</sub>	ogljikov dioksid
CV	koeficient variacije
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	bikarbonat
IE	internacionalne enote
LH	luteinizirajoči hormon
PCO <sub>2</sub>	delni tlak ogljikovega dioksida
PGF <sub>2α</sub>	prostaglandin F2alfa
PO <sub>2</sub>	delni tlak kisika
RTG	rentgen
SO <sub>2</sub>	saturacija hemoglobina s kisikom
UZ	ultrazvok

## 1 UVOD

### 1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Porod je izredno naporen proces, tako za samo psico, kot za mladiče, ki se morajo prilagoditi na novo življenje izven maternice in tako prestati zadnjo spremembo v razvoju od plodu do novorojenca. Največja sprememba nastopi tik po porodu, izmenjava dihalnih plinov, ki je prej potekala prek placente, se mora vzpostaviti prek pljuč. Tekom poroda pride do kratke asfiksije (zadušitev) plodu hkrati s krčenjem maternice, kar vodi v prehodno hiperkapnijo (nenormalno povečana koncentracija ogljikovega dioksida v krvi) in acidemijo (znižan pH krvi). Ti dražljaji so ključnega pomena za razvoj plodu, saj spodbudijo sintezo surfaktanta, jetrnih in prebavnih encimov in epidermalnih proteinov (Vannucchi in sod., 2012). Bolezni in izgube novorojencev so pogost in včasih neizogiben problem pri vzreji pasemskeih psov. Izgube lahko nastopijo že v maternici, tekom poroda, tik po porodu ali v prvih tednih življenja. Število smrti mladičev je najvišje tekom poroda, tik po porodu in v prvih dneh življenja. Smrtnost niha od 5% do 35%, odvisno od nevarnosti, ki nastopijo, kot so distocija, dolžina in vrsta intervencije med porodom, reja v sorodstvu, genetske napake in malformacije, bolezni matere, cepitveni status matere, nizka obporodna teža mladičev, okoliški pogoji ali prisotnost infekcijskih povzročiteljev. Večina ne infekcijskih vzrokov poveča možnost za okužbo (Münnich, 2008).

Visoko smrtnost bi lahko z ustreznim nadzorom znižali tako, da od začetka spremljamo celoten reproduksijski proces, predvsem pa ob rojstvu nudimo ustrezno veterinarsko oskrbo in budno skrbimo za mladiče v prvih dneh po porodu (Bolis in sod., 2017).

Merjenje specifičnih biomarkerjev, kot so laktat, kortizol in glukoza v amnijski tekočini ali popkovni krvi in opazovanje ter točkovanje parametrov vitalnosti z modificirano oceno po Apgarjevi ter ocenjevanje refleksov v prvi uri življenja, bi lahko omogočilo razlikovanje med zdravimi mladiči in tistimi potrebujejo intenzivno veterinarsko pomoč (Groppetti in sod., 2015).

## 1.2 CILJ RAZISKOVANJA

S pomočjo raziskave smo želeli ugotoviti povezavo med različnimi biokemijskimi parametri, merjenimi v popkovni krvi, amnijski tekočini in urinu mladičev ter načinom poroda (urgentni in elektivni carski rez ter vaginalni porod), nato pa preveriti uporabnost teh parametrov za napovedovanje vitalnosti mladičev in njihovega prirasta v prvih tednih po porodu. Zanimala nas je tudi uporabnost modificirane ocene po Apgarjevi mladičev po porodu, njena korelacija z načinom poroda in njena povezava s prirastom in razvojem mladiča v prvem tednu življenja.

## 1.3 DELOVNE HIPOTEZE

1. Z merjenjem laktata v popkovni krvi pasjih mladičev po porodu lahko določimo njihovo vitalnost in verjetnost preživetja v prvih 24 urah po porodu.
2. Višje koncentracije laktata v popkovni krvi so povezane z manj vitalnimi mladiči, in višjo smrtnostjo mladičev po porodu.
3. Mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom imajo najvišje koncentracije laktata v popkovni krvi, tisti skoteni z vaginalnim porodom nižje, mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom pa imajo koncentracije laktata v popkovni krvi najnižje izmed vseh treh skupin.
4. Mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom imajo najvišje koncentracije laktata v amnijski tekočini, tisti skoteni z vaginalnim porodom nižje, pri mladičih, ki so skoteni z elektivnim carskim rezom pa so koncentracije najnižje izmed vseh treh skupin.
5. Mladiči z višjimi vrednostmi laktata v popkovni krvi po porodu imajo nižje vrednosti po Apgarjevi.
6. Najvišje vrednosti ocene po Apgarjevi po porodu dosegajo mladiči skoteni z vaginalnim porodom, najnižje pa mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom.
7. Z analizo laktata v amnijski tekočini lahko napovemo kako bodo mladiči napredovali v prvem tednu življenja.
8. Elektivni carski rez je manj stresen za mladiče kot urgentni carski rez.

## 2 PREGLED LITERATURE

### 2.1 KAJ SPROŽI POROD – HORMONSKE SPREMEMBE V ČASU PORODA

Tekom brejosti se maternica zaradi rasti plodu veča in razteguje. Progesteron igra pomembno vlogo pri vzdrževanju brejosti, saj zmanjša krčljivost maternične mišičnine in ohranja močno skrčen maternični vrat. Pri psu je tekom brejosti edini vir progesterona rumeno telo, katerega delovanje in razvoj spodbujata luteinizirajoči hormon (LH) in prolaktin (Feldman in Nelson, 2004a). Razvoj plodu omogoča spremembe, ki sprožijo proces poroda. Ključni organski sistem ploda, odgovoren za začetek poroda, je plodova skorja nadledvične žleze skupaj s hipotalamusom in adenohipofizo. Zaradi premalo prostora v maternici se poslabša počutje ploda, kar spodbudi izločanje kortizola iz skorje plodove nadledvične žleze. Kortizol povzroči sintezo in sproščanje prostaglandina F2alfa (PGF<sub>2α</sub>) iz maternice. To pa povzroči krčenje mišičnine in sprostitev materničnega vratu (Davidson, 2013; Taverne in Noakes, 2009).

Zorenje plodove nadledvične skorje je ključnega pomena pri sprožitvi poroda. Nadledvična skorja postaja vedno bolj občutljiva na plodov adrenokortikotropni hormon (ACTH), kar povzroči izločanje plodovega kortizola. Ta spodbudi encime posteljice (17-hidroksilaza in C17-20 liaza), ki preusmerijo steroidno sintezo od progesterona k estrogenu. Končni rezultat povišanega izločanja estrogena je izločanje prostaglandinov, predvsem PGF<sub>2α</sub>, ki je ključni sprožitveni hormon poroda. Ko se začne izločati, nastopi akutna faza poroda. Vloga oksitocina pri začetku poroda ni gotova, verjetno pa dopolnjuje PGF<sub>2α</sub>. (Davidson, 2013).

Sinteza PGF<sub>2α</sub> se prične, ko je na voljo arahidonska kislina, ki je glavni faktor potreben za sintezo PGF<sub>2α</sub>. Estrogeni vplivajo na izločanje arahidonske kisline, saj omogočijo dostop do encima fosfatolipaze A. To je na membrano vezan lizosomalni encim, ki omogoči hidrolizo fosfolipidov ter posledično sproščanje arahidonske kisline (Davidson, 2013).

PGF<sub>2α</sub> povzroči krčenje maternične mišičnine, saj sprosti znotrajcelični kalcijev ion, ki se veže na aktin in miozin in s tem sproži proces krčenja. Prostaglandina PGF<sub>2α</sub> in PGE imata pomemben učinek tudi na maternični vrat, saj povzročita njegovo razširitev, kar omogoči prehod plodu. Končni rezultat je neposredni učinek PGF<sub>2α</sub> na znotrajcelični matriks

materničnega vratu, kjer pride do izgube kolagena s sočasnim povišanjem glikozaminoglikana, ki povzroči združevanje kolagenih vlaken.

Pri psih sintezi in sproščanju PGF<sub>2α</sub> sproži tudi regresijo rumenega telesa in sicer 24 do 36 ur pred porodom. Zaradi regresije rumenega telesa prične padati progesteron, ki pada pod 2,5 ng/ml 12 do 24 ur pred porodom. Tukaj pred porodom vrednost progesterona pada iz povprečno 2,8 ng/ml na 0,7 ng/mL. Padec progesterona je nujen za porod, vendar ni vzrok za sprožitev poroda (Davidson, 2013).

Pomembno vlogo pri porodu ima tudi hormon oksitocin. Višji estrogen vpliva tudi na povečano izražanje oksitocinskih receptorjev v maternični mišičnini. Velike količine oksitocina se sprostijo predvsem ob vstopu ploda v porodni kanal zaradi pritiska ploda na tkivo kavdalne vagine. Govorimo o Fergusonovem refleksu, ki ga lahko vzpodbudimo tudi z draženjem nožnice s prstom. Draženje senzoričnih živcev vpliva na prenos impulza prek hrbtnače do ustreznih jeder v hipotalamu. To pa sproži izločanje oksitocina iz nevrohipofize v kri. Hormon, pomemben za pripravo na porod, je tudi relaksin, ki ga izloča posteljica. Relaksin povzroči sproščanje ligamentov dimeljnične zrasti in pripadajoče mišičnine, kar razrahla porodni kanal in posledično omogoča plodu, da lažje prehaja skozi porodni kanal (Davidson, 2013).

## 2.2. POROD

Proces poroda je teoretično razdeljen na tri stopnje. Prva faza je ločena, druga in tretja pa prehajata ena v drugo (Feldman in Nelson, 2004a; Taverne in Noakes, 2009).

### 2.2.1. Prva stopnja poroda

Spremembe, ki se dogajajo v tej stopnji, na zunaj niso vidne, vendar so pomembne, ker pripravijo porodni kanal na iztiskanje plodu. Prva stopnja poroda običajno traja od šest do dvanajst ur, lahko tudi do štiriindvajset. Psica je v tem času pogosto nervozna, se trese, pohitreno diha, žveči, praska tla ali postopa, lahko tudi bruha. Večina jih išče samoto in pričnejo z urejanjem gnezda (Feldman in Nelson, 2004a; Taverne in Noakes, 2009).

Najprej se spremeni struktura materničnega vratu tako, da je omogočena njegova razširitev. Sledi krčenje maternične mišičnine, kar se navzven kaže kot nemir, bolečine v trebuhi,

poviša se srčni utrip in frekvenca dihanja. Krčenje maternične mišičnine povzroči ločitev posteljice in endometrija s spremljajočimi krvavitvami. Tik pred vstopom v porodni kanal se plod obrne iz ventralnega v dorzalni položaj, kar pomeni, da je plodov hrbet ob materini hrbtenici, njegovi sprednji ali zadnji nogi, vrat ter glava pa so iztegnjeni (Feldman in Nelson, 2004a; Taverne in Noakes, 2009).

### **2.2.2 Druga in tretja stopnja poroda**

Druga stopnja se prične s popolno razširitvijo materničnega vratu in se konča z izločenim/rojenim plodom. Tretja stopnja se prične po rojstvu mladiča in konča po izločitvi posteljice. Pri psicah z več kot enim mladičem se druga in tretja stopnja poroda izmenjujeta. Trajanje druge in tretje stopnje močno variira, od nekaj ur do 24 ali 36 ur (Feldman in Nelson, 2004a; Taverne in Noakes, 2009).

Ob nastopu druge stopnje poroda se pričnejo popadki, ki so običajno vidni, psica leži na boku ali čepi. Ko mladič prehaja skozi porodni kanal, horioalantoisne ovojnice najpogosteje počijo. To nastane kot posledica kavdalnega premikanja plodu, saj so ovojnice še vedno pritrjene na endometrij. Ob predrtju iz zunanjega spolovila izteče urinu podobna plodova tekočina. Popadki in krčenje mišičnine potisnejo amnijski mehur s plodom v medenični kanal, kar sproži medenični refleks, ki izzove močno krčenje trebušnih mišic. Podobno močno krčenje mišic nastopi ob vstopu ramen in nato bokov v medenični kanal. Ko se ponavlajoče krčenje mišic nadaljuje, amnijski mehur prehaja v nožnico in se pojavi v zunanjem spolovilu, viden kot mehur napolnjen z vodo. Amnijski mehur se izloči, lahko se ob tem pretrga, ali pa ostane cel. Kadar ostane cel, se mladič porodi v amnijskem mehurju. Če pa se pretrga, v vulvi opazimo glavo mladiča in njegove sprednje oziroma zadnje noge, odvisno od položaja plodu (Feldman in Nelson, 2004a; Taverne in Noakes, 2009).

Pri sprednji legi lahko mama po porodu glave nekaj časa počiva, vendar kmalu ponovno krčenje mišičnine povzroči prehod ramenskega dela, ki mu hitro sledijo boki in zadnje okončine. Pri psicah je prav tako pogost tudi porod v zadnji legi, saj se pojavlja v 40 do 45 %. V primeru da amnijski mehur ostane cel, ga psica pregrizne in odstrani z gobcem. V zelo redkih primerih ostane cela tudi horioalantoisna ovojnica, ki jo psica odstrani na enak način. Če mati rojeva v bočnem položaju, je popkovina običajno intaktna in lahko preteče nekaj minut preden jo najpogosteje prekine mama, lahko pa se pretrga tudi zaradi premikanja mladiča. Po prekiniti popkovine, se popkovni arteriji in uranus povlečejo nazaj v trebušno

votlino. Pretečen čas od začetka druge stopnje poroda in skotenim mladičem je lahko od 10 do 30 minut. Aktivno napenjanje, ki traja več kot 30 minut, je že zaskrbljujoče. Intervali med naslednjimi mladiči prav tako variirajo. Normalno je, če psica poleže par mladičev in nato počiva, preden skoti še preostale. V tem primeru je zaskrbljujoče, če počiva več kot štiri do šest ur (Feldman in Nelson, 2004a; Taverne in Noakes, 2009).

Po porodu se trebušni popadki umirijo, krčenje maternične mišičnine pa ostane. Krčenje postane šibkejše, vendar pogosteje in neredno. Krčenje maternične mišičnine je pomembno za izločitev plodovih ovojnic. Ko se od endometrija loči večji del plodovih ovojnic in so v medeničnem kanalu, ta sproži trebušne kontrakcije, ki omogočijo izločitev ovojnic. Posteljica se običajno izloči v 5 do 15 minutah po porodu posameznega mladiča. Občasno lahko porodu enega mladiča sledita dve posteljici, če je bil pred tem rojen mladič, kateremu posteljica ni sledila. Porod mladičev običajno poteka izmenjujoče med rogovoma maternice. Po porodu matere intenzivno ližejo mladiče. S tem spodbujajo dihanje pri mladiču in ga hkrati tudi osušijo. V roku ene ure po rojstvu običajno že vsi mladiči sesajo (Feldman in Nelson, 2004a; Taverne in Noakes, 2009).

## 2.3. DISTOCIJA

Distocija je otežen ali nenormalno počasi potekajoč vaginalni porod, kjer je onemogočen normalen prehod ploda skozi vaginalni kanal. Distocijo moramo pravočasno diagnosticirati, da lahko izvedemo medikamentno ali kirurško zdravljenje. Za pravilno izbiro moramo ugotoviti vzrok nastanka distocije (Davidson, 2010). Čeprav velika večina porodov pri psih poteka normalno, distocija ni redka (pojavlja se pri 3,7-5% vseh porodov) in se pogosteje pojavlja pri brahicefaličnih, velikih, majhnih in miniaturalnih pasmah (Bergström, 2009; O'Neill, in sod., 2017).

### 2.3.1. Etiologija distocije

Vzroke za distocijo lahko razdelimo v dve veliki skupini: materine in plodove. Materini vzroki so tisti na katere ima neposreden vpliv psica in vključujejo primarno neodzivnost maternice (celotno ali delno), zožen medenični kanal, redkeje pa zasuk maternice, nožnične strikture ali nožnični septum ter hidroalantois. Plodovi vzroki so tisti na katere vpliva plod in sicer preveliki plodovi (en sam mladič, anasarka ali druge anomalije), nepravilen položaj

plodov, mrtvorjeni plodovi ali pa kombinacija dveh opisanih dejavnikov. Sekundarna neodzivnost maternice nastane zaradi izčrpanosti maternične mišičnine kot posledica obstrukcije porodnega kanala zaradi zgoraj naštetih razlogov ali kot posledica prevelikega števila plodov (Davidson, 2010).

Med naštetimi vzroki je primarna neodzivnost maternice daleč najpogosteji vzrok za distocijo pri psicah (do 75 % vseh primerov). Lahko je popolna (v 50 % primerov) ali delna (v 23 % primerov). Pri popolni neodzivnosti maternice se plodovi sploh ne skotijo, pri delni se skoti del legla, nato pa se mišičnina maternice izčrpa, še preden se porod zaključi (Bergström, 2009). Predvidevamo, da je primarna neodzivnost maternice multifaktorialno stanje, z vpletostjo presnovnih procesov. Pojavijo se motnje v vzpostavitvi funkcionalnih progresivnih kontrakcij maternice, kar onemogoči porod. Najverjetnejši vzroki so zelo velika legla, ki izčrpajo maternico ali zelo majhna legla, ki nezadostno stimulirajo maternico, sistemske bolezni, nizka koncentracija plazemskega oksitocina, nizka koncentracija prostaglandina in visoka koncentracija progesterona (Davidson, 2010).

### **2.3.2 Distocija pri različnih pasmah**

Brahicefalične pasme (buldogi, mopsi, bostonski terierji ipd.) imajo ozko medenico, mladiči pa velike glave in široka ramena, kar povzroča večjo pojavnost distocije. Miniaturne in majhne pasme imajo pogosto majhna legla (1-2 mladiča), poleg tega so psi teh pasem ob porodu bolj nagnjeni k anksioznosti. Psihološko stanje psice lahko oteži porod in povzroči primarno maternično neodzivnost. V primeru, ko je v leglu en sam mladič, je le-ta lahko zelo velik, kar privede do plodove obstrukcije. Incidenca distocije je pri psicah velikih pasem nižja, kljub temu pa se občasno zgodi, da je leglo zelo veliko, kar lahko privede do sekundarne maternične neodzivnosti zaradi izčrpanosti psice in prekomernega raztegovanja maternice (Feldman in Nelson, 2004b; Bergström in sod., 2006).

### **2.3.3 Klinični znaki/diagnostika distocije**

Večino primerov distocije povzroča popolna primarna neodzivnost maternice, zato je diagnostika lahko zahtevna, saj psice pogosto nimajo opaznih kliničnih znakov, porod pa ne napreduje. Interval med mladiči se lahko podaljša nad 4 ure, pri psici pa ne zaznamo povečanega trebušnega napora. Na omenjeno stanje lahko tudi pomislimo, kadar vemo, da brejost traja dlje kot je to normalno, kadar 36 ur po padcu rektalne temperature še vedno ni

prišlo do poroda ali kadar so pri psici prisotni znaki splošne toksemije (Davidson, 2010; Forsberg, 2010).

Poleg naštetega na distocijo pomislimo ob naslednjih kliničnih znakih:

- podaljšana brejost, ko je znan datum ovulacije;
- 72 dni po parjenju še ni prišlo do poroda;
- zelen ali črn izcedek iz nožnice pred porodom prvega mladiča;
- psica počiva več kot 3 ure med posameznimi mladiči;
- psica skoti mrtvega mladiča;
- visoko breja psica zgleda bolna in izčrpana (Smith, 2007);
- znana predispozicija oz. zgodovina predhodne distocije pri psici;
- več kot 24 ur po padcu telesne temperature pri visoko breji psici se porod še ni začel;
- psica ne preide iz prve faze poroda v drugo fazo v več kot 12 urah;
- delno poležen mladič več kot 10-15 minut;
- nepretrgano, nepojemajoče in neproduktivno napenjanje psice več kot 20-30 minut;
- porod zgleda zaključen preden je poležano celotno leglo (Johnson, 2009).

Ob sumu na distocijo opravimo vaginalni in rektalni pregled, da ugotovimo, če se v porodnem kanalu nahaja plod, in ocenimo stanje nožnice (napetost in kontrakcije). Včasih lahko s to metodo ugotovimo nepravilno lego ploda v porodnem kanalu, ki preprečuje nadaljevanje poroda. Priporočamo še preiskave krvi pri psici, kjer se osredotočimo na raven elektrolitov (predvsem ioniziranega kalcija), koncentracijo glukoze in prisotnost motenj v acido-baznem ravovesju (Bergström, 2009).

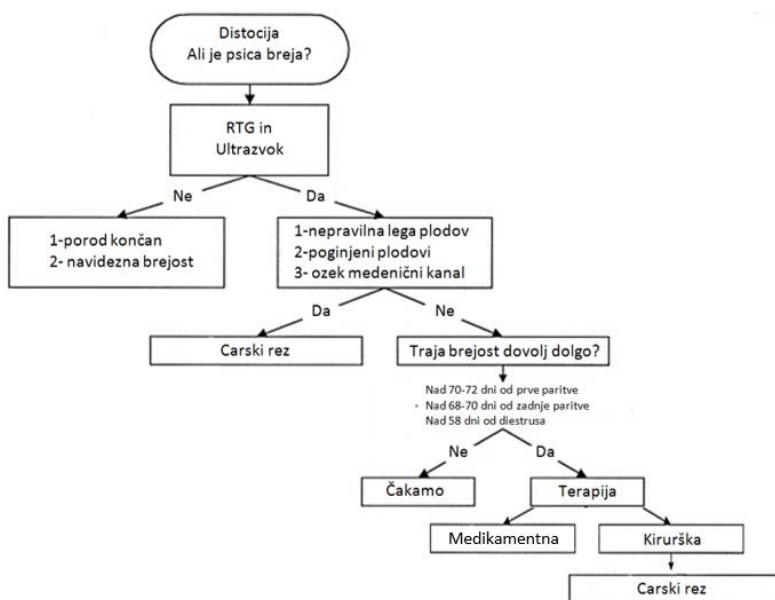
Najuporabnejši diagnostični metodi za oceno obstrukcije, vitalnosti mladičev ali števila plodov sta ultrazvočna (UZ) preiskava in rentgensko (RTG) slikanje. Pri RTG slikanju naredimo lateralno in ventro-dorzalno projekcijo trebuha, s čimer lahko določimo število plodov in njihove lege, ne moramo pa z gotovostjo ugotoviti vitalnosti plodov. Če plod leži izrazito prečno ali ima pokrčeno glavo ali noge, lahko zaradi nepravilnega položaja povzroči obstruktivno distocijo. Do obstrukcije lahko pride tudi, če je plod zelo velik, kar se pogosto

zgodi, če je prisoten le en mladič. Če ima psica preozko medenico, lahko obstruktivno distocijo povzroči tudi plod normalne velikosti v normalnem položaju. Če na rentgenu v plodovih ovojnicih ali plodu opazimo plin, je to dokaz za poginjene plodove (Davidson, 2010; Forsberg, 2010). Za določanje vitalnosti plodov je bolj zanesljiva UZ preiskava ali uporaba dopplerjevega UZ za spremljanje srčnega utripa plodov. Z UZ lahko zanesljivo vidimo srčni utrip in premikanje okončin mladičev (Smith, 2011).

Normalni srčni utrip ploda se giblje med 180 in 240 utripov na minuto, oziroma vsaj 4-kratna vrednost srčnega utripa psice. V obdobju pred porodom je učinkovitost plodovega srca odvisna predvsem od frekvence bitja, saj je miokard desnega ventrikla dokaj tog, plodov avtonomni živčni sistem pa je nezadostno razvit in minimalno inotropno reagira na kateholamine (Davidson, 2010).

Ko plodov srčni utrip pade pod 190 utripov na minuto, se smatra, da je plod v blagem stresu, če se zniža na 150-160 utripov na minuto, je stres že izrazit, kar je indikacija za carski rez (Forsberg, 2010). Plodovi s srčnim utripom pod 130 utripov na minuto imajo zelo nizko možnost preživetja, če do poroda ne pride v nadalnjih 2-3 urah. V primerih, ko srčni utrip plodov pade pod 100 utripov na minuto, so možnosti preživetja minimalne, če se plodovi ne porodijo v naslednje pol ure, zato je pri teh indiciran takojšen carski rez (Davidson, 2010).

Slika 1 prikazuje potek diagnostike distocije.



Slika 1: Diagnostika in zdravljenje distocije (Feldman in Nelson, 2004b).  
Figure 1: Diagnostics and treatment of dystocia (Feldman in Nelson, 2004b).

### 2.3.4 Zdravljenje distocije

Za ugoden izid distocije je potrebna učinkovita diagnostika in hitro ukrepanje. Če distocijo diagnosticiramo zgodaj med porodom, jo sprva ne smatramo kot urgenco, pač pa spremljamo stanje plodov in psice, ter se za ustrezne nadaljnje ukrepe odločamo glede na izvide. V osnovi distocijo zdravimo manualno, medikamentno ali kirurško (Davidson, 2010).

Če gre pri psici za obstruktivno distocijo kot posledico nepravilnega položaja ploda, lahko poskusimo z manualnim zdravljenjem, kjer s pomočjo orokavičenih prstov skušamo naravnati (repozicija) položaj ploda. To je mogoče pri večjih pasmah in le v primerih, ko se plod nahaja dovolj nizko v nožnici (Feldman in Nelson, 2004b). Pri manjših pasmah pa je nožnica pogosto preozka in ne omogoča dovolj prostora za ustrezno manipulacijo (Davidson, 2010). Glede na to, da je najožji del porodne poti v sami medenici, je velika verjetnost, da se plod v nepravilni legi zatakne že tam. V tem primeru lahko naravnavo plodu izvedemo transabdominalno. Repozicijo lahko izvedemo v času, ko ne potekajo kontrakcije maternice in trebušne mišičnine (Davidson, 2010). Tipanje materničnega vratu pri psici ni mogoče, zato ne moremo ugotoviti koliko je že razprt in ali plod ne more preiti čez zožen maternični vrat.

Medikamentno zdravljenje distocije je indicirano, če je psica v dobrem splošnem stanju, maternični vrat razprt, medenica dovolj široka, velikost plodov ustrezna (dovoljuje vaginalni porod) in z UZ nismo ugotovili, da so plodovi v stresu (Pretzer, 2008). Zdravljenje temelji na dajanju oksitocina in kalcijevega glukonata. Medikamentno zdravljenje priredimo glede na stanje psice in plodov (Davidson, 2010) in ga večinoma uporabljam, kadar je vzrok za distocijo primarna neodzivnost maternice. Pri tem moramo biti prepričani, da gre za neobstruktivno distocijo, sicer je uporaba teh zdravil kontraindicirana (Feldman in Nelson, 2004b). Oksitocin v osnovi poviša frekvenco kontrakcij maternice, kalcij pa jih naredi močnejše (Davidson, 2010).

Če je prisotna hipokalcemija, jo zdravimo z 0,2 ml/kg 10% kalcijevega glukonata intravenozno ali subkutano. Če se odločimo za intravenozno terapijo, moramo to storiti počasi in hkrati z elektrokardiografom spremljati morebiten pojav aritmij. Kalcij lahko po potrebi ponovimo na 4- 8 ur. Ko smo odpravili hipokalcemijo, porod pa še vedno ne napreduje, začnemo dajati oksitocin (Lopate, 2013).

Oksitocin deluje v zelo majhnih koncentracijah, že pri 0,25 internacionalne enote (IE) na žival subkutano, intramuskularno ali intravenozno do maksimalne skupne doze 4 IE/žival (Davidson, 2010). Dozo lahko ponovimo na 20-30 minut največ trikrat. Če takrat še vedno ni mladiča, se odločimo za carski rez (Lopate, 2013), saj lahko večje koncentracije ali intravenozni bolusi oksitocina povzročijo neučinkovite tetanične maternične kontrakcije, ki zaradi kompresije maternice še dodatno otežijo dotok zadostne količine kisika do plodov, lahko pa vodijo tudi do luščenja posteljice in posledično do neustrezne oskrbe plodov.

Z medikamentno in manualno terapijo lahko zdravimo približno 30 % primerov distocije, ostali se končajo s kirurško terapijo (carski rez) (Davidson, 2010).

## 2.4 CARSKI REZ

Namen carskega reza je čim hitrejša odstranitev vseh plodov iz maternice. Primarna indikacija za carski rez pri psih je distocija. Če je distocija že prisotna, se odločimo za urgenten carski rez. V primeru, ko sumimo, da bi do distocije lahko prišlo, se že pred naravnim nastopom poroda odločimo za carski rez, ki je v tem primeru načrtovan oziroma elektiven. Slednji se pogosto izvaja pri brahicefaličnih pasmah in živalih, ki so v preteklosti imele težave z distocijo. Pasme, pri katerih se elektiven carski rez zelo pogosto izvajajo so bostonski terierji, angleški in francoski bulldogi, mastifi in škotski terierji. Prav tako je elektiven carski rez pogostejši pri manjših pasmah (MacPhail, 2013). Za carski rez se odločimo tudi, kadar so na UZ preiskavi trebuha mladiči v stresu (imajo znižan srčni utrip) ali pa so pri psici prisotni znaki sistemskih bolezni (Fransson, 2012).

### 2.4.1 Elektiven carski rez

Če carski rez načrtujemo vnaprej, je zelo pomembna pravilna določitev datuma poroda. Datum mora biti karseda blizu datumu naravnega poroda, da so mladiči dovolj razviti, a ne prepozno, saj se v nasprotnem primeru začne vaginalni porod, kar povzroča večji stres pri psici in lahko pri uvodu v anestezijo povzroči slabšo oksigenacijo mladičev (Kutzler in sod., 2003).

Merjenje LH vala pred paritvijo je odličen način načrtovanja datuma poroda oz. carskega reza, saj LH val nastopi, ko je koncentracija serumskega progesterona približno 2 ng/ml in nakazuje začetni stadij ovulacije psice. Večina psic koti 65 +/- 1 dan po LH valu. Poseg

planiramo 63 dan od dneva, ko smo izmerili LH val. Ker je merjenje LH vala drago in ker LH val traja le okrog 12 ur, se merjenja ne opravi pri vseh paritvah. Pri določitvi ustreznega datuma poroda zato lahko uporabimo tudi druge metode (Kutzler in sod., 2003).

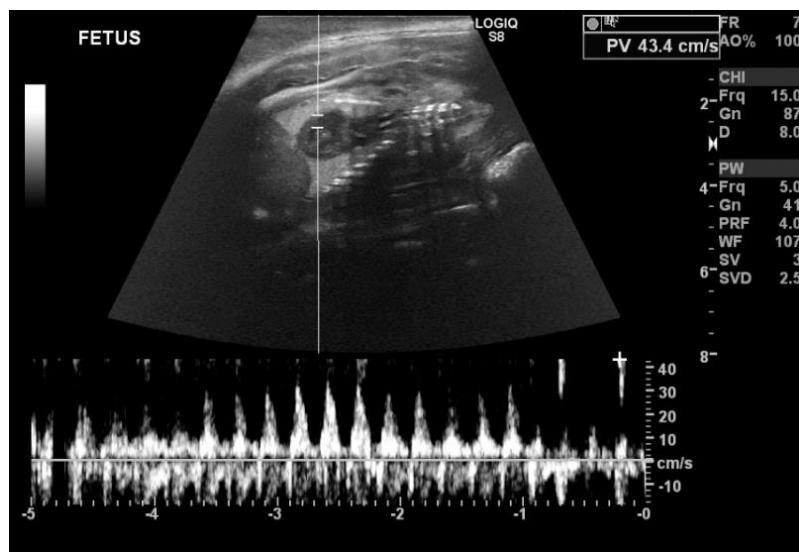
Progesteron je najpomembnejši hormon pri določanju reprodukcijskega ciklusa psice. Testiranje njegove koncentracije je preprosto, lahko ga uporabljam za določanje LH vala, poroda in drugih kliničnih stanj. Komercialni testi (ELISA test) omogočajo določanje koncentracije progesterona na kliniki, natančnejše je določanje progesterona z RIA metodo, za kar je običajno potrebno poslati kri v zunanjji laboratorij. Določanje koncentracije progesterona nam lahko pomaga tudi pri določitvi primernih dni za paritev psice (von Heimendahl, 2008). Progesteron je med proestrusom psice nizek (pod 2 ng/ml). Začetni porast serumskega progesterona na 2-3 ng/ml sovpada z LH valom v zgodnjem estrusu. Psice ovulirajo približno 2 dni po LH valu, ko je koncentracija serumskega progesterona med 5 in 8 ng/ml. Nato je potrebno še dodatnih dva do tri dni za dozorevanje oocitov, preden lahko pride do oploditve. Plodno obdobje psice, v katerem bo osemenitev in oploditev uspešna je torej 4 do 7 dni po LH valu. Če semenimo z zmrznenim semenom je priporočen čas osemenitve 3 dni po tem, ko progesteron doseže 5-8 ng/ml. Ob osemenitvi pričakujemo koncentracijo serumskega progesterona 12-20 ng/ml (Paccamonti, 2006).

Za uspešno določitev primernih dni za paritev lahko testiramo koncentracijo progesterona in če je ta nizek (pod 1 ng/ml), test ponovimo čez 2 dni. Če je progesteron med 1 in 2 ng/ml, še enkrat testiramo naslednji dan, dokler ne preseže koncentracije 2 ng/ml, ki nam pove, da gre za začetni porast progesterona, ki sovpada z LH valom. Če test ponovimo 2 dni kasneje in so koncentracije progesterona še višje (5-8 ng/ml), smo lahko prepričani, da je prišlo do ovulacije (von Heimendahl, 2008; Paccamonti, 2006). Pomagamo si lahko tudi z merjenjem progesterona tik pred porodom. Porod se prične približno 24 ur po tem, ko njegova serumska koncentracija pade pod 2 ng/ml (Fransson, 2012). Po nekaterih informacijah lahko carski rez opravimo tudi 59. do 60. dan od dneva prve paritve, vendar moramo upoštevati, da lahko pride do napake, če se je psica parila pozno v ciklusu. V tem primeru je njen predviden datum poroda še vedno 65 dni po LH valu, brejost pa je temu primerno nekaj dni skrajšana (Kutzler in sod., 2003).

Pri določanju datuma poroda si lahko pomagamo tudi z rektalnim merjenjem telesne temperature v zadnjih dneh pred porodom. V raziskavi, izvedeni leta 2014, so ugotovili, da

je bila povprečna rektalna telesna temperatura psic v zadnjih 24 urah pred porodom nižja kot 24 do 48 ur in 49 do 72 ur pred porodom. 49 do 72 ur pred porodom je bila povprečna temperatura 37,7°C, 24 do 48 ur pred porodom je bila 37,6°C, v zadnjih 24 urah pred porodom pa je padla na 37,3 °C. Kljub padcu telesne temperature okrog časa poroda pri psicah se moramo zavedati, da je padec lahko le za 0,3 °C ali pa do njega sploh ne pride (Geiser in sod., 2014). Padec telesne temperature točno ne napove dneva poroda. Glede na raziskavo iz leta 2005 je bila najnižja telesna temperatura pri visoko brejih psicah zaznana več kot 48 ur pred porodom pri 24 % psic, pri 35 % psic pa padca telesne temperature sploh niso zaznali (Jutkowitz, 2005).

Pri določanju brejosti in vitalnosti mladičev si lahko v drugi polovici brejosti pomagamo tudi z UZ (Slika 2). Brejost izkušen operater UZ lahko določi že 19 do 21 dni po LH valu, 21 do 23 dni po LH valu pa je metoda zelo natančna. Če čas LH vala psice ni znan, lahko UZ pregled za brejost opravimo približno 30 dni po dnevu zadnjega zaskoka. Srčne utripe plodov lahko z UZ prvič zaznamo 23 do 25 dni po LH valu. Vitalnost plodov z UZ preverimo tako, da pregledamo frekvenco srca plodov, količino alantoisne tekočine, premikanje plodov in smo pozorni na morebitne fetalne malformacije. Ultrazvok UZ je za določanje števila plodov neprimerena metoda, za to rajši uporabljamo rentgensko slikanje trebuha 5 do 10 dni pred pričakovanim datumom poroda (Slika 3) (Smith, 2011).



Slika 2: Določanje vitalnosti ploda s pomočjo UZ (arhiv: Medical Genetics and Reproduction, Penn University, 2015).

Figure 2: Determination of fetal viability via ultrasound (archive: Medical Genetics and Reproduction, Penn University, 2015).

## 2.4.2 Urgenten carski rez

Urgenten carski rez opravimo, kadar se vaginalni porod začne, vendar na neki točki več ne napreduje. Če se mladiči ne skotijo v 24 urah po začetku druge faze poroda, večinoma pride do pogina vseh mladičev zaradi odstopa posteljice. Zato je nujno, da urgenten carski rez izvedemo hitro po tem, ko ugotovimo, da porod ne napreduje, še preden se psica utrudi in so mladiči ogroženi (Onclin, 2008).



Slika 3: Določanje števila in velikosti plodov 10 dni pred porodom s pomočjo rentgena (arhiv: Medical Genetics and Reproduction, Penn University, 2015).

Figure 3: Determining fetal size and number of fetuses via x-ray imaging 10 days prior to parturition (archive: Medical Genetics and Reproduction, Penn University, 2015).

## 2.4.3 Anestezija pri carskemu rezu

Glavni cilj anestezijskega protokola pri carskem rezu je čim manjši vpliv anestetikov na mladiče. S tem se izognemo zavoru krvožilnega, dihalnega in centralnega živčnega sistema mladičev, ki so po posegu bolj vitalni. Hkrati moramo omogočiti zadostno analgezijo psice in preprečiti z anestezijo povezane komplikacije, kot so nizek krvni tlak, nizka frekvenca dihanja, nizka koncentracija kisika v krvi, krvavitve in znižana telesna temperatura, saj vse našteto vpliva na večjo smrtnost tako matere kot mladičev (Hay Kraus, 2016).

V osnovi moramo čim bolj skrajšati čas anestezije. Zato psico obrijemo in preoksigeniramo za 10 do 15 minut pred uvodom v anestezijo, kar zmanjša hipoksijo med intubacijo in

indukcijo ter izboljša produkциjo surfaktanta pri mladičih. Hkrati pričnemo z intravenozno tekočinsko terapijo in se tako izognemo morebitni dehidraciji (Onclin, 2008; Hay Kraus, 2016).

Idealni anestetiki naj ne bi prehajali skozi bariero posteljice, so kratko delujoči in se minimalno presnavljajo. Če niso kratko delujoči, mora obstajati možnost antagoniziranja njihovega učinka, hkrati pa morajo omogočiti zadostno analgezijo za psico, brez vpliva na materinski nagon in laktacijo po porodu (Onclin, 2008).

#### **2.4.4 Kirurški poseg**

Poseg začnemo z medialnim ventralnim rezom, ki se začne na sredini med podaljskom prsnice in popkom, ter se nadaljuje do sramnice. Rez mora biti dovolj dolg, da lahko maternico dvignemo iz trebušne votline in jo obložimo z vlažnimi kompresami ali zloženci. Sledi ventralni rez v telo maternice. Mladiča, ki leži najnižje oziroma najbolj kavdalno v telesu maternice, odstranimo prvega, nato sledijo mladiči v rogovih maternice (izmenično iz levega in desnega roga maternice). Vsakega mladiča premikamo po maternici do prvotnega reza in z nežnim vlekom povzročimo, da se posteljica odlušči ter omogoči odstranitev mladiča iz maternice. Mladič je ovit v amnij, ki ga odpremo in mladiča skupaj z njegovo posteljico oddamo drugi osebi, ki začne z oživljanjem. Popkovino s hemostatskimi prijemalkami stisnemo 2 do 6 cm stran od trebušne stene mladiča. Ko smo odstranili vse mladiče in posteljice, maternico še enkrat pretipamo in nato rez v materničnem telesu zašijemo z monofilamentnim resorbibilnim šivalnim materialom debeline 3/0 ali 4/0 in tekočim šivom. Trebušno steno zašijemo rutinsko, na koži pa uporabimo intradermalne šive (Fransson, 2012).

### **2.5 OCENA PO APGARJEVI**

Smrtnost novorojenih psov v obporodnem obdobju je relativno visoka in znaša do 40 %. Smrt je najpogostejsa ob porodu, tik po porodu ali v prvem tednu življenja (Tønnessen in sod., 2012). Najpogostejsi vzrok za visoko smrtnost je sam potek poroda, ki je tudi ob najboljših fizioloških pogojih dolg in se še podaljša v primeru težkega poroda (distocije). Tveganje povečujejo tudi neustrezen čas in tip intervencije med porodom, reja v sorodstvu, malformacije, genetske napake, nizka teža ob porodu, bolezni, neustrezno cepljenje matere,

neustrezno okolje in infekcijski povzročitelji (Münnich, 2008). Najpogostejši vzroki smrti v neonatalnem obdobju je respiratorni distres, ki sledi distociji. Zelo pogoste so tudi bakterijske infekcije (Concannon, 2002). Kot pri drugih sesalcih je proces poroda izliv in prve minute življenja najbolj nevarne, zato lahko imajo dolgoročne posledice za življenje novorojenca. Ustrezna pomoč in oskrba novorojenca ob rojstvu je zato obvezna pri ljudeh in živalih, vendar sta znanje in tehnologija oskrbe novorojencev v veterinarski medicini pomajnjiva. Zaradi slabšega znanja je prepoznavanje novorojencev potrebnih pomoči težje in posledično število smrti večje (Silva in sod., 2009). Smrtnost novorojenih psov v obporodnem obdobju je relativno visoka in znaša do 40 %. Smrt je najpogostejša ob porodu, tik po porodu ali v prvem tednu življenja (Tønnessen in sod., 2012). Najpogostejši vzrok za visoko smrtnost je sam potek poroda, ki je tudi ob najboljših fizioloških pogojih dolg in se še podaljša v primeru težkega poroda (distocije). Tveganje povečujejo tudi neustrezen čas in tip intervencije med porodom, reja v sorodstvu, malformacije, genetske napake, nizka teža ob porodu, bolezni, neustrezno cepljenje matere, neustrezno okolje in infekcijski povzročitelji (Münnich, 2008).

Leta 1952 je zdravnica in anestezistka Virginia Apgar razvila edinstven in zanesljiv točkovni sistem ocenjevanja zdravja novorojencev tik po rojstvu s pomočjo preproste ocene po Apgarjevi (Apgar, 1953), s katero hitro odkrijemo novorojence, ki po rojstvu potrebujejo dodatno pomoč. Pri ljudeh ocena po Apgarjevi zajema pet parametrov, ki se jih zlahka določi brez oviranja oskrbe novorojenca. Ocena se je najprej imenovala po izumiteljici, leta 1963 pa so akronimu APGAR dodali razlago. A za appearance/izgled, P za pulse/srčni utrip, G za grimace/obrazni izraz, A za activity/aktivnost in R za respiration/dihanje. Vsaka od teh kategorij dobi oceno od nič do dve točki. Točke kategorij se seštejejo in določijo oceno po Apgarjevi od nič do deset. Ocenjevanje se izvede med prvo in peto minuto po porodu, pri nizko ocenjenih novorojencih se ocenjevanje ponovi tudi kasneje, vse dokler njegova ocena po Apgarjevi ne doseže vsaj 7 točk (Apgar in James, 1962). Nizka ocena namreč pomeni, da novorojenec potrebuje medicinsko pomoč. Če se ocena po Apgarjevi izboljša v nekaj minutah, navadno ni povezana z dolgoročnimi težavami. Če pa je tudi po desetih minutah ocena od nič do štiri, to predstavlja veliko tveganje za smrt ali invalidnost otroka (Harrington in sod., 2007).

Ocena po Apgarjevi ni bila zasnovana za ugotavljanje dolgoročnega stanja novorojenca, ampak z namenom, da zdravniki hitro prepozna posamezne novorojence, ki potrebujejo

pomoč takoj po rojstvu. Zaradi uporabnosti, zanesljivosti in celostne ocene pri ocenjevanju kratkoročnega preživetja, so oceno začeli uporabljati tudi v veterinarski medicini. Najprej so oceno uporabili pri žrebičkih, teletih in prašičkih, v zadnjih letih pa so jo začeli uporabljati tudi pri psih. Vseh pet parametrov ocene po Apgarjevi so v različnih raziskavah prilagodili pasjim fiziološkim parametrom (Veronesi in sod., 2009).

Točkuje se barvo sluznic: rožnate sluznice dve točki, blede sluznice ena točka in cianotične sluznice nič točk. Srčni utrip nad 180 pomeni dve točki, od 120-180 ena točka in pod 120 nič točk. Če mladič vdihne več kot 15-krat na minuto in ritmično, se to točkuje z dvema točkama, če diha šibko in neritmično z eno točko in če je dihanje odsotno, z nič točkami (Veronesi, 2016).

Vitalnost novorojencev se ocenjuje tudi z opazovanjem refleksov. Opazujemo sesalni refleks, odrivni refleks (po angleško: rooting reflex) in refleks vrnitve v osnovni položaj (po angleško: rightening reflex), ki se vsi točkujejo od nič do dve točki. Kombiniranje opazovanja ocene po Apgarjevi in refleksov je smiselno, ker skupaj podajo boljšo oceno vitalnosti novorojenca (Vassalo in sod., 2015).

Za ustrezno oceno meritve izvajamo pet, petnajst in šestdeset minut po rojstvu (Batista in sod. 2014; Doeblei in sod., 2013).

Na podlagi različnih raziskav zbrani podatki dokazujejo, da je ocene po Apgarjevi enostavna, neinvazivna, praktična in poceni metoda določanja stanja novorojenega psa. Poleg tega je izvedljiva pod pogoji vsake klinične prakse, saj je za oceno potreben samo stetoskop. Sistematična uporaba ocene po Apgarjevi omogoča hitro prepoznavanje novorojencev, ki potrebujejo pomoč, in s tem zmanjšuje smrtnost, saj nas slaba ocena opozarja, da je potrebno novorojence oživljati ali intenzivno negovati (Batista in sod., 2014).

## 2.6 PLINSKA ANALIZA KRVI

### 2.6.1 Plinska analiza krvi novorojencev v humani medicini

Obporodno obdobje predstavlja temeljno spremembo krvožilnega in dihalnega sistema pri novorojencu. Prehrambne, izločevalne in dihalne funkcije prevzamejo novo vlogo, ko novorojenec preide iz odvisnega v prostoživečega posameznika. Izmenjava plinov, ki jo je do poroda opravljala posteljica, morajo vzpostaviti pljuča v nekaj minutah po rojstvu. Tudi

v krvožilnem sistemu nastopijo odločilne spremembe. Zaradi številnih nenadnih sprememb so resne težave krvožilnega in dihalnega sistema v obporodnem in poporodnem obdobju pogoste. Plinska analiza in dopolnilne neinvazivne metode, s katerimi spremljamo stanje novorojenca, zagotavljajo zdravniku nujne informacije za oceno pacienta, odločanje o zdravljenju in določitev prognoze (Brouillet et al., 1997).

Leta 1958 je James s sodelavci v raziskavi ugotovil, da lahko s plinsko analizo popkovne krvi prepoznamo plodov hipoksični stres (James et al., 1958). Do danes je postalo splošno sprejetoto, da plinska analiza popkovne krvi poda pomembne podatke o preteklem in sedanjem stanju, hkrati pa z njo prepoznamo kritično bolnega novorojenca, pri katerem je urgentna pomoč nujna. Danes se plinsko analizo popkovne krvi priporoča pri vseh tveganih porodih, nekateri pa jo prakticirajo rutinsko po vsakem porodu. Zato je izrednega pomena, da se zdravniki, ki skrbijo za novorojence, seznanijo z odvzemom vzorca in interpretacijo rezultatov (ACOG committee, 2006).

Plinska analiza krvi omogoča osnovo določanja ustreznosti alveolarne ventilacije in perfuzije. Točnost testa je v veliki meri odvisna od znanja in spretnosti osebe, ki vzorec odvzema in osebe, ki ga analizira. V humani medicini uporabljajo več različnih načinov obporodnega testiranja plinske analize. Vzorčenje lasišča ploda za določanje pH-ja krvi se je izkazalo za uporabno metodo, vendar jo je večinoma nadomestila analiza laktata v vzorcu krvi lasišča. Trenutno se zelo pogosto uporabljajo prenosljive mikrovolumnske naprave za merjenje laktata v popkovni krvi, saj so cenovno dostopne in enostavne za uporabo (Greene, 1999).

Plinska analiza popkovne krvi poda natančno oceno stanja novorojenca v času poroda. Za optimalno interpretacijo, bi morali odvzeti arterijsko kri, ker ta predstavlja kri fetusa. Kri mora biti odvzeta tik po rojstvu iz dela popkovine. Takošen odvzem je nujen, saj tako preprečimo nepravilne vrednosti, saj v placenti še vedno poteka metabolizem in izmenjava plinov (Martin et al., 1990).

Vzorčenje arterijske krvi lahko poteka preko arterijskega katetra, če je pričakovano, da bo potrebno vzorce krvi odvzeti večkrat. Občasno vzorčenje poteka iz periferne arterije. Najpogostejša mesta odvzema arterijske krvi pri novorojencu so iz popkovne arterije ali perifernih žil na distalnem delu noge v primeru občasnega jemanja krvi, ali preko arterijskega katetra. V humani medicini se uporablja tudi kapilarno vzorčenje. Kapilarno kri

se lahko »arterializira« s segrevanjem kože, da se poveča lokalni krvni pretok. Vzorce se potem odvzame na zunanjem delu pete, ali iz strani prsta noge ali roke (Ganter in Zollinger, 2003).

### 2.6.2 Interpretacija rezultatov plinske analize

Plinska analiza zajema mnogo podatkov, ki morajo biti pregledani in pravilno interpretirani. Omogoča nam tako oceno alveolarne ventilacije kot tudi oksigenacije krvi v pljučih in kislinsko-baznega ravnovesja. Analiza arterijske krvi je potrebna predvsem pri pacientih pri katerih je prisotna patologija pljuč oz. širšega dihalnega sistema. Zaradi lažjega odvzema venske krvi je v klinični praksi pogosteje uporabljen plinska analiza venske krvi, ki jo lahko enakovredno uporabimo za oceno alveolarne ventilacije in kislinsko-baznega ravnovesja. Oksigeniranost krvi lahko v tem primeru posredno ocenimo z uporabo pulznega oksimetra. Medtem ko plinski analizator vrednosti pH-ja, delnega tlaka kisika ( $\text{PO}_2$ ) in delnega tlaka ogljikovega dioksida ( $\text{PCO}_2$ ) v krvi izmeri, so vrednosti saturacije hemoglobina s kisikom ( $\text{SO}_2$ ), bikarbonata ( $\text{HCO}_3^-$ ), baznega pribitka in anionske vrzeli običajno izračunane. Določeni plinski analizatorji omogočajo tudi merjenje elektrolitov (npr. natrij, kalij, klor, magnezij in ioniziran kalcij), laktata, glukoze, hematokrita ter sečnine in kreatinina, kar je pri oceni stanja novorojenca zelo dobrodošlo (Fraser, 2012).

Prvi korak je ocena pH: Koncentracija vodikovih ionov v telesu je na plinski analizi izražena s pH-jem krvi. Nevtralen pH krvi je 7,4; acidemija pomeni  $\text{pH krvi} < 7,35$  in  $\text{pH} > 7,45$  predstavlja alkalemijo. Vsak odklon od normalnega pH poskuša telo normalizirati z znotraj- in zunaj celičnimi pufri, dihanjem in ledvično regulacijo. Najpomembnejši pufer v krvi in intersticijski tekočini je hidrogenkarbonatni pufer, ki je sestavljen iz šibke ogljikove kisline ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) in njene konjugirane baze ( $\text{HCO}_3^-$ ). Motnje kislinsko-baznega ravnovesja delimo na presnovne oz. metabolne, kjer se prvotno spremeni koncentracija  $\text{HCO}_3^-$ , ter na dihalne oz. respiratorne, kjer se najprej spremeni  $\text{PCO}_2$ . V kolikor se najprej spremeni  $\text{HCO}_3^-$  potem gre ali za metabolno acidozo (nizek  $\text{HCO}_3^-$  in acidemija) ali metabolno alkalozo (visok  $\text{HCO}_3^-$  in alkalemija). Primarna sprememba v  $\text{PCO}_2$  pomeni ali respiratorno alkalozo (nizek  $\text{PCO}_2$  in alkalemija) ali respiratorno acidozo (visok  $\text{PCO}_2$  in acidemija). Telo na spremembe pH-ja krvi odgovori s kompenzacijo, ki se odraža v spremembah  $\text{HCO}_3^-$  ali  $\text{PCO}_2$  odvisno pač od primarne kislinsko-bazne motnje (Fraser, 2012).

Štiri primarne kislinsko-bazne motnje so:

- presnovna acidzoza (t.j. acidemija, znižan  $\text{HCO}_3^-$ , kompenzacija je hiperventilacija in nizek  $\text{PCO}_2$ ). Možni vzroki so laktatna acidzoza, diabetična ketoacidzoza, zastrupitev z etilen glikolom, ledvična odpoved, driska, ledvična tubularna acidzoza;
- presnovna alkaloza (t.j. alkalemija, visok  $\text{HCO}_3^-$ , kompenzacija je hipoventilacija in visok  $\text{PCO}_2$ ). Možni vzroki so zgornja obstrukcija črevesja, terapija z diuretiki, hiperadrenokorticizem;
- respiratorna acidzoza (t.j. acidemija, visok  $\text{PCO}_2$ , kompenzacija je zmanjšano izločanje  $\text{HCO}_3^-$  z urinom). Možni vzroki so obstrukcija zgornjih dihal (npr. paraliza larinka, brahicefalični obstruktivni sindrom), kronična obstruktivna pljučna bolezen, centralna hipoventilacija, nevromuskularne bolezni;
- respiratorna alkaloza (t.j. alkalemija, nizek  $\text{PCO}_2$ , kompenzacija je izločanje  $\text{HCO}_3^-$  z urinom).

Pri novorojencih je pogosto prisotna več kot samo ena kislinsko-bazna motnja in gre za t.i. mešano kislinsko-bazno motnjo. Pomembno je vedeti, da enostavna primarna kislinsko-bazna motnja z ustrezno kompenzacijo nikoli ne povrne pH-ja do povsem normalne vrednosti, kaj šele da bi prišlo do prekomerne kompenzacije. V kolikor opazimo, da je pH popolnoma normalen ob sočasno spremenjenem  $\text{HCO}_3^-$  ali  $\text{PCO}_2$ , moramo pomisli na prisotnost mešane motnje (Fraser, 2012).

Zelo pomembna je tudi ocena oksigenacije, pri čemer ocenimo tri parametre: tlak kisika v arterijski krvi ( $\text{PaO}_2$ ), saturacijo in prisotnost cianoze (Fraser, 2012). Cianoza nastopi ko količina nevezanega ali nesaturiranega hemoglobina preseže tretjino. Periferna cianoza označuje modro razbarvanje kože. Centralna cianoza je modro razbarvanje sluznic in je bolj zanesljiv pokazatelj hipoksemije (Brouillet in Waxman, 1997).

Pridobljene podatke plinske analize vedno združimo s klinično oceno in z znanjem patofiziologije novorojenčeve bolezni in nato določimo ukrepe (Fraser, 2012). V primeru respiratorne acidzoze, izboljšamo alveolarno ventilacijo in tako odstranimo odvečen ogljikov dioksid iz telesa. Respiratorno alkalozo korigiramo pri mehanično ventiliranih novorojencih, kjer je potrebno zmanjšati volumen, frekvenco ali tlak na ventilatorju. Presnovno acidzozo zdravimo s korekcijo vzroka in zmanjšanjem proteinov v hrani. Presnovno alkalozo odpravimo tako, da odstranimo acetat iz intravenoznih tekočin, zmanjšamo količino

diuretika in nadomestimo gastrointestinalne izločke. Popraviti je potrebno tudi hipoksemijo, pogosto z dodajanjem kisika (Fraser, 2012).

### **2.6.3 Plinska analiza krvi novorojencev v veterini**

Ogljikov dioksid ( $\text{CO}_2$ ) je produkt celičnega metabolizma, ki s krvjo iz tkiv prehaja v pljuča, kjer se nato v izdihanem zraku izloči iz telesa.  $\text{PCO}_2$  krvi je torej sorazmerno povezan s stopnjo produkcije  $\text{CO}_2$  v telesu in obratno sorazmerno povezan z alveolarno ventilacijo. Nivo  $\text{PCO}_2$  v krvi je zato odraz pljučne ventilacije oz. dihanja. Za oceno alveolarne ventilacije lahko uporabljamo tudi vensko kri (Siristatidis in sod., 2004).

Kontrakcije maternice tekom poroda sprožijo fiziološko zmanjšanje dotoka krvi od matere do ploda, kar povzroči padec delnega tlaka kisika v krvnem obtoku ploda. V primeru hude hipoksije pride do refleksne cerebralne vazodilatacije, vendar istočasno tudi do periferne vazokonstrikcije (Siristatidis in sod., 2004). Z merjenjem presnovnih komponent, presežkom baze in bikarbonata, lahko prepoznamo tiste paciente, ki so podvrženi večjemu tveganju za razvoj akutnih ali kroničnih posledic neustrezne znotrajmaternične oskrbe s kisikom (Andres in sod., 1999).

Glede na pH meritve ob rojstvu, so pasji mladiči v stanju acidoze, ki je tako respiratorna, kot presnovna. Pri respiratorni acidozi je visok delni tlak ogljikovega dioksida. Pri presnovni acidozi je nizek presežek baze in bikarbonata. Ob rojstvu se pljuča še prilagajajo na novo funkcijo in zato v začetnem obdobju plinska izmenjava ni ustrezno vzpostavljena, da bi lahko zagotovila primerno kislinsko-bazno ravnotesje. Posledično pride do stanja mešane acidoze tik po porodu (Vannucchi in sod., 2012).

Eno uro po porodu so pasji mladiči še vedno v acidozi in pH je kljub povišanju še vedno pod referenčnimi vrednostmi. Merjenje presežka baze in bikarbonata eno uro po rojstvu potrdi, da presnovna komponenta še ni dosegla ravnotesja. Adaptacija dihalnega sistema na novo vlogo po rojstvu je pomemben faktor pri vzpostavljanju kislinsko-baznega ravnotesja. Z ustrezno frekvenco dihanja, mladič izloči presežek  $\text{CO}_2$  in normalizira njegovo vrednost v krvi. Vendar ena ura ni dovolj, da bi se presnovno neravnotesje stabiliziralo (Lúcio in sod., 2009).

Pri mladičih pogosto pride do nizkega  $\text{PCO}_2$  oz. hipokapnije, kar je posledica hipoksemije, sepse, stresa, bolečine, lahko pa je tudi odraz respiratorne kompenzacije pri primarni

presnovni acidozni. Padec PCO<sub>2</sub> in pohitren metabolizem plodu omogočijo razvoj anaerobnega stanja, ki ohranja presnovno acidozo.

Novorojenki so fiziološko prilagojeni in lahko preživijo tudi z manjšimi koncentracijami kisika v krvi. Tako so pasji mladiči tik po porodu običajno v stanju fiziološke hipoksije. V urah, ki sledijo, hipoksija ostaja, saj se poveča potreba po kisiku, zaradi hitrejšega plodovega metabolizma (Lúcio in sod., 2009).

#### **2.6.4 Merjenje laktata in glukoze v krvi novorojencev v veterini**

Meritve laktata v krvi so se pri ljudeh izkazale za uporabno metodo pri diagnozi, nadzorovanju pacientov in prognozi širokega spektra kliničnih stanj. Uporaba meritev pri malih živalih vedno bolj narašča in tudi številne raziskave so predstavile uporabnost pri kritični negi. Razvili so enostavne, prenosne in dostopne meritve laktata, ki so olajšali delo. Vendar so odkrili, da lahko določeni dejavniki vplivajo na točnost rezultatov. Do majhnega povišanja rezultatov pride ob vzorčenju krvi, ki je dalj časa zastala na istem mestu, še večja odstopanja pa se kažejo pri pacientih, pri katerih je prišlo do povečane mišične aktivnosti, kot je tresenje. Prav tako se lahko vrednosti laktata razlikujejo glede na mesto odvzema krvi. Nivo laktata se lahko meri v serumu, plazmi ali krvi (Pang in Boysen, 2007; Groppetti in sod., 2010).

Do anaerobnega metabolizma pride, če celice ne dobijo zadostne količine kisika, potrebne za potek normalne aerobne energetske produkcije. To se zgodi, ko je potreba po energiji višja kot običajno. Na celični ravni poteka razpad glukoze in oksidacija do piruvata. Iz piruvata nastaja laktat hitreje kot ga lahko telo odstrani, kar povisva laktat v krvi živali.

Povišana koncentracija laktata v krvi nakazuje na nivo anaerobnega celičnega metabolizma, ki se odvija v telesu in je pokazatelj tkivne hipoperfuzije. Nivo laktata se dvigne še preden so vidne spremembe utripa srca, krvnega pritiska ali količine izločenega urina, kar pomeni, da je ta metoda prepoznavanja hipoperfuzije občutljivejša. Z merjenjem laktata v krvi zato hitreje zaznamo spremembe in lahko pravočasno ukrepamo, s tem pa se izognemo morebitnim zapletom, ki lahko privedejo do smrti pacienta (Pang in Boysen, 2007; Groppetti in sod., 2010).

Koncentracija laktata v popkovni krvi se je izkazala kot učinkovit pokazatelj pri napovedi smrtnosti novorojencev v prvih dveh dneh po rojstvu. V raziskavi, ki jo je opravil Groppetti

s sodelavci, so ugotovili, da je prelomna vrednost koncentracije laktata v popkovni krvi 5 mmol/L tista, ki loči zdrave mladiče od mladičev v hujšem stresu (Groppetti in sod., 2010).

V raziskavi so ugotovili, da so koncentracije laktata najvišje pri mrtvorojenih psičkih in višje pri psičkih rojenih z naravnim porodom kot s carskim rezom (Groppetti in sod., 2015).

Pri novorojencih mladičih pogosto pride do prehodne hipoglikemije. Pomanjkljive zaloge glikogena ob porodu so pogoste pri mladičih z nizko telesno težo, mladičih, ki so majhni glede na starost zaradi nezadostne oskrbe prek placente, in mladičih ki trpijo zaradi zaustavljenega dihanja ali hude motnje dihanja ob porodu. Pri takšnih mladičih pride do porabe zalog glikogena zaradi anaerobne glikolize, sploh če pride do daljšega časa brez hranjenja. Vzrok je lahko tudi v pomanjkljivi funkciji encimov, ki še ni povsem razvita. Takšnim novorojencem je potrebno dajati zunanjji vir glukoze (Lantzy, 2015).

V raziskavi, ki jo je opravil Groppetti s sodelavci, so potrdili, da je koncentracija glukoze, ki so jo merili v amnijski tekočini, najnižja pri mladičih, ki so poginili v dveh dneh. Sicer pa je koncentracija glukoze višja pri psičkih rojenih z naravnim porodom, kot pri psičkih rojenih s carskim rezom. Povprečna vrednost koncentracije glukoze izmerjene v amnijski tekočini, je bila 0,77 mmol/l pri psičkih ki so poginili v dveh dneh in 1,11 mmol/l pri preživelih (Groppetti in sod., 2010). Razlika v koncentracijah glukoze, bi lahko bila relevantni klinični parameter pri odkrivanju hipoglikemičnih pacientov (Groppetti in sod., 2015). V izogib komplikacijam se novorojencem lahko izmeri kri s prenosnimi glukometri, ki so enostavni za uporabo, in se jim po potrebi doda zunanjji vir glukoze (Lantzy, 2015).

V obdobjih ob koncu brejosti psice, kotenu in tik po kotitvi je os hipotalamus- hipofiza-nadledvična žleza ključni sistem nadzora številnih fizioloških procesov, ki zajemajo končno dozorevanje plodovih organov in odziv na stres. Tik po kotitvi, ko novorojenec doživi mnoge fiziološke in presnovne spremembe potrebne za preživetje, je os hipotalamus-hipofiza-nadledvična žleza ključna za prilagoditev novorojenca na novo življenje zunaj maternice. Nadledvične žlezne, v odgovor na adrenokortikotropni hormon, začnejo sintetizirati kortizol, ki je vključen v številne pred in poporodne procese. Izpeljane so bile raziskave pri ljudeh, ki so proučevale funkcijo plodov z delovanjem novorojenčeve osi hipotalamus-hipofiza-nadledvična žleza in koncentracijo kortizola v plodovi in popkovni krvi. Pri ljudeh so tudi odkrili, da koncentracije kortizola pri plodu nenadoma porastejo v zadnjih tednih nosečnosti in so povezane z dozorevanjem plodovih pljuč. Odkrili so tudi, da kortizol v amnijski

tekočini izvira iz plodu in ne iz materinega seruma ter da se največja količina kortizola nahaja v plodovem urinu. Vendar so takšne raziskave zaradi invazivnosti metode v veterini omejene. Zato so Bolis in sodelavci (2017) merili koncentracijo kortizola v amnijski in alantoisni tekočini in ne v krvi pri novorojenih psih, saj je ta metoda manj invazivna in ne moti nege novorojenca po kotitvi. Gledano s kliničnega vidika so ugotovili, da je močno povišana koncentracija kortizola pri psih, ki so poginili v prvem dnevu po rojstvu, lahko pomemben podatek pri odkrivanju novorojenih psov, ki potrebujejo poseben nadzor v prvih štiriindvajsetih urah življenja in bi bila lahko koristna metoda združena skupaj z oceno po Apgarjevi. Poseben nadzor bi zajemal hospitalizacijo kritičnih novorojencev, oksigenacijo, nenehen nadzor nad njihovo dihalno funkcijo in po potrebi dodajanje surfaktanta (Bolis in sod., 2017).

## **2.7 PRIRAST MLADIČEV IN IZGUBE V PRVIH DNEH ŽIVLJENJA**

Neonatalno obdobje pomeni prve 2-3 tedne življenja mladiča. Mladiči v prvem tednu življenja pri materi sesajo na 2-4 ure, preostanek dneva pa prespijo. Ker možgani ob rojstvu niso popolnoma razviti, nekateri živčno mišični refleksi niso prisotni. Sposobni so le plazenja, sesanja in oglašanja ter se odzovejo le na dražljaje kot so vonj, dotik in bolečina. Deseti do dvanajsti dan življenja naj bi pasji mladiči tehtali dvakrat več kot ob porodu (Casal, 2010).

Novorojeni so še posebej kritična starostna skupina, saj so zaradi slabo razvitih mehanizmov uravnavanja telesne temperature zelo dovzetni za razvoj hipotermije. Ob nizki temperaturi okolja niso sposobni reagirati s periferno vazokonstrikcijo in drhtenjem. Poleg tega imajo nizke energijske rezerve, poraba energije je visoka, njihova jetra niso sposobna proizvesti zadostne količine energije in posledično hitro pada v hipoglikemijo. Obstaja tudi nevarnost dehidracije, saj imajo višji delež vode (82%) kot odrasli, v primerjavi z odraslimi imajo tudi višje razmerje med telesno površino in telesno prostornino. Skozi pljuča in kožo izgubljajo več vode, njihova ledvična funkcija pa še ni optimalno razvita, kar le še poveča nevarnost dehidracije (Tønnessen in sod., 2012).

Delež mrtvorjenih mladičev in neonatalna smrtnost sta pri psih pogosta. Slednjo lahko razdelimo v zgodnjo in pozno smrtnost, kjer prva pomeni pogine v prvem tednu življenja, slednja pa pogine od sedmega do 28. dneva po porodu. V obsežni retrospektivni raziskavi

so leta 2012 ugotovili, da je bila perinatalna smrtnost (mrtvorjeni mladiči in mladiči, ki so poginili v prvem tednu življenja) prisotna v 24,6 % vseh legel. Pri tem je 8 % mladičev poginilo pred enim tednom po porodu (4,3 % jih je bilo mrtvorjenih, pri 3,7 % pa je šlo za zgodnjo neonatalno smrtnost). Smrtnost je bila najvišja ob porodu in do konca prvega teda, le 1 % mladičev je poginilo kasneje kot 7 dni po porodu. Ugotovili so tudi, da so se pri različnih pasmah pojavili različni odstotki mrtvorjenih mladičev npr. 2,2 % pri lisičarjih, 4,6 % pri beaglih, 5,6 % pri bokserjih in 7,2 % pri nemških ovčarjih (Tønnessen in sod., 2012).

Raven mrtvorjenih mladičev in neonatalne smrtnosti v prvih 3 tednih je pri psih močno variabilna in odvisna od različnih faktorjev. Pri tem so pomembni kakovost poroda, odstotek prirojenih anomalij, okolje in pridobljene bolezni (Groppetti in sod., 2010). Faktorje, ki vplivajo na visoko smrtnost mladičev lahko v grobem razdelimo na vpliv mame (slaba skrb za mladiče, pomanjkljiva produkcija mleka, travma), vpliv poroda (podaljšan porod, distocija, druge anomalije med porodom), vpliv mladiča (nizka obporodna teža, prirojene anomalije, podhranjenost, neješčnost), vpliv okolja (neprimerna zunanjega temperatura in vlaga, umazanje) in vpliv infekcijskih mikroorganizmov (Tønnessen in sod., 2012). Glavni vzrok za visoko neonatalno smrtnost mladičev je zadušitev plodu, ki predstavlja 42,5 % vseh primerov smrtnosti. Večina teh mladičev pogine že med porodom, oziroma v prvih 24 urah (Forsberg, 2010).

## 3 MATERIALI IN METODE

### 3.1 MATERIALI

Raziskavo je odobrila komisija za dobrobit živali Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani, pridobitev soglasja Etične komisije za poskuse na živalih ni bila potrebna. Lastniki psic so bili pred carskim rezom ali vaginalnim porodom obveščeni o poteku raziskave in so podpisali izjavo o sodelovanju v raziskavi (Priloga 1-Izjava o sodelovanju v raziskavi). V raziskavo smo vključili mladiče, ki so se skotili z urgentnim carskim rezom, elektivnim carskim rezom ali vaginalnim porodom.

### 3.2 METODE

#### 3.2.1 Kirurški poseg – carski rez in odvzem vzorcev

##### 3.2.1.1 Pregled pred anestezijo

Za elektivni carski rez smo se pri psicah odločili, če je šlo za pasmo pri katerih smo predvidevali, da vaginalni porod ne bo mogoč (npr. brahicefalične pasme), če je bila psica zelo majhna, plodov pa je bilo veliko, če smo predvidevali, da vaginalni porod ne bo potekal normalno (če je bil plod le en in zelo velik, če je pri psici v preteklosti že prišlo do distocije ob vaginalnem porodu) in na željo lastnika zaradi prej omenjenih razlogov. Urgentni carski rez smo naredili v vseh primerih, ko je pri psici tekom vaginalnega poroda ali pred njegovim začetkom prišlo do distocije ali porod ni normalno napredoval oz. je bil predviden dan poroda presežen, plodovi ali psica pa so kazali znake stresa (to smo določili z UZ trebuha psice in merjenjem frekvence srca mladičev, ter kliničnim pregledom in krvno preiskavo psice).

Pred posegom smo pri psicah najprej odvzeli anamnezo, ki je vključevala podatke o splošnem stanju živali, prehranske navade, čas zadnjega obroka, morebitne bolezni in dotedanja zdravljenja, ter reakcije na pretekle anestezije. Sledil je splošni klinični pregled psice, kjer smo izmerili periferni pulz, rektalno telesno temperaturo, frekvenco dihanja ter avskultirali pljuča in srce živali. Pregledali smo tudi barvo sluznic in veznic, ter izmerili čas polnjenja kapilar.

Psici smo z namenom določanja predoperativnega zdravstvenega statusa iz ene izmed perifernih ven odvzeli vensko kri in naredili splošno krvno sliko s hematološkim analizatojem ADVIA® 120 (Siemens; München, Nemčija) in plinsko analizo krvi s pomočjo naprave in VetScan i-STAT® 1 (Abaxis; Union City; Kalifornija). Po odvzemu krvi smo v levo ali desno cefalično veno vstavili intravensko kanilo primerne velikosti in začeli s pripravami na kirurški poseg.

### 3.2.1.2 Anestezija brejih živali vključenih v raziskavo

Živali smo 15 min preoksigenirali s 100 % kisikom (Slika 4) in jih med tem pobrili po trebuhi. Uvod v anestezijo smo izvedli z intravenskim dajanjem propofola (Propoven; Fresenius Kabi Ltd.; Runcorn; Velika Britanija) v odmerku 4-7 mg/kg telesne teže. Po inciziji kože so psice prejele metadon (Comfortan; Dechra; Northwich; Velika Britanija) v odmerku 0,2 mg/kg telesne teže podkožno. Anestezijo smo vzdrževali s plinskim anestetikom sevofluranom (Sevoflurane; Dräger; Lübeck; Nemčija) v koncentraciji 1,5-3 %. Tekom operacije so živali prejemale intravensko tekočinsko terapijo ringerjevega laktata (Hartmanova raztopina; B. Braun; Melsungen; Nemčija) v odmerku 5-10 ml/kg/uro. Štiri ure po prvem odmerku so psice ponovno dobile metadon v odmerku 0,2 mg/kg telesne teže podkožno. Analgezijo po posegu smo zagotovili s tramadolijevim kloridom (Tramal; Stada; Bad Vilbel; Nemčija), ki so ga psice prejemale po potrebi v odmerku 3 mg/kg vsakih 12 ur peroralno, maksimalno tri dni po posegu.

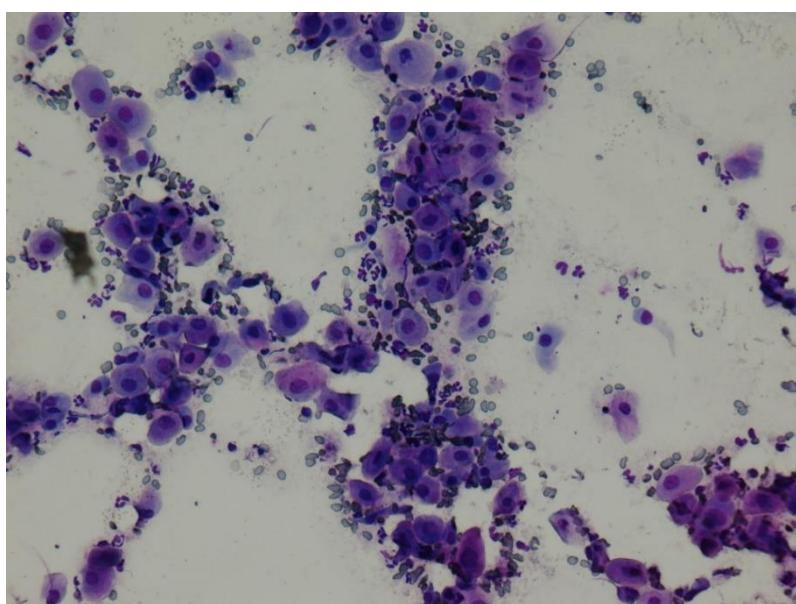
### 3.2.1.3 Določanje najugodnejšega časa za elektiven carski rez

Najugodnejši čas za carski rez smo določali s kombinacijo različnih metod. Če smo psico spremljali od vsega začetka, še preden je prišlo do brejosti, smo odvzeli bris vaginalnega epitelija in naredili citološko preiskavo z namenom določanja obdobja ciklusa psice. Slika 5 in Slika 6 prikazujeta tipičen izgled citologije vaginalnega brisa psice v proestrusu in estrusu. V proestrusu vidimo predvsem parabazalne in intermedialne celice s številnimi eritrociti in nevtrofilci, ki so v zgodnji fazi proestrusa še lahko prisotni, v estrusu pa superficialne celice in nekaj eritrocitov. Če je bila psica glede na citološke izvide v estrusu, smo izmerili koncentracijo serumskega progesterona in tako določali kdaj je prišlo do LH vala (ko je progesteron presegel koncentracijo 2 ng/ml smo smatrali, da gre za zgodnji porast progesterona, ki sovpada z LH valom psice). Predviden datum poroda smo računali glede na LH val in sicer približno 65 dni po njem, okviren datum elektivnega carskega reza pa smo

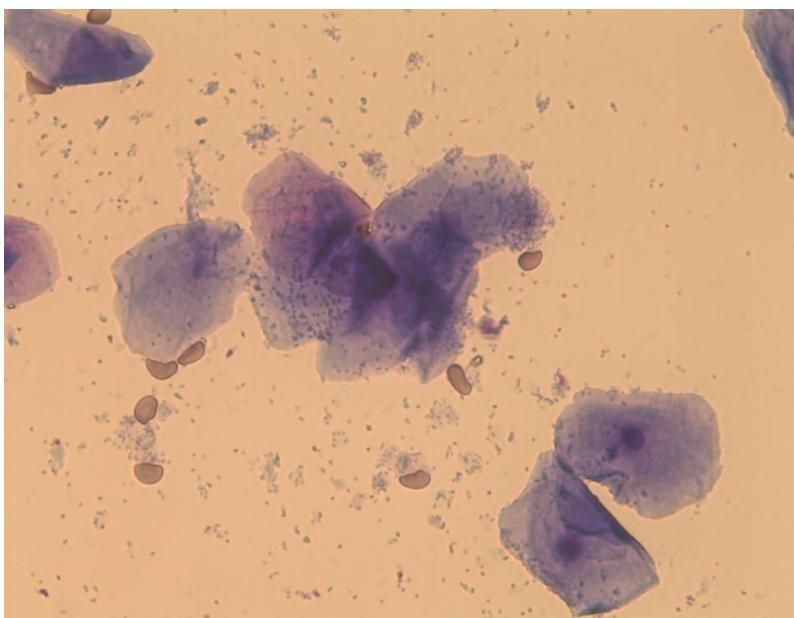
načrtovali 63. dan po LH valu. Pred porodom smo opravili UZ preiskavo trebuha psice in ocenili vitalnost plodov (frekvenca srca in aktivnost). Zadnji teden pred porodom so lastniki dvakrat dnevno psicam merili telesno temperaturo, mi pa smo 3 dni pred predvidenim datumom poroda spremljali koncentracijo serumskega progesterona psice. Ko je slednja padla pod 5 ng/ml smo se odločili za elektivni carski rez.



Slika 4: Preoksiгенacija psice (Plavec, 2011).  
Figure 4: Preoxygenation of the bitch (Plavec, 2011).



Slika 5: Vaginalni bris pri psici prikazuje proestrus. Barvilo: Diff Quick, povečava 200x (Zakošek Pipan, 2017).  
Figure 5: Vaginal smear of a dog in proestrus. Stain: Diff Quick, magnification 200x (Zakošek Pipan, 2015).



Slika 6: Vaginalni bris pri psici v obdobju estrusa. Barvilo: Diff Quick, povečava 400x (Zakošek Pipan, 2015).

Figure 6: Vaginal smear of a dog in estrus. Stain: Diff Quick, magnification 400x (Zakošek Pipan, 2017).

#### 3.2.1.4 Carski rez in pridobitev vzorcev

Carski rez smo opravili s sredinskim rezom trebuha od sramnice do popka in ventralnim rezom materničnega telesa, kar je omogočilo hitro odstranitev plodov. Plod, ki je ležal najbolj kavdalno smo odstranili najprej, nato pa izmenično plodove iz levega in desnega materničnega roga.

Ko so bili mladiči še v amnijski vreči, smo s 5 ml brizgo in iglo debeline 20 G odvzeli vzorce amnijske tekočine, mladiče sprostili iz amnijske vreče (Slika 7) in popkovino stisnili s hemostatskimi prijemalkami. Potem smo iz popkovine odvzeli vsaj 100 µl popkovne krvi. Po stabilizaciji mladičev smo odvzeli še vzorce urina. Mladiče smo z vlažnim tamponom stimulirali do spontanega uriniranja in urin ujeli v epruveto.



Slika 7: Iztis mladiča iz amnijskega mehurja pri carskem rezu (Zakošek Pipan, 2017).

Figure 7: Removal of the puppy from the amniotic sack during cesarean section (Zakošek Pipan, 2017).

Maternico smo zaprli s tekočimi šivi v enim sloju z monofilamentnim resorbibilnim šivalnim materialom velikosti 4/0 ali 3/0 (Biosyn; Covidien; Dublin; Irska). Na koncu smo v maternico aplicirali 1 IE oksitocina (Oxytocin; veyx-Pharma GmbH; Schwarzenborn; Nemčija) in tako povzročili krčenje maternice in lažje čiščenje. Pred zapiranjem trebuha smo trebušno votlino temeljito pregledali in sprali z 0,9 % natrijevim kloridom (fiziološka raztopina; B Braun; Melsungen, Nemčija) ogretim na telesno temperaturo. Za zapiranje trebušne votline smo uporabili enostaven tekoči šiv in monofilamenten resorbibilni šivalni material velikosti 3/0 ali 2/0 (Biosyn; Covidien; Dublin; Irska) za zapiranje podkožja in kože pa smo uporabili enostaven tekoči šiv in intradermalni šiv in monofilamenten resorbibilni šivalni material velikosti 4/0 ali 3/0 (Caprosyn; Covidien; Dublin; Irska).

### 3.2.2 Vaginalni porod in odvzem vzorcev

Pri mladičih, ki so se skotili z vaginalnim porodom (Slika 8) smo vzorec amnijske tekočine odvzeli s 5 ml brizgo in iglo debeline 20 G le, če se je mladič skotil z nepretrganim amnijskim mehurjem. Po odvzemu amnijske tekočine smo mladiča sprostili iz amnijskega mehurja, popkovino pa stisnili s hemostatskimi prijemalkami in iz nje odvzeli vsaj 100 µl popkovne krvi. Po stabilizaciji mladičev smo odvzeli še vzorce urina. Mladiče smo z vlažnim tamponom stimulirali do spontanega uriniranja in urin ujeli v epruveto.



Slika 8: Vaginalni porod pri psici. Na sliki je mladič, ki se je porodil potem, ko je amnijski mehur že počil (arhiv: Medical Genetics and Reproduction, Penn University, 2009).

Figure 8: Vaginal parturition in a bitch. Depicted is a puppy being born after the amniotic sack had already burst (archive: Medical Genetics and Reproduction, Penn University, 2009).

### 3.2.3 Vzorci in obdelava

#### 3.2.3.1 Plinska analiza amnijske tekočine in popkovne krvi

S prenosnim analizatorjem VetScan i-STAT® 1 smo izvedli plinsko analizo popkovne krvi. Uporabili smo kartušo CG8+ (Abaxis; Union City; Kalifornija), ki meri pH, parcialni tlak ogljikovega dioksida, parcialni tlak kisika, presežek baze, bikarbonat, skupni ogljikov dioksid, saturacijo krvi, elektrolite (natrij, kalij, ioniziran kalcij), glukozo, hematokrit in hemoglobin.

Kartuša za enkratno uporabo vsebuje vse komponente potrebne za izvedbo testov skupaj s kalibracijsko raztopino, senzorji in reagenti. Analizator avtomatično kontrolira vse korake testnega cikla, kot so premikanje tekočin, mešanje reagentov, kalibracija in nadzor temperature. Kartuše smo shranjevali v hladilniku. Pred uporabo kartuše smo z analizatorjem skenirali kodo na ovojnem papirju kartuše in jo nato odprli. Z 1 ml brizgo in iglo debeline 23 g smo napolnili vdolbino v kartuši do označenega mesta s popkovno krvjo z antikoagulantom in zaprli pokrovček nad vdolbino. Nato smo kartušo vstavili v analizator in

po dveh minutah odčitali rezultate iz ekrana, ki smo jih tudi natisnili na prenosnem tiskalniku.

### 3.2.3.2 Določanje laktata v amnijski tekočini in popkovni krvi

Z merilcem Accutrend® Plus Meter (Roche; Basel; Švica) smo merili koncentracijo laktata v amnijski tekočini in popkovni krvi.

Accutrend® Plus Meter je prenosna naprava za merjenje laktata, holesterola, glukoze in trigliceridov iz kapilarne krvi, z uporabo testnih trakov. Merilna naprava najprej s skeniranjem traku iz kode prebere specifične karakteristike serije testnih trakov, ki bodo uporabljeni. Za izvedbo testa smo vzeli neuporabljen trak iz hranilne posodice in ga vstavili v merilec. Ko je trak vstavljen, je mesto nanosa vzorca osvetljeno z LED (light-emitting-diode) s spodnje strani. Vzorec krvi smo nanesli na predvideno mesto nanosa in zaprli pokrov merilnega mesta. Poteče encimska reakcija s komponento, ki jo določamo v vzorcu, v našem primeru laktat in tako nastane barva. Količina nastale barve je višja pri višji koncentraciji laktata. Intenzivnost barve merilec izmeri s ponovnim presvetljevanjem mesta nanosa vzorca z LED. Jakost odbojne svetlobe izmer detektor prek reflektne fotometrije. Glede na moč signala odsevne svetlobe, je izmerjena vrednost, ki se izpiše na ekranu in shrani v spomin merilca.

### 3.2.3.3 Določanje glukoze v amnijski tekočini in popkovni krvi

Z merilcem Wellion Gluco Calea (Med Trust Handelsges.m.b.H.; Marz; Avstrija) smo merili koncentracijo glukoze v amnijski tekočini in popkovni krvi. Merilnik sladkorja v krvi je narejen specifično za pse, mačke in konje. Za testiranje smo uporabili 0,5 mikrolitra popkovne krvi, ki smo jo vnesli v merilec vstavljene glukozno specifične Wellion gluco calea testne lističe z biosenzorji za glukozo v polni krvi. V štirih sekundah so se na ekranu izpisali rezultati.

### 3.2.3.4 Določanje kortizola v urinu in amnijski tekočini

Z merilcem MiniVidas analyzer (BioMerieux S.A.; Lyon; Francija), smo merili koncentracijo kortizola v amnijski tekočini in v urinu. Glede na navodila proizvajalca zajema razpon meritev od 2–1000 ng/ml v človeškem serumu. Analizator je bil očiščen, kalibriran in uporabljen po navodilih proizvajalca.

VIDAS Cortisol S je avtomatiziran test VIDAS sistema, ki omogoča direktno kvantitativno merjenje kortizola v serumu ali plazmi. Z namenom ugotovitve ponovljivosti testa za naše vzorce, pri katerih smo merili kortizol v amnijski tekočini in v urinu, smo uporabili 4 vzorce pasje amnijske tekočine in urina z višjim nivojem koncentracije kortizola (20.3 ng/ml) in 4 vzorce z nižjim nivojem koncentracije kortizola (2.4 ng/ml), ki so bili analizirani štirikrat v istem dnevu. Koeficient variacije (CV) je bil izračunan kot standardna deviacija/povprečna koncentracija  $\times 100$ . Koeficiente variacije za amnijsko tekočino in urin sta bila  $6,7 \pm 1,3\%$  in  $7,3 \pm 2,1\%$ .

VIDAS Cortisol S je avtomatiziran test za VIDAS sistem, ki omogoči kortizolu v serumu ali plazmi, da je direktno kvantitativno izmerjen. Ekstrakciji kortizola z diklorometanom sledi analiza urinskih vzorcev. Test kombinira kompetitivni ELISA test s testom imunofluorescence. Reagenti uporabljeni za test so vnaprej pripravljeni in dani na zapečatene reagenčne trakove. Vsi koraki testa so izvedeni avtomatično z inštrumentom. Reakcijski medij večkrat kroži v in izven trdne faze (SPR). Vzorec je prenešen v luknjico na katero je vezan konjugat – alkalni fosfatni derivat kortizola. Kortizol v vzorcu tekmuje z derivatom kortizola pri vezavi na mesta specifičnih protiteles antikortizola, ki so fiksirana na notranjost SPR. Konjugiran encim katalizira hidrolizo tega substrata v fluorescentni produkt (4-Methyl-umbelliferone), katerega fluorescenco izmerimo pri 450 nm. Intenziteta fluorescence je obratno sorazmerna s koncentracijo antiga v vzorcu. Po končanem testu, so vzorci avtomatično izračunani z inštrumentom, v povezavi s shranjeno kalibracijsko krivuljo. Na koncu aparatura natisne rezultate.

### **3.2.4 Ocenjevanje novorojencev**

Tik po porodu ali carskem rezu smo določili oceno vitalnosti mladičev in jih po potrebi oživljali. Ko so bili mladički stabilni, smo vsakega posebej stehtali in pregledali na prisotnost različnih malformacij (volče žrelo, zajčja ustnica, nerazvit anus).

V primeru, da psice niso imele mleka, so mladički dobili kapljico 40 % glukoze. Za podatke o preživelosti je bil vsak mladič razporen v kategorijo živorojen ali mrtvorojen.

#### 3.2.4.1 Ocena po Apgarjevi

Pomoč novorojencem smo izvajali po potrebi tik po rojstvu. Za oceno vitalnosti smo uporabili modificirano ocena po Apgarjevi (Veronesi in sod., 2009; Veronesi, 2016), pri

kateri smo za izračun vitalnosti pri mladičih opazovali ustno sluznico za določitev barve sluznic, avskultirali srce za meritev srčnega utripa in pljuča za frekvenco dihanja. Z uporabo bolečega dražljaja, močno smo jih podrgnili po hrbtnu, smo ocenili vzdražljivost refleksov (Slika 9). Za oceno mišičnega tonusa, smo opazovali aktivno premikanje mladiča v hrbtnem položaju.



Slika 9: Dovajanje kisika mladiču skotenem po elektivnem carskem rezu, ter ocena vzdražljivosti. Mladiča močno podrgnemo po hrbtnem delu in ocenujemo njegovo oglašanje in premikanje (Maja Zakošek Pipan, 2017).

Figure 9: Oxygenation and reflex irritability assessment in a puppy born via elective cesarean section. The puppy's back is firmly rubbed and any vocalization and movement are assessed (Maja Zakošek Pipan, 2017).

Vsek parameter smo točkovali z 0, 1 ali 2 točkami. Oceno po Apgarejvi, ki smo jo določali 5, 15 in 60 minut po porodu, smo interpretirali glede na število zbranih točk, slaba vitalnost od 0 do 3, zmerna vitalnost od 4 do 6 in dobra vitalnost od 7 do 10 točk. Uporabljen obrazec za določanje ocene po Apgarjevi je prikazan v Prilogi 2.

#### 3.2.4.1 Ocena refleksov

Neonatalne refleksse (sesalni, odrivni in refleks vrnitve v osnovni položaj) smo ocenjevali v 5, 15 in 60 minutah po rojstvu. Pri sesalnem refleksu smo vstavili čisto, toplo konico najmanjšega prsta v gobček novorojenca in ocenjevali moč sesanja (Slika 10). Refleks vrnitve v osnovni položaj je bil ocenjen s postavitvijo novorojenca na hrbet na mehko podlago in opazovanjem, kako hitro se je vrnil v normalen položaj. Sesalni refleks je bil ocenjen tako, da smo postavili dlan v obliki kroga na gobček novorojenca blizu oči in ugotavljalci ali se je novorojenec odzval s pritiskom gobčka v odprtino med prsti. Vsak refleks je bil točkovani s točkami od 0 do 2, potem pa izračunan skupni seštevek. Interpretacija

rezultatov je bila sledeča: slabo odzivni od 0 do 2, zmerno odzivni od 3 do 4 in dobro odzivni od 5 do 6 točk. Uporabljen obrazec za določanje refleksov je prikazan v Prilogi 2.



Slika 10: Ocenjevanje sesalnega refleksa pri mladiču (Plavec, 2017).  
Figure 10: Assessment of suckle reflex in a puppy (Plavec, 2017).

Po porodu smo do 1 tedna starosti spremljali teže mladičev. Lastniki so mladiče vsakodnevno tehtali in nam posredovali podatke.

### 3.2.5 Analiza podatkov

Podatke smo zbirali in urejali v programu Microsoft Excel (2010). Za izračun osnovnih opisnih statistik in statistično analizo smo uporabili statistični programski jezik R 3.5.0 (<http://www.R-project.org>). Pri vseh testih je bilo za statistično značilnost uporabljeno merilo p vrednost nižja od 0,05. Razlike med parametri krvi, amnijske tekočine, urina in ocene vitalnosti mladičev glede na načine poroda smo testirali z neparametričnim Kruskal-Wallisovim testom vsote rangov. Razlike med relativnim prirastom med elektivnim in vaginalnim porodom smo testirali s parametričnim T-testom za neodvisne vzorce. Zaradi premajhnega števila vzorcev smo iz slednje analize izločili urgentni porod. Poleg tega smo testirali povezavo med oceno vitalnosti mladičev in načinom poroda, za kar smo uporabili Fisherjev eksaktni test. Korelacije smo podali s Spearmanovim koeficientom korelacije, statistično značilnost pa smo določali glede na prilagojeno p vrednost po Holmovi metodi. Interpretacija Spearmanovega koeficiente korelacije je naslednja: 0,00-0,19 – zelo nizka/šibka; 0,20-0,39 – nizka/šibka; 0,40-0,59 – srednja/zmerna; 0,60-0,70 - visoka/močna; 0,80-1,0 – zelo visoka/močna korelacija.

## 4 REZULTATI

Rezultati so podani kot povprečne vrednosti in standardne deviacije (povprečje  $\pm$  sd) izmerjenih vrednosti. Izjemi sta ocena po Apgarjevi in ocena refleksov, kjer so rezultati podani kot mediane ter prvi in tretji kvartil. Za to obliko prikaza smo se pri oceni po Apgarjevi in oceni refleksov odločili zaradi značilnosti merjenega parametra, pri katerem ocenjujemo vitalnost mladiča s pomočjo lestvice vitalnosti oz. ocenjujemo prisotnost posameznih refleksov. V primeru, da so se rezultati med posameznimi načini poroda statistično značilno razlikovali, smo jih prikazali grafično. Okvirji v grafih prikazujejo srednjih 50 % vrednosti spremenljivke, debelejša črta prikazuje mediano, ročaji (pogojni) minimum in maksimum, točke pa osamelce.

### 4.1 OSNOVNI PODATKI O PRIDOBILJENIH VZORCIH

V raziskavo je bilo vključenih 123 mladičev, ki so se skotili 20 psicam (porodov je bilo 22, 2 psici sta kotili dvakrat). Vzorčenje je potekalo od marca 2017 do maja 2018. Povprečno število mladičev v leglu je bilo  $5,59 \pm 2,38$ . Psice so bile različnih pasem in smo jih glede na njihovo velikost razdelili v tri skupine (velike pasme, srednje velike pasme in majhne pasme). Tabela 1 prikazuje število psic v posamezni skupini in skupno število mladičev.

Tabela 1: Število (delež) mladičev vključenih v raziskavo glede na velikost psice.

Velikost psice	Število psic (delež)	Skupno število mladičev (delež)
Majhne pasme	10 (46 %)	44 (36 %)
Srednje velike pasme	8 (36 %)	50 (40 %)
Velike pasme	4 (18 %)	29 (24 %)

Glede na način poroda mladičev, so bili porodi razdeljeni v 3 skupine - vaginalni porod, elektivni carski rez in urgentni carski rez Tabela 2 vsebuje podatke o številu mladičev pri posameznih načinih poroda, njihov spol in viabilnost.

Tabela 2: Število in delež mladičev pri posameznih načinih poroda in spolu, ter število živorojenih in mrtvorojenih mladičev.

		Število mladičev	Delež mladičev
Način poroda	Vaginalni porod	68	55 %
	Elektivni carski rez	38	31 %
	Urgentni carski rez	17	14 %
Spol mladičev	Samice	63	51 %
	Samci	60	49 %
Viabilnost mladičev	Živorojeni mladiči	114	93 %
	Mrtvorojeni mladiči	9	7 %

## 4.2 OCENA PO APGARJEVI – VITALNOST MLADIČEV

Glede na število točk pridobljenih pri oceni po Apgarjevi smo mladiče razvrstili v 3 skupine – dobro vitalni, zmerno vitalni in slabo vitalni. Tabela 3 prikazuje število mladičev v posamezni skupini glede na vitalnost. Mrtvorojeni mladiči niso bili vključeni v oceno vitalnosti. Manjkajo podatki za 7 mladičev pri oceni vitalnosti po 5 in 15 minutah, ter podatki za 6 mladičev pri oceni vitalnosti po 60 minutah. Ti podatki manjkajo, ker je šlo za vaginalne porode in so se mladiči skotili še preden smo prišli na mesto poroda. Od vseh živorojenih mladičev jih je naknadno (po prvem dnevu življenja) poginilo 5 (4 % vseh mladičev, oz. 4,4 % vseh živorojenih mladičev). En izmed teh mladičev se je skotil z elektivnim carskim rezom, 2 z urgentnim carskim rezom in dva z vaginalnim porodom. Vsi mladiči so poginili v prvem tednu življenja in pri vseh je bila ob porodu ocena vitalnosti nizka. Pet minut po porodu je bilo pri vseh število točk ocene po Apgarjevi od 0 do 2, po 15 minutah se je število točk ocene po Apgarjevi rahlo izboljšalo (od 2 do 5), po eni uri pa so imeli vsi razen enega mladiča število točk ocene po Apgarjevi od 7 do 9. Mladič z nizkim številom točk ocene po Apgarjevi po 60 minutah (3 točke) je imel pri oceni po Apgarjevi po 5 minutah 1 točko, po 15 minutah pa 3 točke, skotil se je z vaginalnim porodom in poginil prvi dan po porodu. Pri enem izmed mladičev, ki je poginil tretji dan po porodu smo diagnosticirali neonatalno sepso zaradi infekcije z bakterijo *Staphylococcus pseudintermedius*. Najverjetnejše je, da je mladič

okužil preko materinega mleka, kljub temu, da je bila psica brez kliničnih znakov. Iz njenega mleka smo namreč izolirali čisto kulturo iste bakterije (Zakošek Pipan in sod., 2017). Pri ostalih poginjenih mladičih pri avtropsiji nismo odkrili infekcij, malformacij ali drugih prirojenih napak.

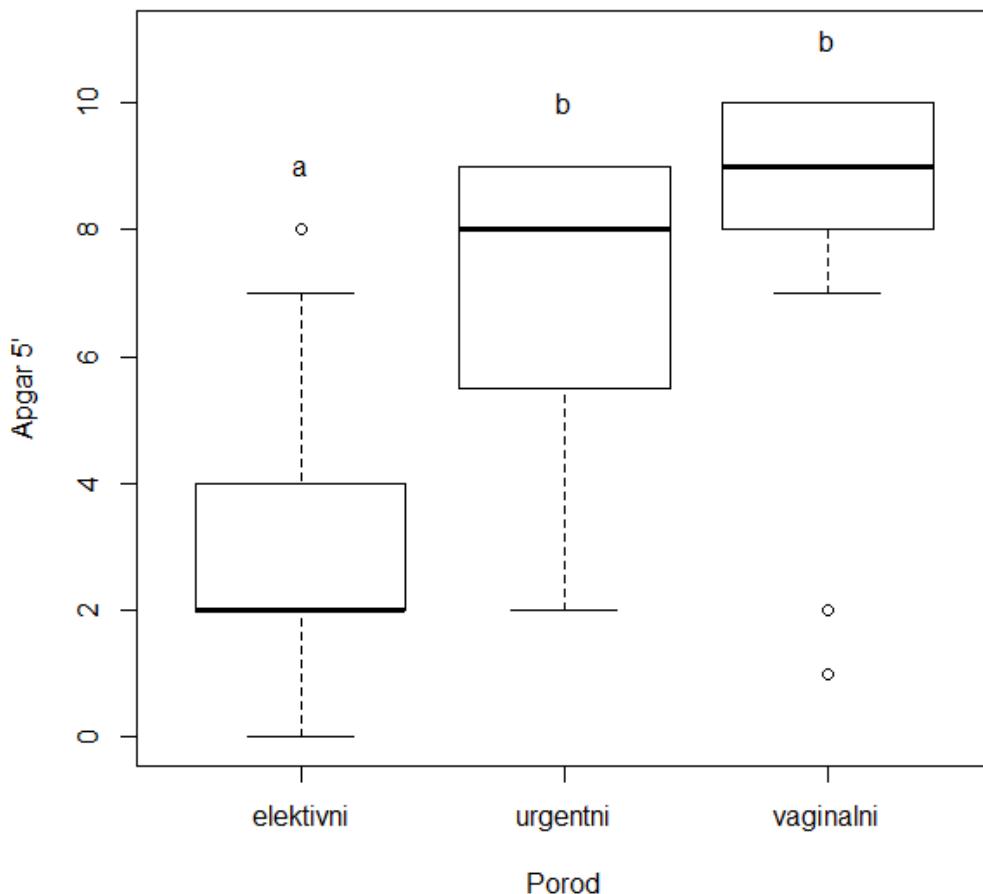
Tabela 3: Število (delež) mladičev v različnih skupinah vitalnosti glede na oceno po Apgarjevi.

Ocena po Apgarjevi	Število dobro vitalnih mladičev (delež)	Število zmerno vitalnih mladičev (delež)	Število slabo vitalnih mladičev (delež)	Število mladičev
5 minut po porodu	71 (66 %)	6 (5 %)	31 (29 %)	108
15 minut po porodu	86 (80 %)	12 (11 %)	10 (9 %)	108
60 minut po porodu	108 (99 %)	0 (0 %)	1 (1 %)	109

Mediana števila točk ocene po Apgarjevi, s katero smo ocenjevali vitalnost mladičev po porodu, je bila po 5 minutah 8, po 15 minutah 9 in po 60 minutah 10.

#### 4.2.1 Ocena po Apgarjevi po 5 minutah

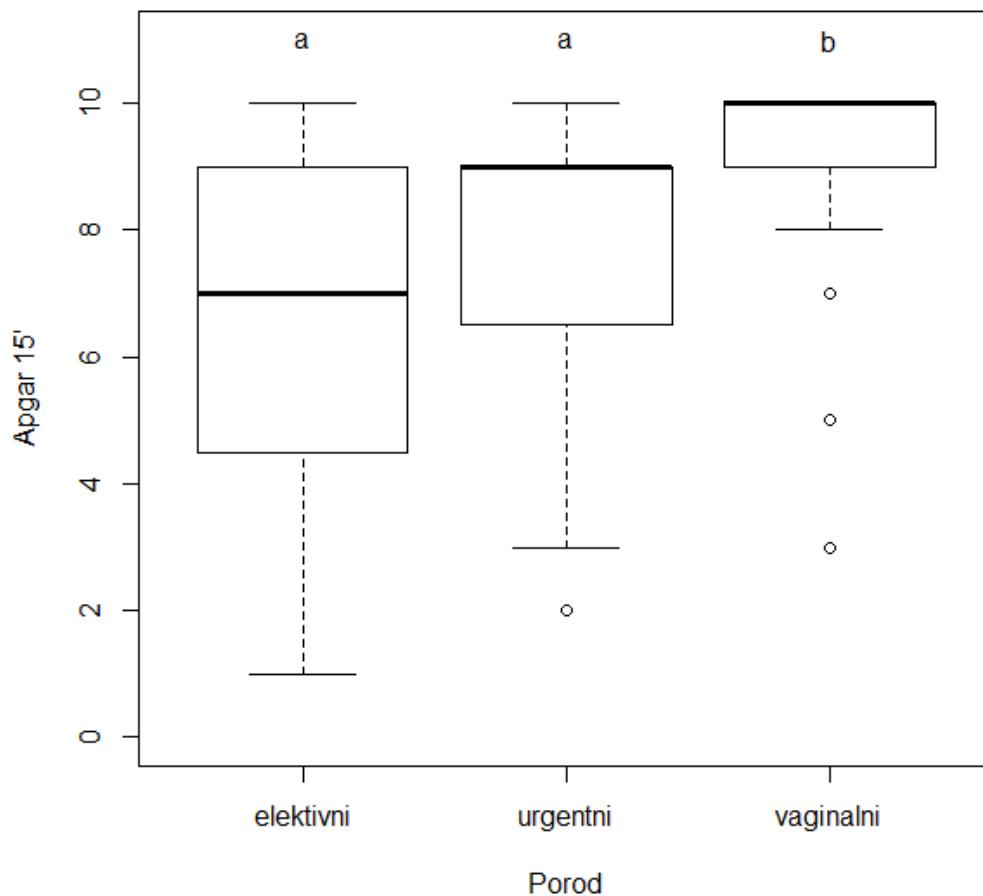
Najbolj vitalni so bili mladiči skoteni z vaginalnim porodom, sledili so mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom, najslabšo oceno vitalnosti pa so imeli mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom. Število točk ocene po Apgarjevi po 5 minutah pri elektivnem carskem rezu se je statistično značilno razlikovalo od števila točk pri urgentnem carskem rezu in vaginalnem porodu ( $p < 0,001$ ) (Slika 11).



Slika 11: Primerjava števila točk ocene po Apgarjevi po 5 minutah med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom.  
Vrednosti parametrov, ki so se statistično značilno razlikovale ( $p < 0,05$ ), so označene z različnimi črkami.  
Figure 11: A Comparison of 5 minute numerical Apgar scores of puppies born with elective caesarian section, emergency caesarian section and vaginal parturition.  
Statistically significant differences ( $p < 0,05$ ) observed between parameters are marked with different lower case letters.

#### 4.2.2 Ocena po Apgarjevi po 15 minutah

Tudi po 15 minutah so imeli najboljšo oceno vitalnosti mladiči skoteni z vaginalnim porodom. Skupina mladičev skotenih z elektivnim carskim rezom je imela sicer še vedno nižje število točk ocene po Apgarjevi od mladičev skotenih z urgentnim carskim rezom, vendar med tem dvojico skupin ni bilo več statistično značilne razlike. Razlika v številu točk ocene po Apgarjevi po 15 minutah med vaginalnim porodom in ostalima porodoma je bila statistično značilna ( $p < 0,001$ ) (Slika 12).



Slika 12: Primerjava števila točk ocene po Apgarjevi po 15 minutah med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom.  
Vrednosti parametrov, ki so se statistično značilno razlikovale ( $p < 0,05$ ), so označene z različnimi črkami.  
Figure 12: A comparison of 15 minute numerical Apgar scores of puppies born with elective caesarian section, emergency caesarian section and vaginal parturition.  
Statistically significant differences ( $p < 0,05$ ) observed between parameters are marked with different lower case letters.

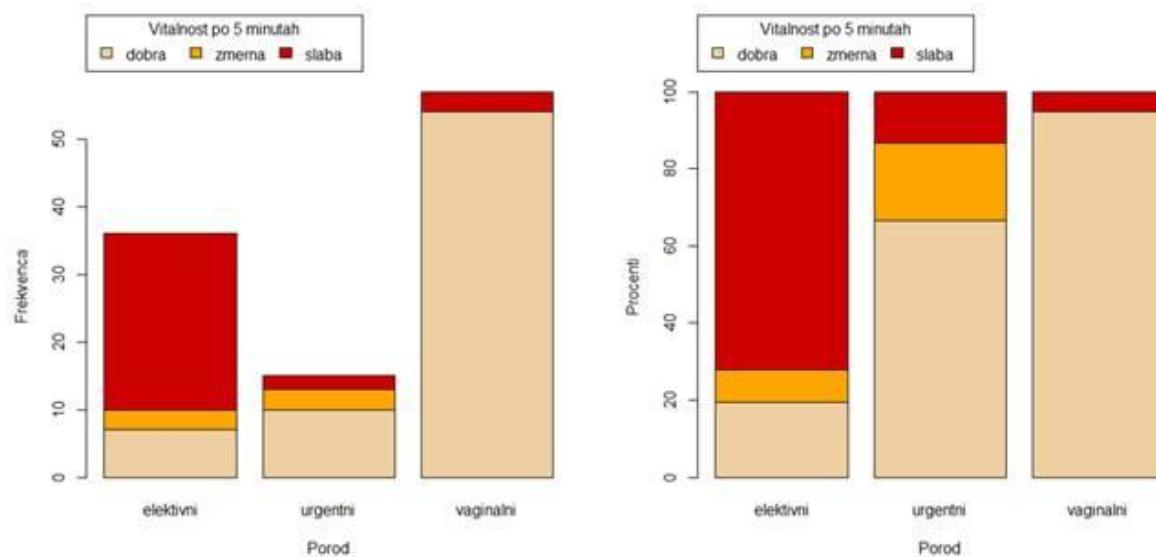
#### 4.2.3 Ocena po Apgarjevi po 60 minutah

Med različnimi skupinami v številu točk ocene po Apgarjevi po 60 minutah ni bilo statistično značilnih razlik. Pri vseh treh porodih je bila mediana števila točk ocene po Apgarjevi 10.

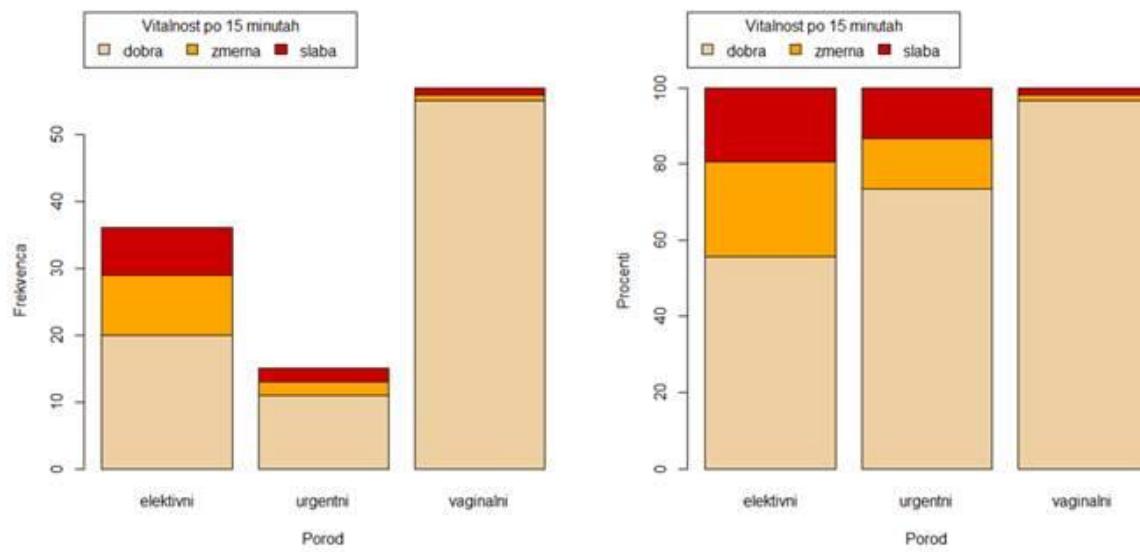
#### 4.2.4 Povezava med oceno po Apgarjevi in načinom poroda

S Fischerjevim testom smo testirali tudi povezavo med Apgar razredi (slaba vitalnost od 0-3, zmerna vitalnost od 4-6 in dobra vitalnost od 7-10 točk) in načinom poroda in tako preverili, kakšno je razporejanje v razrede. Apgar razredi po 5 minutah in Apgar razredi po

15 minutah so bili statistično značilno povezani z načinom poroda ( $p < 0,001$ ). Po 60 minutah pa povezava ni bila več statistično značilna. Pri elektivnih carskih rezih je bilo največ mladičev po 5 minutah slabo vitalnih, medtem ko je bila velika večina mladičev skotenih z vaginalnim porodom in urgentnim carskim rezom dobro vitalnih. Razlike v razporeditvi v posamezne razrede vitalnosti so bile opazne tudi po 15 minutah, kjer je razporeditev mladičev glede na vitalnost pri urgentnem carskem rezu in vaginalnem porodu ostala podobna kot pri oceni vitalnosti po 5 minutah. Pri elektivnem carskem rezu je bil po 15 minutah večji delež mladičev dobro vitalnih kot pri oceni po Apgarjevi po 5 minutah. Število in delež mladičev glede na način poroda in oceno po Apgarjevi po 5, 15 in 60 minutah so prikazani na spodnjih slikah (Slika 13, Slika 14, Slika 15). Po 5 minutah je bilo od vseh mladičev skotenih z vaginalnim porodom in urgentnim carskim rezom največ dobro vitalnih (54 mladičev oz. 95 % pri vaginalnem porodu in 10 mladičev oz. 67 % pri urgentnem carskem rezu) pri mladičih skotenih z elektivnim carskim rezom pa jih je bilo največ slabo vitalnih (26 mladičev oz. 72 %). Po 15 minutah je bilo največ mladičev pri posameznem načinu poroda dobro vitalnih.

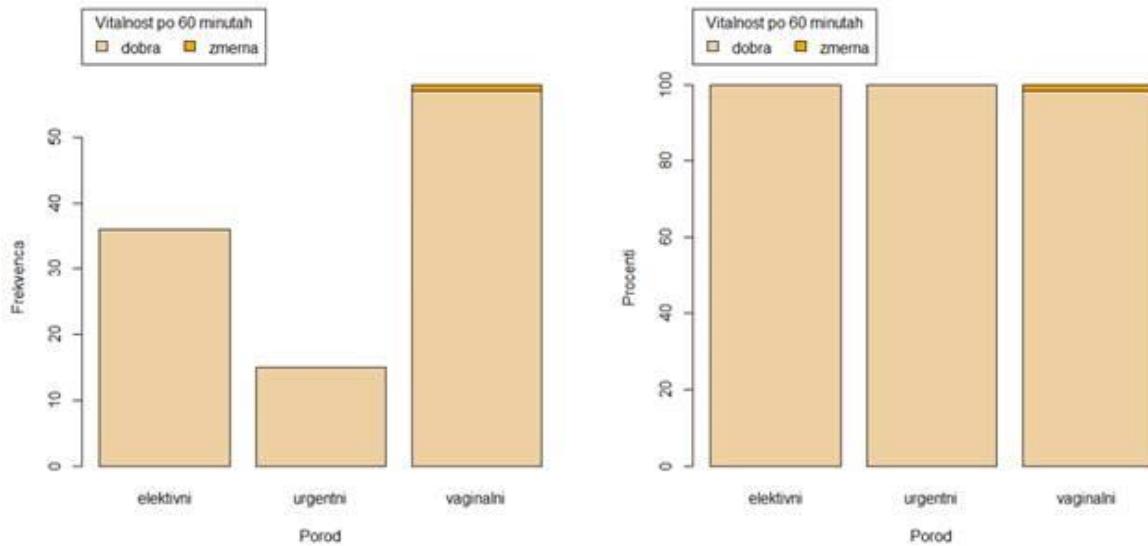


Slika 13: Število in delež mladičev glede na način poroda in Apgar razred po 5 minutah.  
Figure 13: Number and share of puppies according to parturition type and Apgar score after 5 minutes.



Slika 14: Število in delež mladičev glede na način poroda in Apgar razred po 15 minutah.

Figure 14: Number and share of puppies according to parturition type and Apgar score after 15 minutes.



Slika 15: Število in delež mladičev glede na način poroda in Apgar razred po 60 minutah.

Figure 15: Number and share of puppies according to parturition type and Apgar score after 60 minutes.

#### 4.3 OCENA REFLEKSOV PRI NOVOROJENIH MLADIČIH

Pet minut po porodu je bila mediana ocene refleksov 4 točke, prvi kvartil je bil 0 točk, tretji kvartil pa 5 točk. Po 15 minutah se je mediana povišala na 5, prvi kvartil na 3 točke in tretji na 6 točk. Po 60 minutah so mediana ter prvi in tretji kvartil dosegli maksimalno število 6

točk. Tabela 4 prikazuje število mladičev z določeno oceno refleksov glede na način poroda 5, 15 in 60 minut po porodu. Tabela 5 prikazuje število vseh mladičev razdeljenih glede na oceno refleksov. Pri statistični obdelavi ocenjevanja refleksov smo mrtvorojene mladiče izključili. Manjkajo tudi podatki za 7 mladičev pri ocenjevanju refleksov po 5 in 15 minutah ter podatki za 6 mladičev pri ocenjevanju refleksov po 60 minutah. Ti podatki manjkajo, ker je šlo za vaginalne porode in so se mladiči skotili še preden smo prišli na mesto poroda.

Tabela 4: Število (delež) mladičev z določeno oceno refleksov 5, 15 in 60 minut po porodu razdeljenih v skupine glede na način poroda.

Ocena refleksov po 5 minutah			
Način poroda	Število slabo odzivnih mladičev (delež)	Število zmerno odzivnih mladičev (delež)	Število dobro odzivnih mladičev (delež)
Vaginalni porod	3 (5 %)	13 (23 %)	41 (72 %)
Urgentni carski rez	8 (54 %)	2 (13 %)	5 (33 %)
Elektivni carski rez	28 (78 %)	3 (8 %)	5 (14 %)
Ocena refleksov po 15 minutah			
Način poroda	Število slabo odzivnih mladičev (delež)	Število zmerno odzivnih mladičev (delež)	Število dobro odzivnih mladičev (delež)
Vaginalni porod	2 (4 %)	3 (5 %)	52 (91 %)
Urgentni carski rez	5 (33 %)	2 (13 %)	8 (54 %)
Elektivni carski rez	19 (53 %)	12 (33 %)	5 (14 %)
Ocena refleksov po 60 minutah			
Način poroda	Število slabo odzivnih mladičev (delež)	Število zmerno odzivnih mladičev (delež)	Število dobro odzivnih mladičev (delež)
Vaginalni porod	1 (2 %)	1 (2 %)	56 (96 %)
Urgentni carski rez	0 (0 %)	1 (7 %)	14 (93 %)
Elektivni carski rez	0 (0 %)	3 (8 %)	33 (92 %)

Tabela 5: Število in delež mladičev razdeljenih v različne skupine glede na stopnjo odzivnosti reflekov.

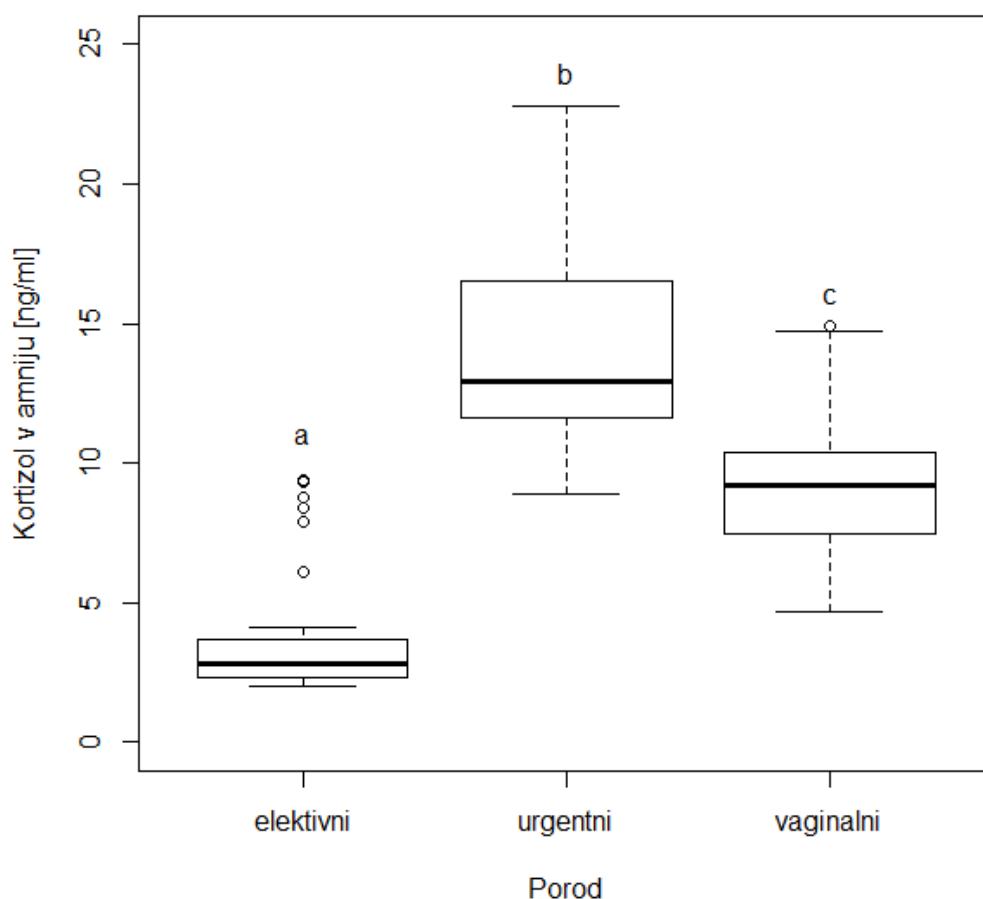
Ocena reflekov	Število dobro odzivnih mladičev (delež)	Število zmerno odzivnih mladičev (delež)	Število slabo odzivnih mladičev (delež)	Število mladičev
Ocena reflekov po 5 minutah	51 (48 %)	18 (16 %)	39 (36 %)	108
Ocena reflekov po 15 minutah	65 (60 %)	17 (16 %)	26 (24 %)	108
Ocena reflekov po 60 minutah	103 (94 %)	5 (5 %)	1 (1 %)	109

#### **4.4 SPECIFIČNA TEŽA AMNIJSKE TEKOČINE**

Povprečna vrednost specifične teže amnijske tekočine je bila  $1,00 \pm 0,12$ . Povprečna vrednost pri elektivnem carskem rezu je bila  $1,01 \pm 0,005$ , pri urgentnem carskem rezu  $0,93 \pm 0,29$ , pri vaginalnem porodu pa  $1,01 \pm 0,004$ . Med vrednostjo specifične teže amnijske tekočine pri različnih načinih porodov ni bilo statistično značilnih razlik.

#### **4.5 KONCENTRACIJA KORTIZOLA V AMNIJSKI TEKOČINI**

Povprečna koncentracija kortizola je bila  $8,14 \pm 4,46$  ng/ml. Najnižjo koncentracijo kortizola so imeli mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom ( $3,83 \pm 2,40$  ng/ml), sledila je skupina mladičev skotenih z vaginalnim porodom ( $9,24 \pm 2,36$  ng/ml), najvišji kortizol pa so imeli mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom ( $14,01 \pm 4,10$  ng/ml). Razlika v koncentraciji kortizola med vsemi tremi načini poroda je bila statistično značilna ( $p < 0,001$ ) (Slika 16).



Slika 16: Primerjava koncentracije kortizola v amnijski tekočini med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom.

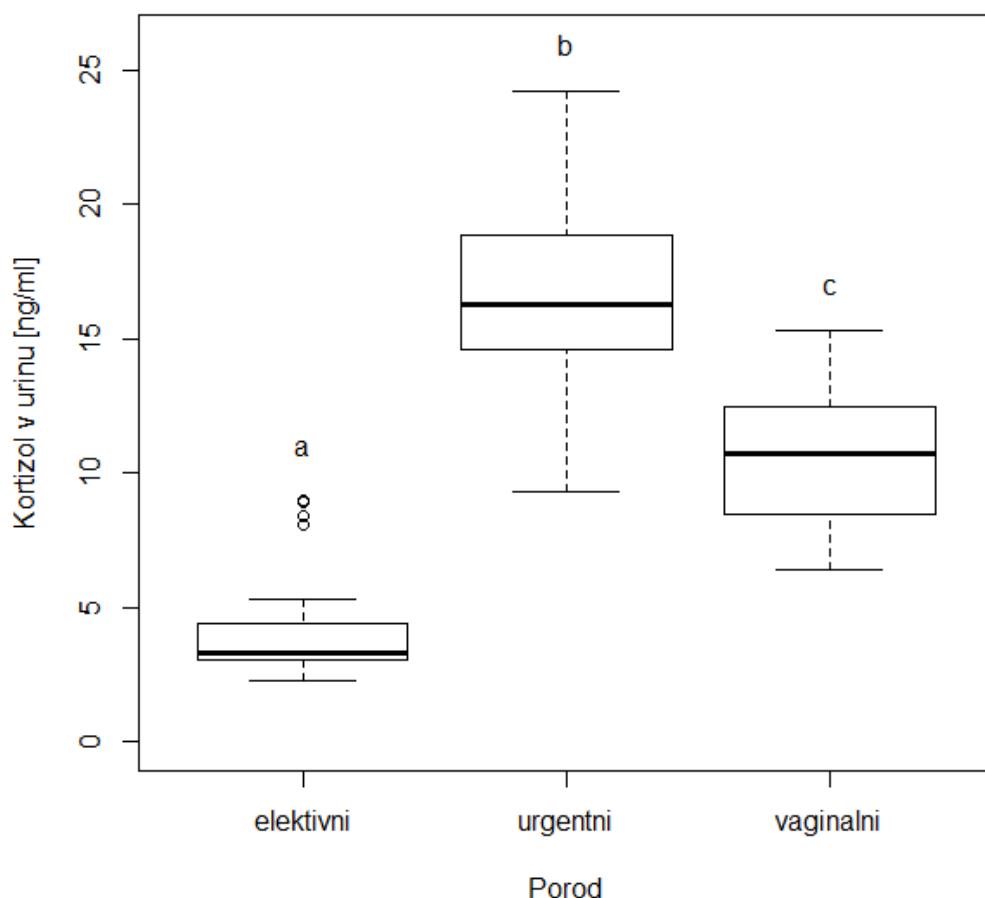
Vrednosti parametrov, ki so se statistično značilno razlikovale ( $p < 0,05$ ), so označene z različnimi črkami.

Figure 16: A Comparison of amniotic fluid cortisol levels in puppies born with elective caesarian section, emergency caesarian section and vaginal parturition.

Statistically significant differences ( $p < 0,05$ ) observed between parameters are marked with different lower case letters.

#### 4.6 KONCENTRACIJA KORTIZOLA V URINU

Najnižjo koncentracijo kortizola v urinu so imeli mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom ( $4,33 \pm 2,20$  ng/ml), sledila je skupina mladičev skotenih z vaginalnim porodom ( $10,62 \pm 2,47$  ng/ml), najvišjo koncentracijo kortizola v urinu pa so imeli mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom ( $16,70 \pm 4,01$  ng/ml). Razlika v koncentraciji kortizola med vsemi tremi načini poroda je bila statistično značilna ( $p < 0,001$ ) (Slika 17).



Slika 17: Primerjava koncentracije kortizola v urinu med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom.

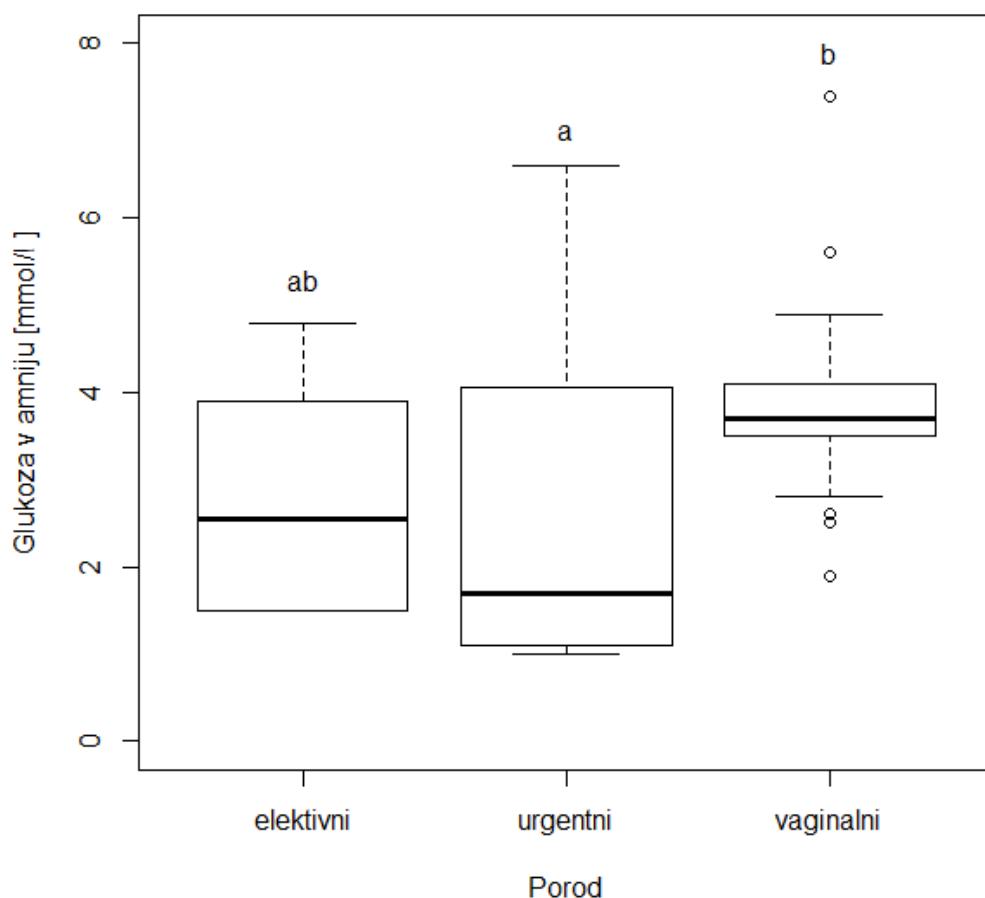
Vrednosti parametrov, ki so se statistično značilno razlikovale ( $p < 0,05$ ), so označene z različnimi črkami.  
Figure 17: A Comparison of urine cortisol levels in puppies born with elective caesarian section, emergency caesarian section and vaginal parturition.  
Statistically significant differences ( $p < 0,05$ ) observed between parameters are marked with different lower case letters.

## 4.7 KONCENTRACIJA GLUKOZE V POPKOVNI KRVI

Povprečna koncentracija glukoze v popkovni krvi je bila  $3,68 \pm 1,28$  mmol/l. Najnižjo povprečno koncentracijo glukoze v popkovni krvi so imeli mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom ( $3,23 \pm 0,66$  mmol/l), sledili so mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom ( $3,29 \pm 2,28$  mmol/l) in nato mladiči skoteni z vaginalnim porodom ( $3,79 \pm 0,99$  mmol/l). Med vrednostjo koncentracije glukoze v popkovni krvi pri različnih načinih porodov ni bilo statistično značilnih razlik.

## 4.8 KONCENTRACIJA GLUKOZE V AMNIJSKI TEKOČINI

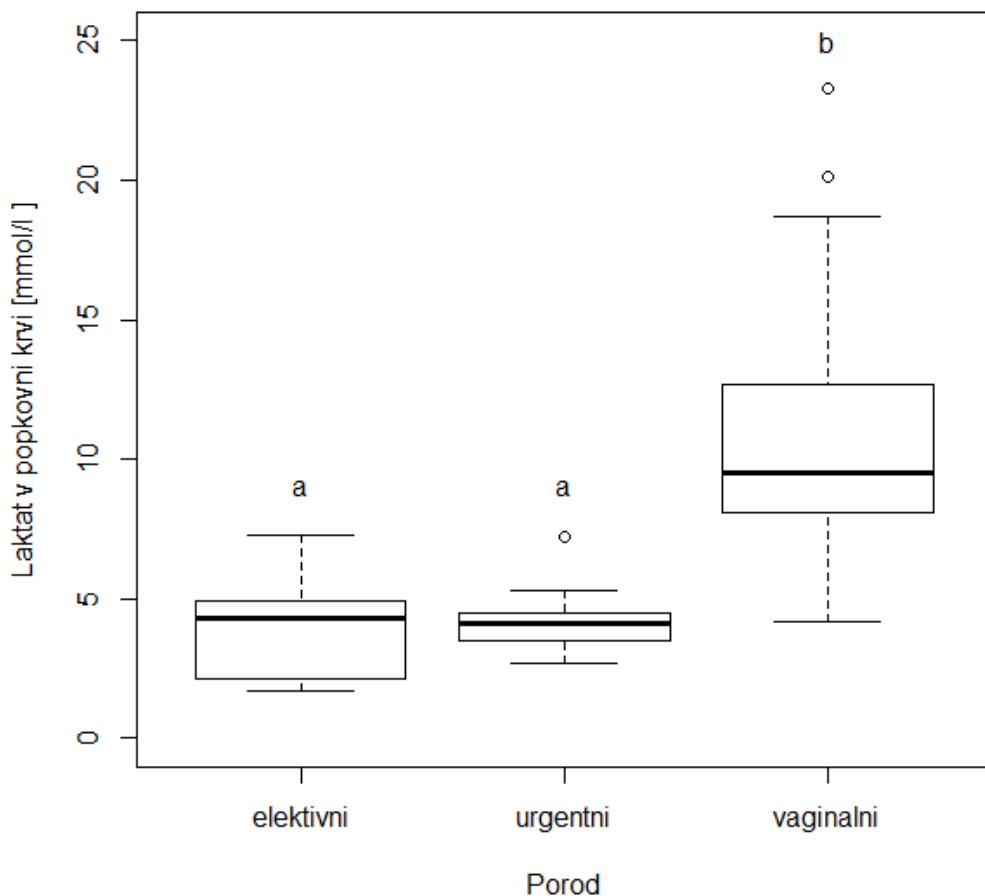
Povprečna koncentracija glukoze v amnijski tekočini je bila  $3,48 \pm 1,43$  mmol/l. Najnižjo povprečno koncentracijo glukoze v amnijski tekočini so imeli mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom ( $2,80 \pm 1,42$  mmol/l), sledili so mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom ( $2,73 \pm 2,40$  mmol/l) in nato mladiči skoteni z vaginalnim porodom ( $3,81 \pm 0,89$  mmol/l). Razlika v koncentraciji glukoze v amnijski tekočini med urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom je bila statistično značilna ( $p < 0,05$ ) (Slika 18).



Slika 18: Primerjava koncentracije glukoze v amnijski tekočini med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom.  
Vrednosti parametrov, ki so se statistično značilno razlikovale ( $p < 0,05$ ), so označene z različnimi črkami  
Figure 18: A Comparison of amniotic fluid glucose levels in puppies born with elective caesarian section, emergency caesarian section and vaginal parturition.  
Statistically significant differences ( $p < 0,05$ ) observed between parameters are marked with different lower case letters.

## 4.9 KONCENTRACIJA LAKTATA V POPKOVNI KRVI

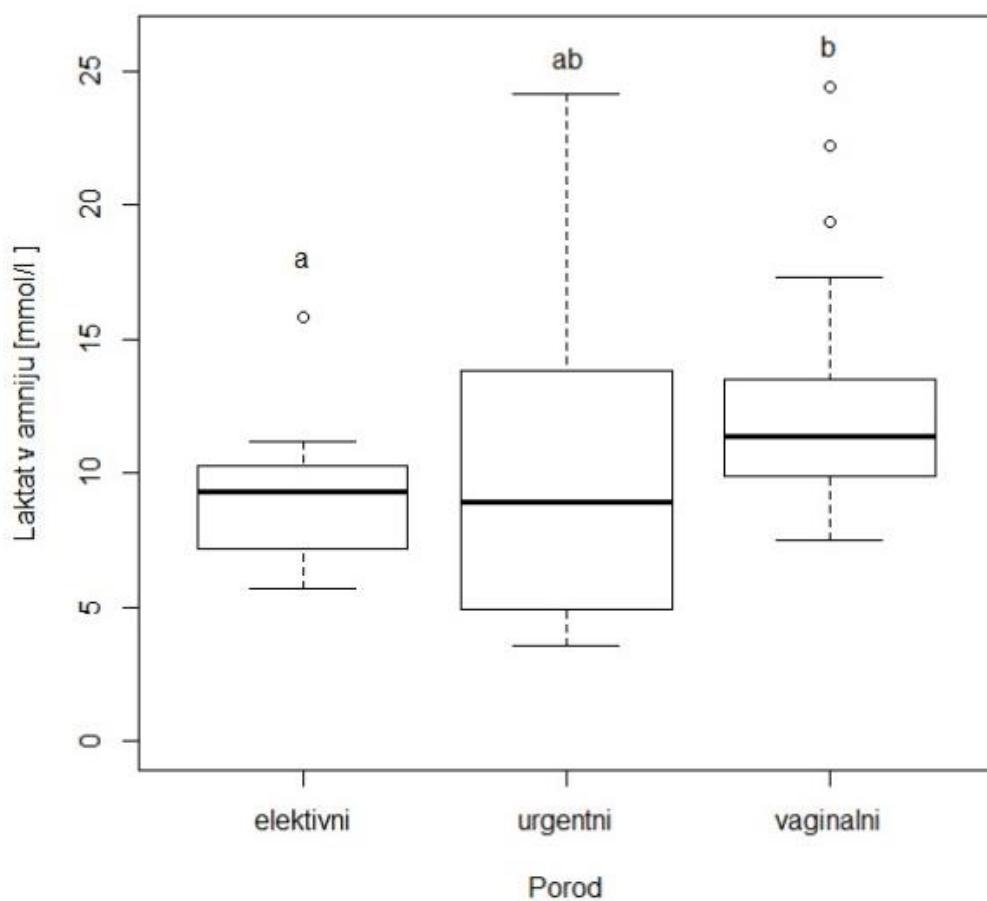
Povprečna koncentracija laktata v popkovni krvi je bila  $8,39 \pm 4,45$  mmol/l. Najnižjo povprečno koncentracijo laktata v popkovni krvi so imeli mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom ( $3,90 \pm 1,92$  mmol/l), sledili so mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom ( $4,23 \pm 1,31$  mmol/l) in nato mladiči skoteni z vaginalnim porodom ( $10,41 \pm 3,85$  mmol/l). Razlika v koncentraciji laktata v krvi med urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom ter elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom je bila statistično značilna ( $p < 0,001$ ) (Slika 19).



Slika 19: Primerjava koncentracije laktata v popkovni krvi med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom.  
Vrednosti parametrov, ki so se statistično značilno razlikovale ( $p < 0,05$ ), so označene z različnimi črkami.  
Figure 19: A Comparison of umbilical blood lactate levels in puppies born with elective caesarian section, emergency caesarian section and vaginal parturition.  
Statistically significant differences ( $p < 0,05$ ) observed between parameters are marked with different lower case letters.

## 4.10 KONCENTRACIJA LAKTATA V AMNIJSKI TEKOČINI

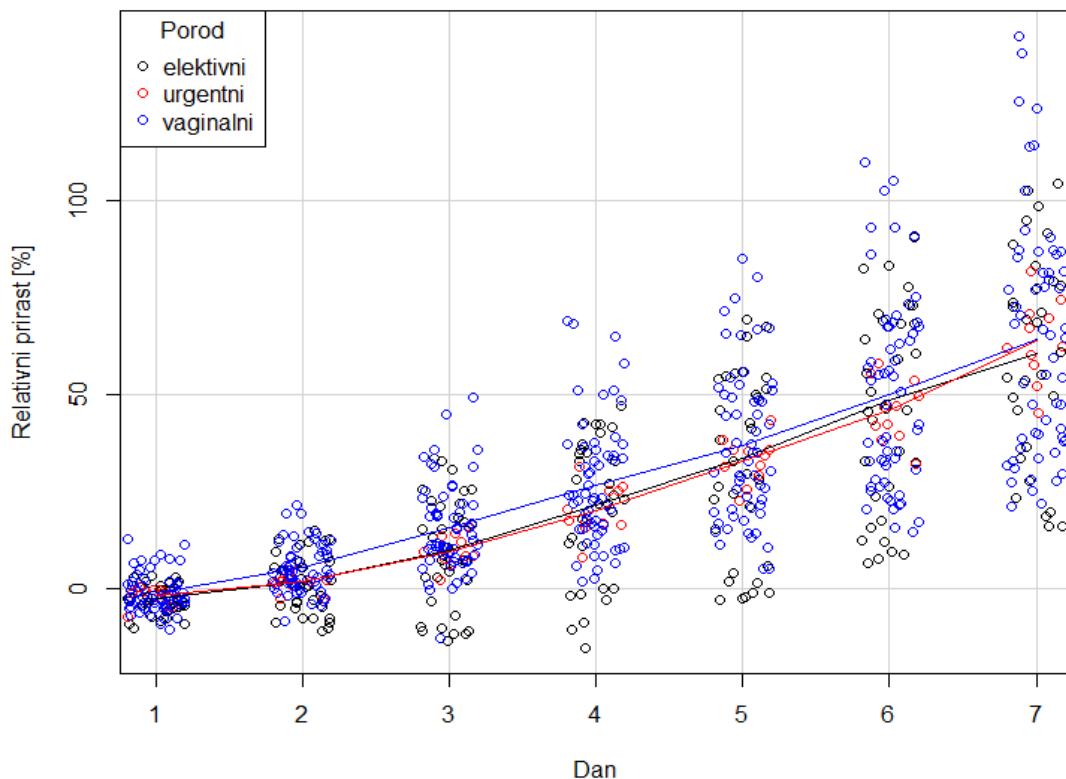
Povprečna koncentracija laktata v amnijski tekočini je bila  $11,32 \pm 4,50$  mmol/l. Najnižjo povprečno koncentracijo laktata v amnijski tekočini so imeli mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom ( $9,11 \pm 2,88$  mmol/l), sledili so mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom ( $10,25 \pm 6,82$  mmol/l) in nato mladiči skoteni z vaginalnim porodom ( $12,24 \pm 3,64$  mmol/l). Razlika v koncentraciji laktata v amnijski tekočini med elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom je bila statistično značilna ( $p < 0,05$ ) (Slika 20).



Slika 20: Primerjava koncentracij laktata v amnijski tekočini med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, urgentnim carskim rezom in vaginalnim porodom.  
Vrednosti parametrov, ki so se statistično značilno razlikovale ( $p < 0,05$ ), so označene z različnimi črkami.  
Figure 20: A Comparison of amniotic fluid lactate levels in puppies born with elective caesarian section, emergency caesarian section and vaginal parturition.  
Statistically significant differences ( $p < 0,05$ ) observed between parameters are marked with different lower case letters.

## 4.11 RELATIVNI PRIRAST

Relativni prirast mladičev je bil podan kot relativna sprememba telesne mase glede na začetno maso mladiča. Najnižji prirast so imeli mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom, največjega pa tisti, ki so se porodili po naravni vaginalni poti. Tabela 6 in Slika 21 prikazuje povprečno vrednost relativnih prirastov mladičev iz vseh treh skupin poroda.



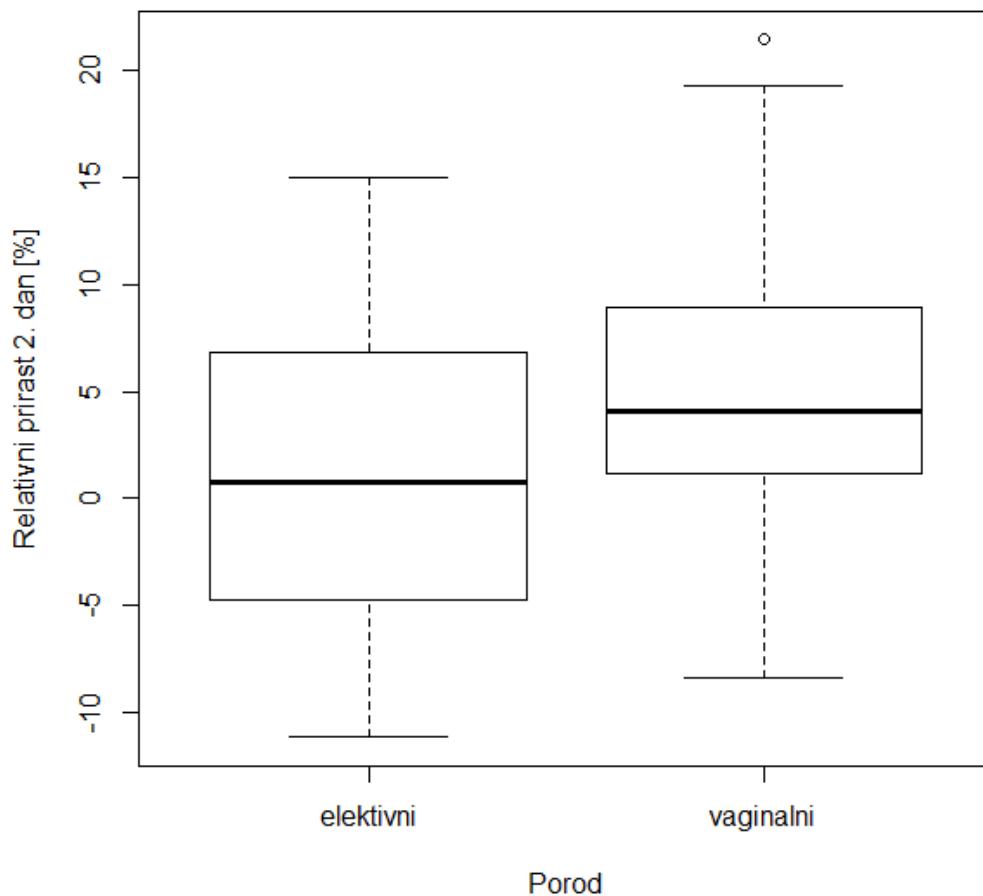
Slika 21: Relativni prirasti mladičev v prvem tednu (s črtami so prikazana povprečja glede na način poroda).  
Figure 21: Relative puppy weight gain in the first week (the lines represent weight gain average according to parturition type).

Tabela 6: Povprečja relativnih prirastov mladičev rojenih z elektivnim in urgentnim carskim rezom ter vaginalnim porodom.

Dan	Relativni prirast (povprečje $\pm$ sd) [%]		
	Elektivni carski rez	Urgentni carski rez	Vaginalni porod
1	-3,01 $\pm$ 3,76	-2,11 $\pm$ 2,42	-1,34 $\pm$ 5,09
2	1,29 $\pm$ 7,78	1,57 $\pm$ 2,51	5,10 $\pm$ 6,21
3	8,87 $\pm$ 14,48	9,49 $\pm$ 4,02	15,19 $\pm$ 11,52
4	19,91 $\pm$ 18,49	19,89 $\pm$ 6,60	26,61 $\pm$ 16,33
5	31,14 $\pm$ 23,75	32,94 $\pm$ 5,855	36,62 $\pm$ 19,79
6	45,82 $\pm$ 26,23	45,74 $\pm$ 7,96	50,08 $\pm$ 24,88
7	60,40 $\pm$ 27,42	63,87 $\pm$ 10,34	64,34 $\pm$ 30,71

Primerjali smo skupini elektivnega carskega reza in vaginalnega poroda in ugotovili statistično značilne razlike v relativnem prirastu med mladiči, ki so bili skoteni z vaginalnim in elektivnim carskim rezom tudi na tretji in četrti dan. Mladiči skoteni z vaginalnim porodom so najbolje priraščali.

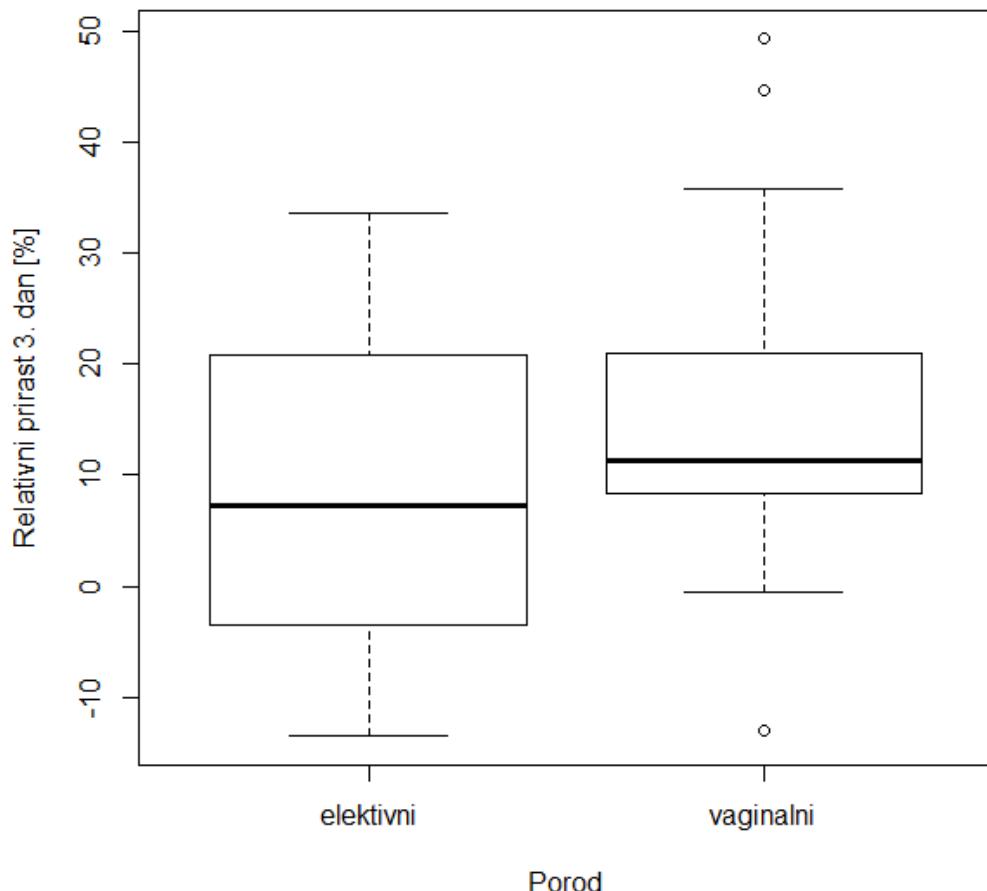
Razlika v prirastu na drugi dan med mladiči skotenimi z elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom je bila statistično značilna ( $p < 0,05$ ) (Slika 22).



Slika 22: Primerjava relativnega prirasta mladičev na drugi dan med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom

Figure 22: A comparison of relative weight increase on the second day in puppies born with elective caesarian section and vaginal parturition.

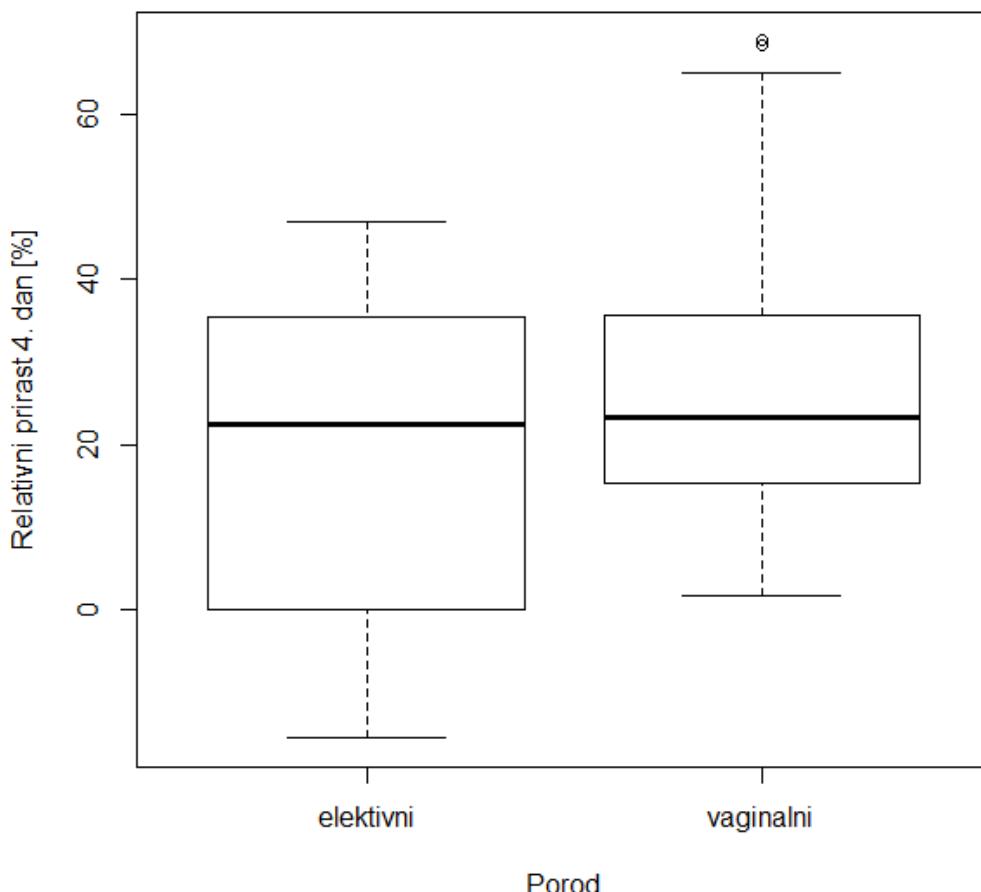
Razlika v prirastu na tretji dan med mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom je statistično značilna ( $p < 0,05$ ) (Slika 23).



Slika 23: Primerjava relativnega prirasta mladičev na tretji dan med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom.

Figure 23: A comparison of relative weight increase on the third day in puppies born with elective caesarian section and vaginal parturition.

Razlika v prirastu na četrti dan med mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom je bila na meji statistične značilnosti ( $p = 0,07$ ) (Slika 24).



Slika 24: Primerjava relativnega prirasta mladičev na četrti dan med mladiči, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom in vaginalnim porodom.

Figure 24: A comparison of relative weight increase on the fourth day in puppies born with elective caesarian section and vaginal parturition.

#### 4.12 PLINSKA ANALIZA POPKOVNE KRVI

Pri vseh mladičih, ne glede na način poroda je bila prisotna acidemija, kar se kaže z nižjo pH vrednostjo krvi, ki je povprečno znašala 7,22. Mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom so imeli povprečno vrednost pH krvi 7,30, z urgentnim carskim rezom 7,26 in vaginalnim porodom 7,14. Med skupinami mladičev sicer ni bilo statistično značilnih razlik, čeprav so te razlike iz fiziološkega vidika velike. Poleg tega nižji PCO<sub>2</sub> pri mladičih skotenih z elektivnim carskim rezom nakazuje, da je bila pri tej skupini poleg metabolne acidemije (ki je bila prisotna pri vseh mladičih ne glede na način poroda) prisotna tudi respiratorna acidemija.

## 4.13 KORELACIJE

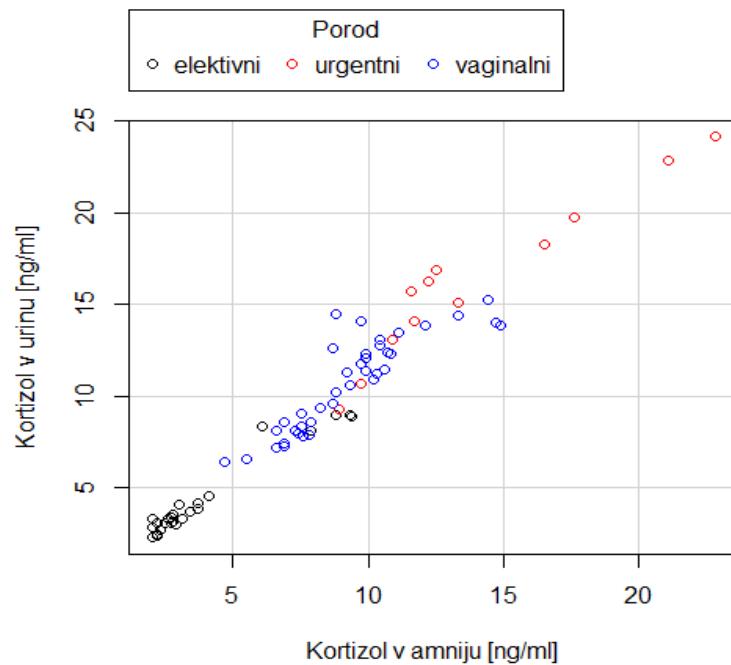
Parametre izmerjene v krvi in v amnijski tekočini smo primerjali med seboj in določali njihove korelacije. Tabela 7 vsebuje zbrane podatke o korelacijah.

Zelo visoke korelacije so bile med kortizolom v urinu in kortizolom v amnijski tekočini ( $p < 0,001$ ) (Slika 25) ter laktatom v amnijski tekočini in laktatom v popkovni krvi ( $p < 0,001$ ) (Slika 26). Visoke korelacije so bile med oceno po Apgarjevi po 5 minutah in oceno po Apgarjevi po 15 minutah ( $p < 0,001$ ) (Slika 27). Glukoza v popkovni krvi je srednje korelirala z glukozo v amnijski tekočini ( $p < 0,05$ ), z oceno po Apgarjevi po 5 minutah ( $p < 0,05$ ) ter oceno po Apgarjevi po 15 minutah ( $p < 0,05$ ). Glukoza v amnijski tekočini pa je srednje korelirala z oceno po Apgarjevi po 5 minutah ( $p < 0,05$ ). Laktat v popkovni krvi je poleg zelo visoke korelacije z laktatom v amnijski tekočini srednje koreliral tudi s kortizolom v urinu ( $p < 0,05$ ). Relativni prirast mladičev je srednje koreliral z laktatom v amnijski tekočini ( $p < 0,05$ ) in laktatom v popkovni krvi ( $p < 0,05$ ) (Slika 28).  $< 0,05$

Tabela 7: Spearmanov koeficient korelacije med izmerjenimi parametri v krvi in amnijski tekočini.

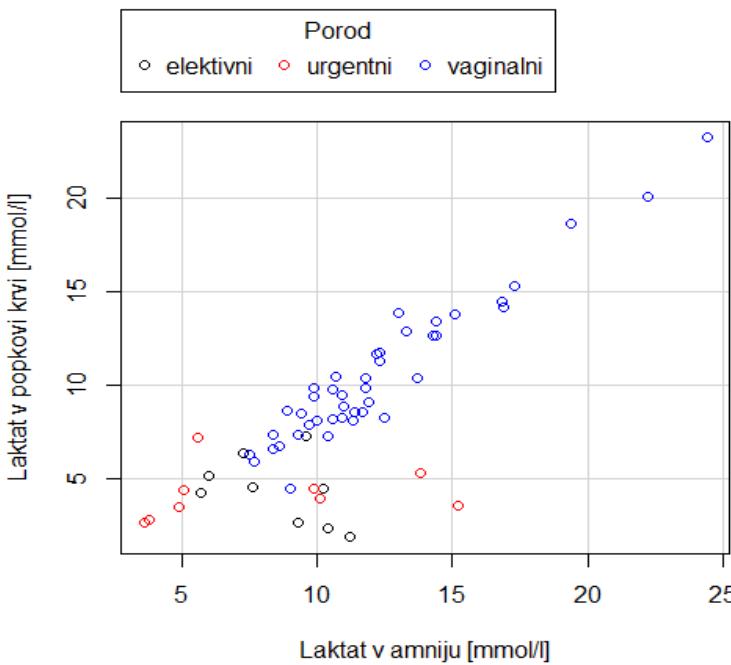
	Glukoza v amnijski tekočini	Laktat v amnijski tekočini	Ocena po Apgarjevi po 5 minutah	Ocena po Apgarjevi po 15 minutah	Kortizol v amnijski tekočini	Kortizol v urinu	Glukoza v popkovni krvi	Laktat v popkovni krvi	Relativni prirast
Glukoza v amnijski tekočini	/								
Laktat v amnijski tekočini	-0.1520	/							
Ocena po Apgarjevi po 5 minutah	<b>0.4953</b> *	-0.2141	/						
Ocena po Apgarjevi po 15 minutah	0.3952	-0.1173	<b>0.7400</b> ***	/					
Kortizol v amnijski tekočini	0.2024	0.3513	0.0935	0.0376	/				
Kortizol v urinu	0.1744	<b>0.4820</b> .	0.1115	0.1087	<b>0.9199</b> ***	/			
Glukoza v popkovni krvi	<b>0.5307</b> *	-0.1361	<b>0.5536</b> **	<b>0.5854</b> **	0.0680	0.0226	/		
Laktat v popkovni krvi	0.0055	<b>0.8741</b> ***	-0.1602	-0.0013	<b>0.4662</b> .	<b>0.5778</b> **	-0.0404	/	
Relativni prirast	0.2062	<b>-0.5378</b> *	0.0422	0.0350	-0.2263	-0.3657	0.0901	<b>-0.5876</b> **	/

Legenda: **p vrednost**  $< 0,001$  (\*\*\*) , **p vrednost**  $< 0,01$  (\*\*) , **p vrednost**  $< 0,05$  (\*) , **p vrednost**  $< 0,1$  (.)



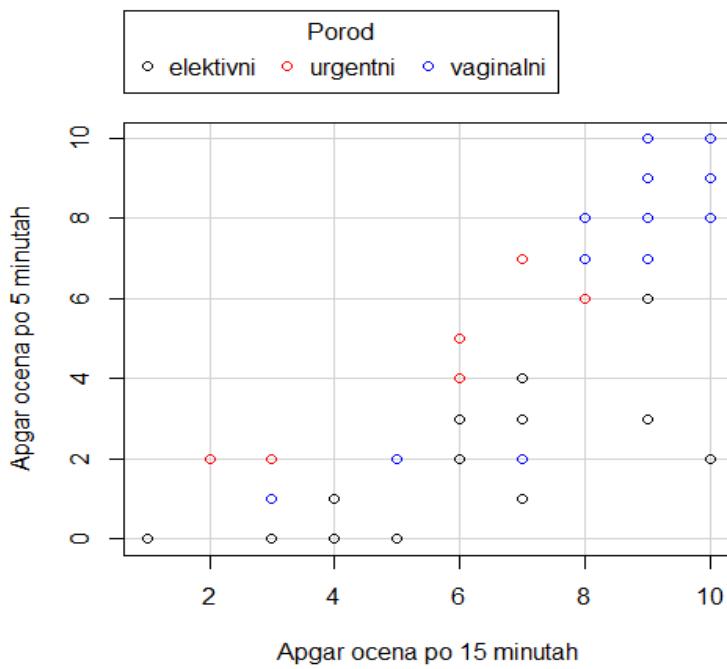
Slika 25: Zelo visoka korelacija in močna statistična značilnost med koncentracijo kortizola v urinu in amnijski tekočini.

Figure 25: A very strong correlation and high statistical significance between urine cortisol and amniotic fluid cortisol concentrations.

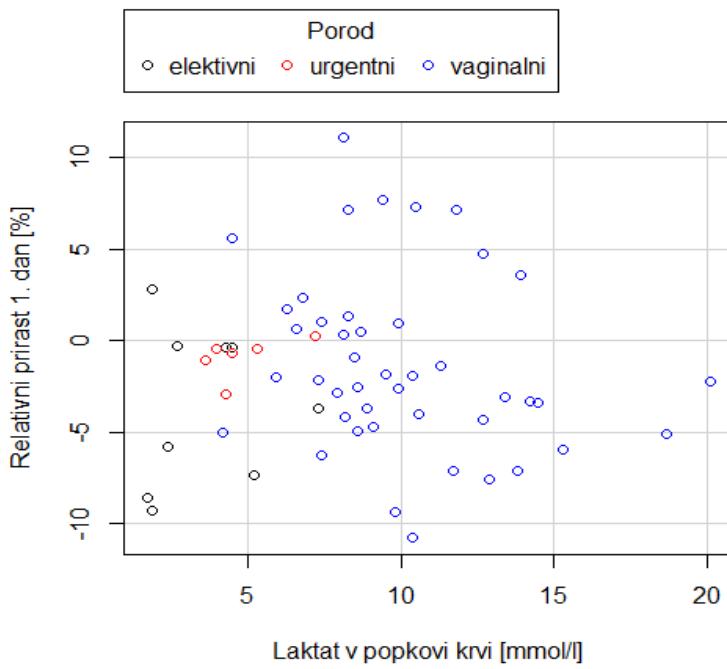


Slika 26: Zelo visoka korelacija in močna statistična značilnost med koncentracijo laktata v popkovni krvi in amnijski tekočini.

Figure 26: A very strong correlation and high statistical significance between umbilical blood lactate and amniotic fluid lactate concentrations.



Slika 27: Visoka korelacija in močna statistična značilnost med oceno po Apgarjevi po 5 in 15 minutah.  
 Figure 27: A high correlation and high statistical significance between Apgar score after 5 and 15 minutes.



Slika 28: Srednja korelacija in močna statistična značilnost med relativnim prirastom mladičev in koncentracijo laktata v popkovni krvi.  
 Figure 28: A moderate correlation and high statistical probability between puppy relative weight gain and umbilical blood lactate concentrations.

## 5 RAZPRAVA

Prve minute po porodu predstavljajo tako za psico kot za mladiče kritično obdobje. Faktorji, ki nam omogočajo napovedovanje perinatalne smrtnosti in vitalnosti mladičev so lahko zelo uporabni pri preprečevanju zdravstvenih komplikacij novorojencev. Pri pasemskih mladičih je neonatalna smrtnost še vedno visoka in doseže od 15 do 25 % (Concannon, 2002), po nekaterih podatkih celo do 30% (Indrebo, 2007) oziroma 35 % (Mosier, 1981; Poffenbarger, 1990) in je najvišja v prvem tednu po porodu (Vassalo in sod., 2015). S poznavanjem faktorjev tveganja in rutinskim izvajanjem natančnejšega pregleda mladičev po porodu bi lahko dovolj hitro prepoznali tiste, ki potrebujejo dodatno terapijo in tiste, na katere moramo biti posebej pozorni v prvih dneh po porodu, ko je smrtnost mladičev najvišja (Kredatusova in sod., 2011).

V naši raziskavi je bila zgodnja neonatalna smrtnost mladičev (delež pognjenih mladičev v prvem tednu življenja) dokaj nizka, saj je bilo mrtvorojenih mladičev 9 (7 %), dodatno pa je v prvem tednu po porodu pognilo še 5 mladičev (4 % vseh mladičev oz. 4,4 % živorojenih mladičev). Preživetje mladičev smo spremljali vse do odstavitev in po prvem tednu življenja ni pognil noben izmed mladičev. Podobno so v obširni raziskavi ugotovili tudi Tønnessen in sodelavci (2012), kjer je bilo 4,3 % mrtvorojenih mladičev, zgodnja neonatalna smrtnost je bila 3,7 %, pozna neonatalna smrtnost (mladiči, ki so pognili od prvega do četrtega tedna življenja) pa le še 1 %. Veronesi in sodelavci (2009) so ugotovili 5,4 % zgodnjo neonatalno smrtnost, Batista in sodelavci (2014) 4,89 % in Vassalo in sodelavci (2015) 4,8 % zgodnjo neonatalno smrtnost. Mogoče je, da je bila v naši raziskavi neonatalna smrtnost tako nizka, ker so bile psice proti koncu brejosti konstantno pod nadzorom in smo lahko morebitne spremembe, ki bi lahko ogrožale mladiče, opazili dovolj hitro, da smo lahko ukrepali. Pri vaginalnih porodih je bila vedno prisotna ekipa, ki je v primeru zapletov nudila nujno veterinarsko pomoč. Elektivni carski rezi so se izvajali na vnaprej izračunan optimalni datum poroda, kljub temu pa so bile psice in plodovi hkrati striktno pod nadzorom z UZ in merjenjem koncentracije serumskega progesterona, kar je omogočilo določitev optimalnega časa kotitve pri mladičih. Pogosto smo psico opazovali več dni pred porodom in si z lastniki izmenjevali podatke o njenem stanju, zato smo tudi morebitne urgentne carske reze lahko opravili dovolj hitro z zelo majhnimi izgubami mladičev. Lastniki psic so bili dobro podučeni glede poteka poroda in morebitnih komplikacij, ter posebej opozorjeni na situacije,

ki bi lahko ogrožale psico in mladiče. Podali smo jim tudi informacije o pravilni poporodni oskrbi tako psice kot mladičev in posebej poudarili, katerega izmed mladičev je bilo ob porodu potrebno oživljati, oziroma mu nuditi intenzivno veterinarsko oskrbo (oksiigenacija s 100 % kisikom, ogrevanje in aplikacija peroralne glukoze), da so mu lahko v prvem tednu življenja posvečali več pozornosti. Mladiči in matere so bili 4 ure po porodu pod stalnim nadzorom, mladičem smo pomagali pri sesanju kolostruma in se prepričali, da so vsi kolostrum dejansko prejeli (če materin kolostrum ni bil na voljo, so mladiči dobili komercialen pripravek kolostruma). Vsak mladič je bil klinično pregledan, v domačo oskrbo pa smo jih spustili šele, ko so bili vsi mladiči stabilni in dobro vitalni. Vse našteto je najverjetnejše vplivalo na nizko zgodnjo neonatalno smrtnost mladičev in mogoče je, da so podobni vzroki pri prej navedenih raziskavah prav tako privedli do nižje smrtnosti v primerjavi s starejšimi raziskavami. Mogoče je, da je bila v starejših raziskavah (Concannon, 2002; Indrebo, 2007; Mosier, 1981; Poffenbarger, 1990) smrtnost mladičev pogosto višja, ker so večje težave in večjo umrljivost povzročali dejavniki okolja (vlaga, temperatura, čistoča). Ker je tako veterinarska oskrba kot tudi ozaveščanje lastnikov v zadnjih letih močno napredovalo, se je vpliv teh dejavnikov zmanjšal in posledično smrtnost upadla (Johnson, 2008).

Mladiči so bili v naši raziskavi pri vseh merjenih parametrih razdeljeni v tri skupine glede na način poroda. Pri določanju ocene po Apgarjevi smo ugotovili, da so imeli po 5 in 15 minutah mladiči skoteni z vaginalnim porodom najvišje število točk ocene po Apgarjevi, sledili so mladiči iz skupine urgentnega carskega reza in nato elektivnega carskega reza. Največ mladičev skotenih z vaginalnim porodom po 5 minutah je bilo dobro vitalnih, medtem ko so bili tisti skoteni z urgentnim ali elektivnim carskim rezom slabše vitalni. Skladno z našimi rezultati so tudi Groppetti in sodelavci (2010) ugotovili, da jih je bila večina skotenih z elektivnim carskim rezom v 10 minutah po porodu slabо vitalnih. Pri oceni po Apgarjevi po 15 minutah je bilo v naši raziskavi v vsaki skupini mladičev (vaginalni porod, elektivni in urgentni carski rez) največ mladičev dobro vitalnih, torej so si mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom, ob naši pomoči, opomogli zelo hitro po porodu. Kljub temu moramo poudariti, da so imeli mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom še vedno slabše vrednosti ocene po Apgarjevi po 15 minutah kot mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom. Najvišje vrednosti pa so še vedno imeli mladiči skoteni z vaginalnim porodom.

Ko smo ugotavljali povezavo med oceno po Apgarjevi (po 5, 15 in 60 minutah) in načinom poroda ter določevali razporejanje mladičev v razrede glede na vitalnost, smo ugotovili, da je bilo 5 minut po porodu od vseh mladičev skotnih z vaginalnim porodom in urgentnim carskim rezom največ mladičev dobro vitalnih, pri mladičih skotnih z elektivnim carskim rezom pa jih je bilo največ slabo vitalnih. Od vseh mladičev, skotnih z urgentnim carskim rezom, so imeli tisti, pri katerih je bila vzrok za urgentni carski rez obstruktivna distocija, zelo nizke ocene po Apgarjevi 5 minut po porodu, ali pa so bili mrtvorojeni. Kljub temu je imela skupina mladičev skotnih z urgentnim carskim rezom višje skupne ocene po Apgarjevi po 5 minutah, saj so imeli ostali mladiči v tej skupini (tisti pri katerih vzrok za urgentni carski rez ni bila obstruktivna distocija) visoke vrednosti ocene po Apgarjevi po 5 minutah.

Mogoče je, da je do tega prišlo, ker smo takoj po pridobitvi soglasja lastnikov o sodelovanju v raziskavi pri psicah opravili klinični pregled in laboratorijske teste, ter s tem ocenili splošno zdravje psice. Urgentni carski rez smo vedno opravili v skladu s smernicami, s čimer smo negativne učinke distocije na mladiča karseda zmanjšali in urgentni carski rez izvedli še preden so bili psica in plodovi v resni nevarnosti, ali podvrženi hudemu stresu zaradi hipoksije.

Najverjetnejša razloga za najnižjo vitalnost in najniže ocene po Apgarjevi mladičev skotnih z elektivnim carskim rezom je dejstvo, da so se ti mladiči skotili nekoliko prej kot bi se z vaginalnim porodom. Posledično so bili na življenje pripravljeni slabše kot vrstniki, skoteni z urgentnim carskim rezom (Smith, 2011), saj do popolnega razvoja in dozorelosti hormonske osi med hipofizo in nadledvično žlezo ter posledičnim sproščanjem kortizola, ki je nujen za razvoj vitalnih funkcij mladiča, pride šele tik pred naravnim porodom (Bagnoli in sod., 2013). Mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom so se skotili pred rokom, saj se za elektivni carski rez vedno odločimo preden se začne proces naravnega poroda. Elektivni carski rez smo izvedli, ko je koncentracija serumskega progesterona psice padla pod 5 ng/ml, kar pomeni približno 1-2 dni pred začetkom vaginalnega poroda. Mogoče bi bila ocena vitalnosti mladičev skotnih z elektivnim carskim rezom boljša, če bi dodatno s pomočjo UZ opazovali gibanje črevesja plodov, ki naj bi odražal začetek izločanja kortizola pri mladičih in tako nakazoval, da bo do naravnega poroda prišlo v naslednjih 5 dneh. Te metode se nismo posluževali, saj se v praksi večina datumov za elektivni carski rez določi na podlagi merjenja padca telesne temperature in padca koncentracije serumskega progesterona, saj so konstantni

UZ pregledi dražji in zamudni, njihova izvedba pa zaradi različne opremljenosti klinik ni vedno mogoča. Hkrati smo želeli kar najbolj uniformno obravnavo pacientk (to bi pomenilo UZ pregleda na Veterinarski fakulteti), ta pa zaradi njihove oddaljenosti ni bila vedno možna, oziroma bi jih s konstantnimi pregledi na koncu brejosti izpostavljeni nepotrebnu stresu. Poleg tega so v novejši raziskavi ugotovili, da je takšno določanje sicer specifično in ga lahko zaznamo že 5 dni pred porodom, a ne občutljivo, kar pomeni, da lahko do poroda pride četudi gibanja črevesja ni mogoče opaziti (Artusi, 2016).

Mladiči skoteni z elektivnim in urgentnim carskim rezom so bili zaradi kirurškega posega tudi pod vplivom anestetika (propofol in sevofluran). Vsi anestetiki vključno z inhalacijskimi prehajajo posteljnično in krvno možgansko bariero plodu in povzročijo zavor življenskih funkcij različnih razsežnosti. Kombinacija propofola za indukcijo anestezije in hlapnega anestetika za vzdrževanje anestezije je eden izmed najvarnejših anesteziskih protokolov za uporabo pri carskemu rezu, saj se propofol hitro prerazporedi in presnavlja v telesu, zaradi česar si mladiči od anestezije hitro opomorejo (Doebeli in sod., 2013). Razen tega matere in mladiči (ne glede na način poroda) niso prejemali nikakršnih zdravil za produkcijo surfaktanta, s katerimi bi mladičem olajšali dihanje, saj nismo želeli, da bi to vplivalo na našo raziskavo.

V nasprotju z dobljenimi rezultati smo pričakovali, da bodo imeli mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom slabše vrednosti ocene po Apgarjevi v primerjavi z vrstniki skotenimi z elektivnim carskim rezom, kot je to običajno pri ljudeh (Herstad in sod., 2016). Ker pa imajo psice več mladičev v leglu, so bile skupne vrednosti ocene po Apgarjevi višje, četudi je bila ocena po Apgarjevi mladiča, ki je bil vzrok za urgentni carski rez zaradi obstruktivne distocije, nizka. Očitno smo carski rez opravili dovolj hitro, da obstrukcija še ni vplivala na ostale mladiče v leglu, kar je vodilo v višjo vitalnost in posledično dvignilo mediano vrednosti ocene po Apgarjevi celotni skupini mladičev skotenih z urgentnim carskim rezom.

Pri oceni po Apgarjevi 60 minut po porodu med različnimi skupinami mladičev ni bilo več statistično značilne razlike, torej lahko sklepamo, da so si dobro opomogli vsi mladiči, ne glede na način poroda, saj so bili skoraj vsi dobro vitalni (99 %). Po 60 minutah je bil slabo vitalen le še en mladič, ki se je skotil z vaginalnim porodom in poginil prvi dan po porodu. Podobne rezultate o izboljšanju vitalnosti mladičev 60 minut po porodu so ugotovili tudi v

drugih raziskavah (Vassalo in sod., 2015; Batista in sod., 2014). Batista in sodelavci (2014) so ugotovili, da je bilo od vseh mladičev, ki so se skotili z elektivnim carskim rezom 5 minut po porodu slabo vitalnih 20,5 %, zmersno vitalnih 46,3 %, dobro vitalnih pa 33,1 %. 60 minut po porodu si je večina teh mladičev opomogla, slabo vitalnih je bilo le še 10,3 %. Do takšne razlike med njihovo raziskavo in našo glede deleža slabo vitalnih mladičev po 60 minutah je najverjetnejše prišlo, ker so bile psice v naši raziskavi različnih pasem, v njihovi pa so bile vse psice pasme angleški ali francoski bulldog. Nekatere študije so pokazale, da so mladiči brahicefaličnih pasem po carskem rezu manj vitalni (Moon in sod., 2000; Wydooghe in sod., 2013). Vassalo in sodelavci (2015) so v raziskavi s 55 mladiči skotenimi s carskim rezom in 49 mladiči skotenimi z vaginalnim porodom prav tako ugotovili izboljšanje ocene po Apgarjevi mladičev skotnih s carskim rezom po 60 minutah (ob porodu so imeli mladiči skoteni s carskim rezom povprečno število ocene po Apgarjevi  $4,3 \pm 0,3$ , 60 minut po porodu pa  $8,8 \pm 0,3$ ). Ugotovili so tudi višje ocene po Apgarjevi pri mladičih skotnih z vaginalnim porodom (povprečna vrednost je bila  $7,6 \pm 0,3$  po porodu in  $8,6 \pm 0,3$  60 minut po porodu) v primerjavi s carskim rezom. Obe ugotovitvi se skladata z našimi rezultati.

Zaradi pomanjkanja prostora se počutje plodu ob koncu brejosti poslabša, plod pa je pod stresom. Kot odgovor na stres se aktivira os hipotalamus- hipofiza- nadledvična žleza, ki povzroči sproščanje kortizola iz skorje nadledvične žleze v kri. Kortizol je ključnega pomena za sprožitev začetka poroda, saj spodbudi sintezo PGF2 $\alpha$ , ki povzroči lizo rumenega telesa in posledično zavre sproščanje progesterona iz rumenega telesa. PGF2 $\alpha$  v mišičnih celicah miometrija povzroči sproščanje kalcijevih ionov, ki se vežejo na aktinske in miozinske filamente in povzročijo začetek krčenja maternice (Davidson, 2013; Taverne in Noakes, 2009). Prav tako je kortizol ključnega pomena za dozorevanje organov plodu in začetek sinteze surfaktanta ter jetrnih in prebavnih encimov (Vannucchi in sod., 2012). Amnijska tekočina, ki se nahaja znotraj amnijske ovojnici in ščiti plod, nastane iz materine plazme (Bolis in sod., 2017). Zato je smiselno, da so najnižje vrednosti kortizola v amnijski tekočini pri mladičih rojenih z elektivnim carskim rezom, saj se pri njih proces poroda še ni začel. Višje koncentracije kortizola pričakujemo pri mladičih skotnih z vaginalnim porodom, kjer pride do naravnega stresnega odgovora (Vannucchi in sod., 2012).

V raziskavi, ki so jo izvedli Gropetti in sodelavci (2015), so imeli mladiči skoteni z vaginalnim porodom (12 mladičev) najvišje izmerjene vrednosti kortizola v amnijski

tekočini, mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom nižje (70 mladičev) in tisti, skoteni z urgentnim carskim rezom (13 mladičev) najnižje, kar je v nasprotju z našimi rezultati.

Prave razlage za najnižje koncentracije kortizola pri mladičih skotenih z urgentnim carskim rezom v njihovi raziskavi nimamo, niti ni bila ta podana s strani raziskovalcev. Lahko pa si razlagamo naše rezultate, kjer so imeli mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom najvišje vrednosti, saj se urgentni carski rez navadno izvaja takrat, ko se naravni vaginalni porod že prične. Zato je pričakovano, da so vrednosti kortizola pri teh mladičih že dovolj visoke, da sprožijo sam potek poroda. Ker zaradi distocije različne etiologije, mladiči predolgo ostajajo v maternici, ali pa celo v porodnem kanalu ter trpijo pomanjkanje kisika in hraničnih snovi dlje časa (Onclin, 2008), se zaradi stresne situacije izloča še več kortizola, kar bi lahko pojasnilo njegovo povišano koncentracijo pri tej skupini mladičev (Meloni, 2015).

Obstaja tudi možnost, da je do razlik med našo in njihovo raziskavo prišlo zaradi same statistične obdelave podatkov, saj je bil naš vzorec mladičev skotenih z vaginalnim porodom dosti večji (68 mladičev), tistih skotenih z elektivnim carskim rezom pa manjši (38 mladičev).

V naši raziskavi so bile koncentracije kortizola v urinu nekoliko višje kot v amnijski tekočini, vendar so med seboj zelo visoko korelirale. Višje vrednosti kortizola v urinu so pričakovane, saj se kortizol iz nadledvične žleze ob povečanem stresu sprošča v kri in ob povišani koncentraciji kortizola v krvi pride do njegovega izločanja prek ledvic v urin. Ko se začnejo razvijati plodove ledvice, te proizvajajo plodov urin, ki se primeša v že obstoječo amnijsko tekočino. V amnijski tekočini je urin torej razredčen s preostalo tekočino, zato je koncentracija kortizola v urinu višja. Prav tako je koncentracija kortizola višja v alantoisni tekočini kot amnijski tekočini (Bolis in sod., 2017). Pričakovano je torej, da je koncentracija kortizola v urinu najvišja pri urgentnem carskem rezu, nato vaginalnem porodu in najnižja pri elektivnem carskem rezu. Bolis in sodelavci (2017) so ugotovili, da ima koncentracija kortizola v amnijski tekočini mladičev dobro napovedno vrednost za preživetje mladičev v prvih 24 urah po porodu. V njihovi raziskavi, ki je zajemala 50 mladičev, so imeli najvišjo koncentracijo kortizola v amniju mladiči, ki so poginili v 24 urah po porodu (8 % mladičev), nižjo pa tisti, ki so prvih 24 ur po porodu preživelci. Merjenje kortizola v amnijski tekočini bi torej lahko uporabili kot indikator za mladiče, ki so bolj kritični in jim je potrebno v prvih 24 urah posvečati posebno pozornost. V raziskavi smo ugotovili, da bi lahko merjenje

kortizola v amnijski tekočini nadomestili z vzorcem urina, kar je manj invazivna in preprostejša metoda. Vzorčenje urina nam lahko pomaga tudi, kadar vzorca amnijske tekočine ni mogoče pridobiti.

Mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom so imeli statistično značilno nižje koncentracije glukoze v amnijski tekočini kot tisti skoteni z vaginalnim porodom. Podobne rezultate smo dobili tudi pri koncentraciji glukoze v popkovni krvi, a tu statistično značilnih razlik med skupinami mladičev glede na način poroda ni bilo. To je v skladu z rezultati nekaterih drugih raziskav, kjer je bilo ugotovljeno, da je koncentracija glukoze v amniju (Groppetti in sod., 2015) in krvi (Vassalo in sod., 2015) višja pri mladičih skotenih z vaginalnim porodom kot carskim rezom.

Urgenten carski rez smo izvedli le pri psicah z distocijo in z njo povezanimi komplikacijami. Takšni zapleti vodijo v hude motnje dihanja, ali celo zaustavitve dihanja, pri čemer se zaradi pomanjkanja kisika sproži anaerobni metabolizem, zaradi česar se porabljajo zaloge glikogena. Zato je smiselno, da so imeli mladiči rojeni z vaginalnim porodom višje vrednosti glukoze, saj je pri njih dihalna stiska fiziološka in veliko krajša (Lantzy, 2015). Koncentracija glukoze v krvi je srednje korelirala s koncentracijo glukoze v amnijski tekočini, torej sta vzorca primerljiva. Ugotovili smo tudi srednjo korelacijo med koncentracijo glukoze v krvi in oceno po Apgarjevi po 5 in 15 minutah, kar nam pove, da je merjenje koncentracije glukoze v popkovni krvi mladičev dober prognostični dejavnik za ugotavljanje vitalnosti mladičev po porodu in prepoznavanje tistih mladičev, ki morda po porodu potrebujejo terapijo z glukozo.

Plinska analiza krvi je pokazala, da je bila pri vseh mladičih prisotna tkivna hipoksija, ki je povzročila dvig laktata pri vseh novorojenih psih ne glede na način poroda. Poleg metabolne acidemije se je pri mladičih, ki so bili skoteni z elektivnim carskim rezom, pojavljala tudi respiratorna komponenta (višji  $\text{PCO}_2$ ), kar pomeni, da moramo pri teh mladičih čim hitreje spodbuditi dihalno funkcijo. Mladiči skoteni z vaginalnim porodom so imeli nižji pH krvi in zato izražali hujšo metabolno acidozzo v primerjavi z mladiči v drugih dveh skupinah. Nižji pH, višji bazni pribitek, nižji  $\text{HCO}_3^-$  in višji laktat pri mladičih skotenih z vaginalnim porodom, kažejo na hujšo acidemijo. Kljub temu acidemija ni vplivala na vitalnost teh mladičev, saj so imeli izmed vseh treh skupin najvišje ocene po Apgarjevi (bili so najbolj vitalni) in najbolje priraščali po porodu. Po porodu je normalno, da so pasji mladiči v stanju

acidemije, saj se pljuča ob rojstvu še prilagajajo na novo funkcijo in zato na začetku izmenjava plinov ni ustrezno vzpostavljena, da bi zagotovila primerno oksigenacijo krvi in vzdrževala kislinsko-bazno ravnotesje (Vannucchi in sod., 2012).

Najnižje vrednosti laktata v popkovni krvi in amnijski tekočini so imeli mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom, nato mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom in na koncu mladiči skoteni z vaginalnim porodom. Podobne rezultate navajajo tudi Groppetti in sodelavci (2015) v raziskavi s 95 mladiči in Groppeti in sodelavci (2010) v raziskavi s 94 mladiči, kjer so imeli najnižjo vrednost laktata mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom, nato mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom in najvišjo mladiči skoteni z vaginalnim porodom, kar je popolnoma primerljivo z našimi rezultati. Rezultati se skladajo tudi s humano literaturo (Borruto in sod., 2006).

Mladiči skoteni z vaginalnim porodom so imeli sicer višje koncentracije laktata v popkovni krvi kot mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom, a kljub temu so imeli najvišje ocene po Apgarjevi. Do povišane koncentracije laktata v krvi pride zaradi nastopa anaerobnega celičnega metabolizma, ki se odvija v tkivu plodu kot odgovor na tkivno hipoperfuzijo (Pang in Boysen, 2007; Groppetti in sod., 2010). Poleg tega ti mladiči niso pod vplivom anestetika kot mladiči iz drugih dveh skupin, niti nimajo izražene hude hipoksije ali pretirane koncentracije laktata v krvi in posledične laktatne acidoze, kot se to dogaja pri mladičih, skotenih z urgentnim carskim rezom (Doebeli in sod., 2013; Vassalo in sod., 2015).

Vrednosti koncentracije laktata so bile najnižje pri elektivnem carskem rezu, najverjetneje zato, ker porod še ni nastopal in pri plodu še ni prišlo do tkivne hipoperfuzije. Pri teh plodovih poteka normalen aerobni celični metabolizem, kjer laktat ne nastaja (Pang in Boysen, 2007; Groppetti in sod., 2010). Pri urgentnem carskem rezu so bile vrednosti laktata povišane, ker je bil plod v stresu in je bila potreba po energiji višja kot običajno. Posledično je nastopal anaerobni metabolizem, ki pretvarja piruvat v laktat hitreje, kot ga telo lahko izloči in se zato kopiči, kar poviša koncentracijo laktata tako v krvi kot v amnijski tekočini (Pang in Boysen, 2007; Groppetti in sod., 2010). Najvišje vrednosti laktata pri plodovih so bile pri vaginalnem porodu, verjetno zato, ker je med prehodom plodu skozi porodni kanal krvni pretok po popkovnih žilah med materjo in plodom upočasnjen, ali zaustavljen, kar vodi v hipoperfuzijo tkiv. Poleg tega je plod med porodom pod velikim stresom, kar poveča njegove energetske

potrebe, kar se kaže kot veliko povišanje laktata, ker v plodu prevlada anaerobni metabolizem (Pang in Boysen, 2007; Groppetti in sod., 2010).

Ob statistični analizi korelacij med merjenimi parametri smo ugotovili zelo visoko korelacijo med koncentracijo laktata v popkovni krvi in amnijski tekočini, torej lahko vzorca uporabimo enakovredno. Zanimivo je tudi, da je koncentracija laktata v krvi in amnijski tekočini negativno korelirala (srednja korelacija) z relativnim prirastom mladičev in bi jo lahko morebitno uporabili kot prognostični faktor za priraščanje mladičev v prvem tednu življenja. Vsekakor je koncentracija laktata v popkovni krvi dober pokazatelj kliničnega stanja mladičev, kar nam omogoča prepoznavanje mladičev, ki so bolj v stresu kot vrstniki po porodu. Je tudi dober parameter za napoved smrtnosti mladičev v prvih 48 urah po porodu (Groppetti in sod., 2010).

Najbolje so v prvem tednu po porodu priraščali mladiči skoteni z vaginalnim porodom, najslabše pa mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom. Kljub temu se je statistično značilna razlika med prirastom mladičev glede na način poroda pojavila le drugi dan po porodu. Mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom so imeli drugi, tretji in četrti dan nižji prirast kot vrstniki skoteni z vaginalnim porodom, najverjetneje zato, ker so se na začetku počasnejše razvijali, saj niso bili izpostavljeni fiziološkemu stresu, ki je nujno potreben za razvoj osnovnih življenjskih funkcij kot so dihanje in ostalih, kot so aktivacija jetrnih in prebavnih encimov (Lantzy, 2015). Peti dan po porodu statistično značilnih razlik med mladiči v različnih skupinah ni bilo več. Iz slednjega lahko sklepamo, da način poroda dejansko vpliva na prirast mladičev v prvih dneh življenja, torej moramo še posebej paziti na tiste, ki so se skotili z elektivnim carskim rezom in jih podrobneje spremljati po porodu. V naši raziskavi je prirast mladičev negativno koreliral le s koncentracijo laktata v amnijski tekočini in popkovni krvi, korelacij z drugimi merjenimi parametri ni bilo.

Glede na ugotovitve sklepamo, da je lahko ocena po Apgarjevi skupaj z merjenjem laktata, glukoze in/ali kortizola pri mladičih po porodu zelo učinkovit način ločevanja zdravih mladičev od tistih v stresu. Merjeni parametri so se izkazali za zelo dobre dodatne indikatorje tistih mladičev, ki takoj po porodu potrebujejo dodatno oskrbo. Glede na to, da relativni prirast ni koreliral z nobenim merjenim parametrom razen laktatom v amnijski tekočini in popkovni krvi, predvidevamo, da koncentracija glukoze in kortizola ter vrednost točk ocene po Apgarjevi po porodu kasneje v življenju mladiča nimajo več nobenega vpliva. Zaključimo

lahko tudi, da je merjenje kortizola mogoče tako v amnijski tekočini kot tudi v urinu mladičev takoj po porodu, kar je zelo pomembno z vidika pridobivanja vzorcev, saj se nemalokrat zgodi, da amnijske tekočine ne moremo pridobiti. Z merjenjem glukoze lahko hitro prepoznamo tiste mladiče, ki poleg intenzivne nege potrebujejo tudi dodatek glukozne raztopine. Čeprav koncentracije kortizola niso korelirale z relativnim prirastom, pa so mladiči z nižjimi (elektiven carski rez) oz. zelo visokimi (urgenten carski rez) koncentracijami kortizola potrebovali več pomoči ob rojstvu v primerjavi z mladiči s srednjimi vrednostmi kortizola (vaginalni porodi in urgentni carski rez pri mladičih, ki niso bili vzrok nastanka distocije). V prihodnosti bi bilo nujno določiti optimalno koncentracijo kortizola na večjem številu mladičev. Več pomoči ob rojstvu so potrebovali tudi mladiči, ki so imeli višjo koncentracijo laktata in nižjo koncentracijo glukoze. Koncentracijo laktata merimo tako v amnijski tekočini kot tudi v popkovni krvi s primerljivimi rezultati, saj je korelacija med parametrom zelo visoka. Prav tako lahko pri merjenju koncentracije glukoze vzorec popkovne krvi nadomestimo z vzorcem amnijske tekočine (in obratno), saj parametra srednje korelirata. Z boljšim poznavanjem vseh določanih parametrov in njihovim rutinskim merjenjem bi verjetno lahko še dodatno zmanjšali smrtnost mladičev v prvih tednih po porodu.

## 6 SKLEPI

1. Merjenje koncentracije laktata v popkovni krvi in amnijski tekočini mladičev se je izkazalo za dober pokazatelj vitalnosti mladičev v prvih 24 urah po porodu.
2. Višje vrednosti laktata v popkovni krvi niso povezane z manj vitalnimi mladiči, in višjo smrtnostjo mladičev po porodu.
3. Najvišje koncentracije laktata v popkovni krvi so imeli mladiči skoteni z vaginalnim porodom, nižje tisti skoteni z urgentnim carskim rezom in najnižje mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom.
4. Najvišjo koncentracijo laktata v amnijski tekočini smo ugotovili pri mladičih skotenih z vaginalnim porodom, ki so bili hkrati najbolj vitalni. Nižje pri mladičih skotenih z urgentnim carskim rezom in najnižje pri mladičih skotenih z elektivnim carskim rezom (najmanj vitalni). Kljub tem ugotovitvam, pa so znotraj skupin več pomoči po porodu potrebovali tisti mladiči, pri katerih je bila koncentracija laktata nižja.
5. Koncentracija laktata v popkovni krvi je bila sicer višja pri mladičih z višjo oceno po Apgarjevi (mladiči skoteni z vaginalnim porodom), vendar med merjenima parametroma ni bilo statistično značilne korelacije.
6. Najvišjo oceno po Apgarjevi neposredno po porodu so imeli mladiči skoteni z vaginalnim porodom, nižjo mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom in najnižjo mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom.
7. Relativni prirast mladičev v prvem tednu življenja je srednje koreliral s koncentracijo laktata v popkovni krvi in amnijski tekočini. Najbolje so priraščali mladiči, ki so bili skoteni z vaginalnim porodom.
8. Mladiči skoteni z elektivnim carskim rezom so imeli najnižje koncentracije kortizola v amnijski tekočini in urinu, mladiči skoteni z urgentnim carskim rezom pa najvišje, torej sklepamo, da je elektivni carski rez manj stresen za mladiče kot urgentni carski rez.
9. Za določanje koncentracije kortizola lahko enakovredno uporabimo tako vzorce amnijske tekočine kot tudi urin ploda takoj po porodu. Za določanje koncentracije laktata pa tako amnijsko tekočino kot popkovno kri.
10. Takoj po porodu so vsi mladiči v acidemiji. Medtem ko je ta pri vaginalnem porodu in urgentnem carskem rezu predvsem metabolna, je pri mladičih skotenih z elektivnim carskim rezom prisotna tudi respiratorna komponenta.

## 7 ZAHVALE

V prvi vrsti gre največja zahvala mentoricama doc. dr. Tanji Plavec, dr. vet. med. in asist. dr. Maji Zakošek Pipan, dr. vet. med. za vso pomoč, potrežljivost, motiviranost, navdušenost nad delom, stalno dostopnost in dobro družbo ob dolgem večernem delu. Zahvaljujeva se vama za predstavitev drugačne plati študija veterine, in da sta naju popeljali v svet znanstvenega raziskovanja.

Zahvalili bi se radi Nini Cizej, dr. vet. med. in podjetju FeliVet d.o.o., saj so nam zelo pomagali z izposojo naprave iSTAT in koristnimi nasveti glede njene uporabe.

Hvala sodelavcem na kliniki za male živali veterinarske fakultete za pomoč pri vodenju porodov, predvsem anestezistki asist. dr. Barbari Lukanc, dr. vet. med, veterinarskim tehnikom za pomoč pri oskrbi mladičev, izr. prof. dr. Alenki Nemec Svete, univ. dipl. inž. kem. inž. za pomoč pri analizirjanju vzorcev in za potrežljivo razlago ter Mateji Bogataj za pomoč pri pripravi in organizaciji shranjevanja vzorcev.

Posebna zahvala gre tudi sošolkama Anji Kalin in Leonidi Kajdič za pomoč pri oživljjanju in spremljanju mladičev, zbiranju vzorcev ter dobro družbo.

Hvala Dr. Tini Roškar, dr. vet. med., Petri Fink, dr. vet. med. in celotni ekipi klinike Moj Vet, ki so nam nesebično pomagali z zbiranjem vzorcev in aktivnim iskanjem lastnikov za sodelovanje v raziskavi in prav tako za zabavne večere na kliniki.

Hvala Asist. Tanji Knific, dr. vet. med., za opravljeno goro statističnih analiz, popravkov in potrežljivo razlago.

Hvala prof. dr. Margret L. Casal, dr. vet. med. (Reproduction, and Pediatrics, University of Pennsylvania School of Veterinary Medicine) za svetovanje in pomoč, kadar smo se znašli v dilemi.

Hvala dekanu prof. dr. Andreju Kirbišu, dr. vet. med. in vodstvu Veterinarske fakultete in Programske skupine P4-0053 za izkazano zaupanje in finančno podporo raziskave.

Hvala mag. Brigit Grec Smole, dr. vet. med. za pregled literature.

Nenazadnje pa gre velika zahvala vsem lastnikom in njihovim ljubljenkam. Vaši mladički so vedno postali tudi malo naši.

### **Aleksandra:**

Hvala mami, ati in Davor, za vso podporo, pomoč, razumevanje, motivacijo ter aktivno sodelovanje pri izdelavi naloge.

Hvala Jani za vso spodbudo in Sari za vse dogodivščine ter večni optimizem.

### **Sara:**

Zahvalila bi se svoji družini za vso podporo in prevoze v poznih urah, svojim prijateljem, Aleksandri za vso zabavo in jeklene živce in Tjašu za poslušanje, pomoč in pomiritev v stresnih trenutkih.

## 8 LITERATURA

1. ACOG committee on obstetric practice. ACOG committee opinion no. 348, november 2006: Umbilical cord blood gas and acid-base analysis. *Obstet Gynecol* 2006; 108(5): 1319–22.
2. Andres RL, Saade G, Gilstrap LC, et al. Association between umbilical blood gas parameters and neonatal morbidity and death in neonates with pathologic fetal acidemia. *Am J Obstet and Gynecol* 1999; 181(4): 867–71.
3. Apgar V, James LS. Further observations on the newborn scoring system. *Am J Dis Child* 1962; 104: 419–28.
4. Apgar V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Curr Res Anesth Analg* 1953; 32(4): 260–7.
5. Artusi E. Clinical use of fetal gastrointestinal motility to predict parturition in the bitch. Padova: Università degli studi di Padova, dipartimento di medicina animale, produzioni e salute, 2016. Magistrsko delo
6. Bagnoli F, Mori A, Fommei C, Coriolani G, Badii S, Tomasini B. ACTH and cortisol cord plasma concentrations in preterm and term infants. *J Perinatol* 2013; 33(7): 520–4.
7. Batista M, Moreno C, Vilar J, et al. Neonatal viability evaluation by Apgar score in puppies delivered by cesarean section in two brachycephalic breeds (English and French bulldog). *Anim Reprod Sci* 2014; 146(3/4): 218–26.
8. Bergström A, Nødtvedt A, Lagerstedt AS, Egenvall A. Incidence and breed predilection for dystocia and risk factors for cesarean section in a Swedish population of insured dogs. *Vet Surg* 2006; 35(8): 786–91.
9. Bergstrom A. Dystocia in the bitch: epidemiology, aetiology and treatment. Uppsala: Swedish university of agricultural sciences, Faculty of veterinary medicine and animal science, 2009. Doktorska disertacija
10. Bolis B, Prandi A, Rota A, Faustini M, Veronesi MC. Cortisol fetal fluid concentrations in term pregnancy of small-sized purebred dogs and its preliminary relation to first 24 hours survival of newborns. *Theriogenology* 2017; 88: 264–9.
11. Borruto F, Comparetto C, Wegher E, Treisser A. Screening of foetal distress by assessment of umbilical cord lactate. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2006; 33(4): 219–22.

12. Brouillette RT, Waxman DH. Evaluation of the newborn's blood gas status. National Academy of Clinical Biochemistry. *Clin Chem* 1997; 43(1): 215–21.
13. Casal M. Management and critical care of the neonate. In: von Heimendahl A, England GCW, eds. BSAVA manual of canine and feline reproduction and neonatology. 2nd ed. Gloucester: British small animal veterinary association, 2010: 135–46.
14. Concannon PW. Physiology and clinical parameters of pregnancy in dogs. Proceedings of 27. World Congress of World Small Animal Veterinary Association. Granada, 2002.
15. Davidson AP. Pregnancy and parturition. In: Klein BG, eds. Cunningham's textbook of veterinary physiology. 5th ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2013: 434-6.
16. Davidson AP. Problems during and after parturition. In: von Heimendahl A, England GCW, eds. BSAVA manual of canine and feline reproduction and neonatology. 2nd ed. Gloucester: British small animal veterinary association, 2010: 121–34.
17. Doebeli A, Michel E, Bettschart R, Hartnack S, Reichler IM. Apgar score after induction of anesthesia for canine cesarean section with alfaxalone versus propofol. *Theriogenology* 2013; 80(8): 850–4.
18. Feldman E, Nelson R. Canine and feline endocrinology and reproduction. 3rd ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2004a: 802–5.
19. Feldman E, Nelson R. Canine and feline endocrinology and reproduction, 3rd ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2004b: 816–25.
20. Forsberg CL. Abnormalities in canine pregnancy, parturition and the periparturient period. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat. 7th ed. Vol 2. St. Louis: Saunders Elsevier, 2010: 1892–901.
21. Fransson BA. Ovaries and uterus. In: Tobias KM, Johnston SA, eds. Veterinary surgery: small animal. Vol 2. St. Louis: Saunders Elsevier, 2012: 1871–90.
22. Fraser D. Acute respiratory care of the neonate. Petaluma: NICU INK, 2012: 128–33.
23. Ganter M, Zollinger A. Continuous intravascular blood gas monitoring: development, current techniques, and clinical use of a commercial device. *Br J Anaesth* 2003; 91(3): 397–407.
24. Geiser B, Burfeind O, Heuwieser W, Arlt S. Prediction of parturition in bitches utilizing continuous vaginal temperature measurement. *Reprod Domest Anim* 2014; 49(1): 109–14.

25. Greene KR. Scalp blood gas analysis. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1999; 26(4): 641–56.
26. Groppetti D, Martino PA, Ravasio G, Bronzo V, Pecile A. Prognostic potential of amniotic fluid analysis at birth on canine neonatal outcomes. *Vet J* 2015; 206(3): 423–5.
27. Groppetti D, Pecile A, Del Carro AP, Copley K, Minero M, Cremonesi F. Evaluation of newborn canine viability by means of umbilical vein lactate measurement, Apgar score and uterine tocodynamometry. *Theriogenology* 2010; 74(7): 1187–96.
28. Harrington DJ, Redman CW, Moulden M, Greenwood CE. The long-term outcome in surviving infants with Apgar zero at 10 minutes: a systematic review of the literature and hospital-based cohort. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196(5): 463.e1–5. [https://www.ajog.org/article/S0002-9378\(06\)02142-9/fulltext](https://www.ajog.org/article/S0002-9378(06)02142-9/fulltext) (7. 4. 2018)
29. Hay Kraus B. Anesthesia for cesarean section in the dog. *Vet Focus* 2016; 26(1): 24–31.
30. Herstad L, Klungsøy K, Skjærven R, et al. Elective cesarean section or not? Maternal age and risk of adverse outcomes at term: a population-based registry study of low-risk primiparous women. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2016; 16: e230, 1-11. <https://bmcpregnancychildbirth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12884-016-1028-3> (7. 4. 2018)
31. Indrebo A. Canine neonatal mortality in four large breeds. *Acta Vet Scand* 2007; 49(Suppl 1): eS2, 1-5. <https://actavetscand.biomedcentral.com/articles/10.1186/1751-0147-49-S1-S2> (31. 3. 2018)
32. James LS, Weisbrot IM, Prince CE, Holaday DA, Apgar V. The acid-base status of human infants in relation to birth asphyxia and the onset of respiration. *J Pediatr* 1958; 52(4): 379–94.
33. Johnson CA. False pregnancy, disorders of pregnancy and parturition, and mismating. In: Nelson RW, Couto CG, eds. *Small animal internal medicine*. 4th ed. St.Louis: Mosby, 2009: 885–910.
34. Johnson CA. Pregnancy management in the bitch. *Theriogenology* 2008; 70(9): 1412–7.
35. Jutkowitz LA. Reproductive emergencies. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2005; 35(2): 397–420.

36. Kredatusova G, Hajurka J, Kzakalova I, Valencakova A, Vojtek B. Physiological events during parturition and possibilities for improving puppy survival: a review. *Vet Med (Praha)* 2011; 56(12): 589–94.
37. Kutzler M, Mohammed HO, Lamb SV, et al: Accuracy of canine parturition prediction from the initial rise in preovulatory progesterone concentration. *Theriogenology* 2003; 60: 1187–97.
38. Lantzy A. Neonatal hypoglycemia. MSD manual professional version. Kenilworth: Merck Sharp & Dohme Corp, 2015: e1-5.  
<https://www.msdmanuals.com/professional/pediatrics/metabolic,-electrolyte,-and-toxic-disorders-in-neonates/neonatal-hypoglycemia> (4. 2. 2018)
39. Lopate C. Dystocia diagnosis & management. *Clinician's Brief* 2013; 11(6): e1-3.  
<https://www.cliniciansbrief.com/article/dystocia-diagnosis-management>  
(12. 1. 2018)
40. Lúcio CF, Silva LC, Rodrigues JA, Veiga GA, Vannucchi CI. Acid-base changes in canine neonates following normal birth or dystocia. *Reprod Domest Anim* 2009; 44(Suppl 2): 208–10.
41. MacPhail CM. Surgery of the reproductive and genital systems. In: Fossum TW, eds. *Small animal surgery*. 4th ed. St Louis: Saunders Elsevier, 2013: 798–801.
42. Martin RW, McColgin SG. Evaluation of fetal and neonatal acid-base status. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1990; 17(1): 223–33.
43. Meloni T. Some perinatal endocrine and morphological aspects of canine species. Milano: Università degli Studi di Milano, Graduate school of veterinary sciences for animal health and food safety, 2015. Doktorska disertacija
44. Moon PF, Erb HN, Ludders JW, Gleed RD, Pascoe PJ. Perioperative risk factors for puppies delivered by cesarean section in the United States and Canada. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000; 36(4): 359–68.
45. Mosier JE. Canine pediatrics: the neonate. In: Proceedings of the 48th American Animal Hospital Association annual meeting, 1981: 339–47.
46. Münnich A. The pathological newborn in small animals: the neonate is not a small adult. *Vet Res Commun* 2008; 32(Suppl 1): S81–5.
47. Onclin KJ. Cesarean section in the dog. *Clinician's Brief* 2008; 6(5): 72–8.

48. O'Neill DG, O'Sullivan AM, Manson EA, et al. Canine dystocia in 50 UK first-opinion emergency care veterinary practices: prevalence and risk factors. *Vet Rec* 2017; 181(4): 88.
49. Paccamonti D. Breeding management. *Clinician's Brief* 2006; 4(2): 13–4.
50. Pang DS, Boysen S. Lactate in veterinary critical care: pathophysiology and management. *J Am Anim Hosp Assoc* 2007; 43(5): 270–9.
51. Poffenbarger EM, Ralston SL, Olson PM, Chandler ML. Canine neonatology. Part 2: disorders of the neonate. *Comp Cont Educ Pract vet* 1990; 13: 25–37.
52. Pretzer SD. Medical management of canine and feline dystocia. *Theriogenology* 2008; 70(3): 332–6.
53. Silva LC, Lúcio CF, Veiga GA, Rodrigues JA, Vannucchi CI. Neonatal clinical evaluation, blood gas and radiographic assessment after normal birth, vaginal dystocia or caesarean section in dogs. *Reprod Domest Anim* 2009; 44(2): 160–3.
54. Siristatidis C, Salamalekis E, Kassanos D, Loghis C, Creatsas G. Evaluation of fetal intrapartum hypoxia by middle cerebral and umbilical artery Doppler velocimetry with simultaneous cardiotocography and pulse oximetry. *Arch Gynecol Obstet* 2004; 270(4): 265–70.
55. Smith FO. Challenges in small animal parturition: timing elective and emergency cesarian sections. *Theriogenology* 2007; 68: 348–53.
56. Smith FO. Prenatal care of the bitch and queen, In: Peterson ME, Kutzler MA, eds. *Small animal pediatrics*. St. Louis: Saunders Elsevier, 2011: 1–10.
57. Taverne M, Noakes DE. Parturition and the care of parturient animals, including the newborn. In: Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW, eds. *Veterinary reproduction & obstetrics*. 9th ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2009: 161–76.
58. Tønnessen R, Borge KS, Nødtvedt A, Indrebø A. Canine perinatal mortality: a cohort study of 224 breeds. *Theriogenology* 2012; 77(9): 1788–801.
59. Vannucchi CI, Silva LC, Lúcio CF, Regazzi FM, Veiga GA, Angriman DS. Prenatal and neonatal adaptations with a focus on the respiratory system. *Reprod Domest Anim* 2012; 47(6): 177–81.
60. Vassalo FG, Simões CR, Sudano MJ, et al. Topics in the routine assessment of newborn puppy viability. *Top Companion Anim Med* 2015; 30(1): 16–21.

61. Veronesi MC, Panzani S, Faustini M, Rota A. An Apgar scoring system for routine assessment of newborn puppy viability and short-term survival prognosis. *Theriogenology* 2009; 72(3): 401–7.
62. Veronesi MC. Assessment of canine neonatal viability-the Apgar score. *Reprod Domest Anim* 2016; 51(Suppl 1): 46–50.
63. von Heimendahl A. A simple approach to progesterone testing for mating and parturition. In: Proceedings of 51st British Small Animal Association Congress 2008, 51st BSAVA congress. Birmingham, 2008.
64. Wydooghe E, Berghmans E, Rijsselaere T, Van Soom A. International breeder inquiry into the reproduction of the English bulldog. *Vlaams Diergen Tijds* 2013; 82(1): 38–43.
65. Zakošek Pipan M, Šterbenc N, Švara T, Zdovc I, Plavec T. Mother's milk as a source of *Staphylococcus pseudintermedius* sepsis in a litter of dogs born with elective caesarean section. In: Abstract book of reproduction and pediatrics in dogs, cats and small animal companion, 7th International symposium on canine and feline reproduction in a joint meeting with 15th congress of the European Veterinary Society for Small Animal Reproduction. Vienna: EVSSAR, 2017: 105.

## 9 PRILOGE

### 9.1 PRILOGA 1 – IZJAVA O SODELOVANJU V RAZISKAVI

#### IZJAVA O SODELOVANJU V RAZISKAVI »VPLIV PORODA NA NOVOROJENE PSE«



Vpliv poroda na novorojene kužke je zelo slabo raziskan. V tem obdobju pride do številnih fizioloških sprememb, ki so potrebne za življenje izven matere. Z namenom, da bolje spoznamo kako različni tipi porodov (elektiven ali urgenten carski rez, vaginalni porod) vplivajo na novorojence in katera oblika porodov zanje predstavlja največji stres, bi vas prosili, da sodelujete v raziskavi, kjer bomo pri porodu odvzeli vzorce, ki bi jih sicer zavrgli.

Vsi vzorci, ki bi bili sicer ob/po posegu zavrnjeni, bodo odvzeti na način, ki ne povzroča bolečine vaši psički ali mladičem. Odvzeli bomo amnijsko tekočino (tekočino v kateri ležijo mladiči med brejostjo), del placente, mekonij, nekaj kapljic kolostruma in nekaj kapljic krvi iz popkovnice.

V primeru sodelovanja v raziskavi vam ponujamo nižjo ceno kirurškega posega oziroma brezplačno pomoč pri vaginalnem porodu. Od vas pričakujemo spremljanje zdravstvenega stanja mladičev in mame po porodu, tehtanje mladičev in sporočanje teh podatkov vodjemu raziskave. Če dogovora ne boste spoštovali, vam bomo po preteklu dveh mesecov poslali račun z razliko do polne cene posega oziroma našega dela.

S sodelovanjem v raziskavi »Vpliv poroda na novorojene pse« pomagate bodočim mladičkom, raziskovalcem in veterinarjem, za kar smo vam zelo hvaležni.

Vodji raziskave:

asist. dr. Maja Zakošek Pipan, dr. vet. med. in doc. dr. Tanja Plavec, dr. vet. med.

#### Izjava

Podpisani \_\_\_\_\_, stanujoč \_\_\_\_\_  
izjavljam, da se strinjam s sodelovanjem moje psice (ime, starost, pasma)  
v raziskavi »Vpliv poroda na novorojene pse«, ki poteka na Veterinarski fakulteti v Ljubljani.

Seznanjen(a) sem z vsebino raziskave in s tveganjem ob sodelovanju.

Rezultati raziskave me zanimajo

DA

NE

Ljubljana, \_\_\_\_\_

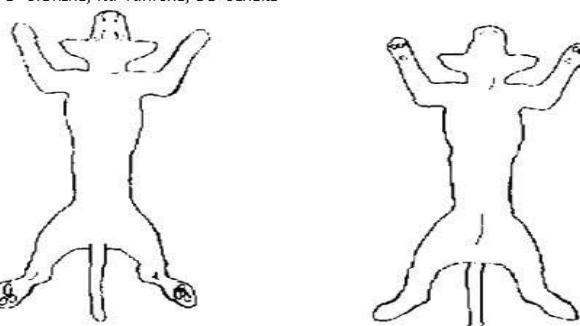
Podpis lastnika(ce) živali:

## 9.2 PRILOGA 2 – OBRAZEC ZA DOLOČANJE APGAR OCENE IN REFLEKSOV

### Veterinarska fakulteta v Ljubljani

Rojstvo novorojenca - Poskus Novorojenici

Ime psice: Številka:	Ime lastnika:	Pasma:	Številka poroda:
Teža psice:	Teža mladiča: 8	Datum poroda:	Čas poroda:
Barvne značilnosti mladiča (izpolni, ko je mladič stabilen): Č=črna, R=rdečkasta, B=bela, R=rjava, O=oranžna, Ru=rumena, Oz=oznaka		Zaporedna številka mladiča: od	Spol: Ž M
		Temp:	Malformacije: DA NE Tip:
		Porod: Vaginalni bp Vaginalni pomoč Elektiven CR Urgeten CR	
		Posebnosti:	Dolžina brejosti:
			Osemenitev: Pripust AI
			Seme: Sveže Hlađeno
			Zamrznjeno



**Status ob porodu: Apgar ocena** (Pregled v prvih petih minutah, preden je potrebna pomoč pri oživljjanju)

Parameter	Točke		
	0	1	2
Barva sluznic	Cianotične, blede sluznice	Rahlo cianotične	Rožnate
Srčni utrip	< 120	120-180	> 180
Dihanje	Ni prisoten	Šibek, brez ritma	> 15, ritmičen
Gibljivost	Niso gibljivi	Se malo premikajo	Aktivni
Lumbosakralna stimulacija	Ni odziva	Premikanje – brez vokalizacije	Premikanje in vokalizacija
<b>Vitalnost novorojenca (od 10 možnih točk)</b> (prištej točke vseh obkroženih pod ročjih)			
Refleks	0	1	2
Sesalni refleks			
'Rooting' refleks			
'Righting' refleks			
<b>Vitalnost novorojenca (od 6 možnih točk)</b> (prištej točke vseh obkroženih področijh)			

Potrebno oživljjanje? DA  NE

Zdravljenje:

Oblika zdravljenja	Doza	Čas	IV/SC/OR/IM
Nalokson	0.25 mL/kg (0.4mg/mL) IV ali pod jezik		
Dodajanje kisika	Zapiši % kisika in čas dajanja		
Predihavanje	15-30 vdihov / min		
Akupunktura	Nasalni philtrum; 25g igla		
Masaža srca	120/min		
Doxapram	0.1 mL / mladiča IV ali pod jezikom		
Glukoza v tekočinah	10% 2-4 mL/kg IV ali IO		

ČAS ob končanem oživljjanju \_\_\_\_\_ Mrtev  Živ

**Apgar ocena (Pregled po 15 minutah)**

Parameter	Točke		
	0	1	2
Barva sluznic	Cianotične, blede sluznice	Rahlo cianotične	Rožnate
Srčni utrip	< 120	120-180	> 180
Dihanje	Ni prisoten	Šibek, brez ritma	> 15, ritmičen
Gibljivost	Niso gibljivi	Se malo premikajo	Aktivni
Lumbosakralna stimulacija	Ni odziva	Premikanje – brez vokalizacije	Premikanje in vokalizacija
<b>Vitalnost novorojenca (od 10 možnih točk) (prištej točke vseh obkroženih področijh)</b>			
Refleks	0	1	2
Sesalni refleks			
'Rooting' refleks			
'Righting' refleks			
<b>Vitalnost novorojenca (od 6 možnih točk) (prištej točke vseh obkroženih področijh)</b>			

**Apgar ocena (Pregled po 1 urji)**

Parameter	Točke		
	0	1	2
Barva sluznic	Cianotične, blede sluznice	Rahlo cianotične	Rožnate
Srčni utrip	< 120	120-180	> 180
Dihanje	Ni prisoten	Šibek, brez ritma	> 15, ritmičen
Gibljivost	Niso gibljivi	Se malo premikajo	Aktivni
Lumbosakralna stimulacija	Ni odziva	Premikanje – brez vokalizacije	Premikanje in vokalizacija
<b>Vitalnost novorojenca (od 10 možnih točk) (prištej točke vseh obkroženih področijh)</b>			
Refleks	0	1	2
Sesalni refleks			
'Rooting' refleks			
'Righting' refleks			
<b>Vitalnost novorojenca (od 6 možnih točk) (prištej točke vseh obkroženih področijh)</b>			

**Kolostrum – čas po porodu:**

**Spremljanje mladičev do odstavitev:**

- teža po porodu
- teža 1 uro po porodu
- teža po kolostrumu
- vsakodnevno premikanje teže do 1 tedna po porodu
- teža pri 14 dneh
- teža po 1 mesecu
- teža pri odstavitevi

Podpis: \_\_\_\_\_