

Pokazatelji ukupnog antioksidacijskog statusa kuja prije i nakon ovarijektomije

T. Karadjole, Lj. Fučkala, Lj. Bedrica, N. Maćešić, G. Bačić, I. Folnožić*, B. Špoljarić, J. Šavorić, I. Butković, N. Prvanović Babić, M. Efendić, M. Tomić, V. Sokol Karadjole, S. Kunštek i M. Lojkić



Sažetak

Svaki kirurški zahvat narušava homeostazu organizma, koja se očituje u imunološkim, neuroendokrinim i metaboličkim promjenama u organizmu. Pretpostavlja se da jačina odgovora organizma ovisi i o jačini traume tijekom operativnih zahvata. Cilj istraživanja je bio utvrditi antioksidacijski status kuja prije i poslije ovarijektomije. U istraživanje je bilo uključeno petnaest kuja pacijenata Klinike za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta u Zagrebu u kojih je učinjena elektivna ovarijektomija u svrhu kastracije. Kujama je krv vađena prije operacije te poslije prvog, trećeg i sedmog postoperativnog dana kako bi se izmjerio ukupni antioksidacijski status. Svim kujama je učinjena i kompletna krvna slika, biokemija i C-reaktivni protein (CRP). Ukupan antioksidacijski status određivan je pomoću TAS test kitova.

Proizvođač kitova preporučuje svakom laboratoriju standardiziranje referentnih vrijednosti. Zbog toga je učinjena analiza 30 seruma zdravih kuja koje nisu bile operirane te je kao referentna vrijednost korištena njihova srednja vrijednost +/- dvije standardne devijacije. Prosječna referentna vrijednost iznosila je 1,55 mmol/L. Vrijednosti ukupnog antioksidacijskog statusa nakon operacije u svim promatranim razdobljima nisu se statistički znatnije razlikovale. Uspoređujući minimalne i maksimalne vrijednosti u svim promatranim razdobljima, zaključili smo da nije bilo velikih razlika u vrijednostima ukupnog antioksidacijskog statusa u operiranih kuja. Na temelju naših rezultata možemo zaključiti da ovarijektomija nije prouzročila oksidacijski stres.

Ključne riječi: kuja, ovarijektomija, ukupni antioksidacijski status

Dr. sc. Tugomir KARADJOLE, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Ljiljana BEDRICA, dr. med. vet., redovita profesorica u mirovini, dr. sc. Nino MACEŠIĆ, dr. med. vet., izvanredni profesor, dr. sc. Goran BAČIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, dr. sc. Ivan FOLNOŽIĆ*, (dopini autor, e-mail: folnozic@vef.unizg.hr), dr. sc. Branimira ŠPOLJARIĆ, dr. med. vet., docentica, Juraj ŠAVORIĆ, dr. med. vet., asistent, dr. sc. Ivan BUTKOVIĆ, dr. med. vet., viši asistent, dr. sc. Nikica PRVANOVIĆ BABIĆ, dr. med. vet., redovita profesorica, Maša EFENDIĆ, dr. med. vet., asistentica, Sandra KUNŠTEK, mag. ing. biotechn., stručna suradnica, dr. sc. Martina LOJKIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Ljerka FUČKALA, dr. med. vet., Ministarstvo poljoprivrede, Uprava za sigurnost hrane, Republike Hrvatske, Hrvatska; Miroslav TOMIĆ, dr. med., KBC Sestre Milosrdnice, Zagreb, Hrvatska; dr. sc. Vesna SOKOL KARADJOLE, dr. med., KBC Zagreb, Hrvatska

Uvod

Elektivna kastracija spada među najčešće indikacije za ovarijektomiju. Odstranjivanje jajnika i maternice jedna je od terapija za neke bolesti, kao što su: ciste jajnika, tumori jajnika i maternice, torzija maternice, prolaps maternice te ruptura maternice (Slatter, 1993., Johnston i Tobias, 2018.). Zbog mogućnosti djelovanja hormonalnih promjena tijekom spolnog ciklusa na terapiju tih bolesti ovarijektomija je indicirana i u životinja s dijabetesom i epilepsijom (Slatter, 1993., Johnston i Tobias, 2018.). Preporučeno vrijeme za elektivnu kastraciju je oko šestog mjeseca starosti životinje, tj. prije prvog estrusa ili nakon njega (Slatter, 1993., Johnston i Tobias, 2018.). Ovarijektomija učinjena prije prvog estrusa može bitno umanjiti rizik od nastanka tumora mliječne žlijezde te ga svodi na 0,5 %; ako se ovarijektomija učini nakon prvog estrusa mogućnost nastanka tumora mliječne žlijezde povećava se na 8 %, a nakon drugog estrusa rizik se penje na 26% (Schneider i sur., 1969., Johnston i Tobias, 2018.). kao i svaka druga abdominalna operacija i ovarijektomija može izazvati komplikacije (komplikacije vezane uz anesteziju, problemi u zacjeljivanju rana, infekcije, hernija itd.) (Dorn i Swist, 1977., Johnston i Tobias, 2018.). Krvarenje je jedno od najčešćih uzroka smrti nakon ovarijektomije i ovarijohisterektoimije (Pearson, 1973., Johnston i Tobias, 2018.). Inkontinencija urina također je jedna od češćih komplikacija nakon ovarijektomije, no točan uzrok tome još nije poznat (Reichler i sur., 2004., Johnston i Tobias, 2018.).

Operativni zahvat narušava homeostazu organizma, koja se očituje u imunološkim, neuroendokrinim i metaboličkim promjenama u organizmu. Pretpostavlja se da jačina odgovora organizma ovisi i o jačini traume tijekom operativnih zahvata. Iz literature je

poznato da svaka operacija može izazvati oksidacijski stres, a oksidacijski stres je poremećaj u ravnoteži oksidacijsko-redukcijskih procesa u organizmu, pri čemu je pomak ravnoteže usmjeren prema oksidaciji. Ovaj poremećaj ima za posljedicu prekomjerno stvaranje slobodnih radikala kisika, a štetno utječe i na strukturu molekula, pri čemu kao krajnji rezultat nastaju promjene u tkivima i organima. Oksidacijski stres je obilježje i uzročnik nastanka brojnih poremećaja poput: kardiovaskularnih bolesti, infektivnih i neurodegenerativnih bolesti, dijabetesa, autoimunih bolesti, nekih vrsta karcinoma, fibroze, hemolize, procesa starenja (Halliwell, 2007.).

Reaktivni kisikovi spojevi (engl. *Reactive Oxygen Species* - ROS) skupina su visokoreaktivnih spojeva koja, osim kisikovih radikala superoksidnog aniona i hidroksilnog radikala, uključuje i druge reaktivne spojeve: vodikov peroksid, jedinični kisik i hipoklornu kiselinu. Svi ti spojevi mogu oštetiti stanične dijelove. Veći dio reaktivnih kisikovih spojeva proizvod je anaerobnog metabolizma u mitohondriju (Stipančić, 2002.). Reaktivni se kisikovi spojevi stvaraju u organizmu u fiziološkim metaboličkim procesima (Harma i sur., 2003.). Neutralizacija ROS-a u organizmu se odvija enzimima ili prirodnim antioksidansima, koji sprječavaju stvaranje ROS-a ili priječe daljnje stvaranje radikala (Diplock, 1994.). Ukoliko postoji ravnoteža između njihova stvaranja i uklanjanja reaktivni kisikovi spojevi imaju i koristan učinak. Prekomjerno stvaranje ROS-a te nemogućnost antioksidacijskog sustava da ukloni stvorene ROS-e posljedičnim oštećenjem stanica naziva se oksidacijski stres. Obrana organizma od ROS-a može biti enzimski i neenzimski. Stanice stvaraju antioksidacijske enzime, kao što su superoksid dismutaza - SOD, glutation peroksidaza i glutation reduktaza.

Antioksidacijski enzimi djeluju tako da reagiraju s oksidantom prije nego što oksidant djeluje s molekulom. Neenzimski antioksidansi su primjerice mokraćna kiselina, neki vitamini (E, C), selen i ceruloplazmin. Neenzimski antioksidansi djeluju zaustavljajući reakciju lipidne peroksidacije ili kao reduktori koji reagiraju u vodenom mediju sa slobodnim radikalima (Jensen, 2003.). Slobodni kisikovi radikali u organizmu imaju kratak poluživot, stoga je njihovo izravno određivanje gotovo nemoguće. Neizravno mjerenje antioksidansa češće se koristi u procjeni oksidacijskog stresa s obzirom na međusobnu vezu stvaranja kisikovih radikala i antioksidacijskog zaštitnog sustava (Stipančić, 2002.).

Antioksidacijski sustav je iznimno složen i u njemu sudjeluju brojni enzimi. Osim enzima, u tom sustavu sudjeluju i molekule s neenzimskim djelovanjem. Zbog toga su razvijene različite metode mjerenja i određivanja aktivnosti pojedinih dijelova toga sustava. Relativno vrijednom i jednostavnom pokazala se metoda određivanja ukupnoga antioksidacijskog statusa plazme ili seruma (engl. *Total Antioxidative Status* - TAS). Tom metodom određuju se ukupno prisutni enzimski i neenzimski antioksidansi, bez određivanja pojedinačnih antioksidacijskih komponenata (Stipančić, 2002.). Neki autori iznose negativna stajališta o uporabi TAS-a pa tako Lamont (1997.) ističe nedostatnu specifičnost testa, sudjelovanje mokraćne kiseline kao jednog od čimbenika toga testa s velikom varijabilnosti u vrijednostima.

S obzirom na izneseno, cilj je ovoga rada utvrditi oksidacijski stres prouzročen ovarijektomijom, mjerenjem TAS-a.

Materijali i metode

U istraživanje je bilo uključeno 15 kuja na kojima je učinjena elektivna

ovarijektomija. Kuje su operirane na zahtjev njihovih vlasnika. Svaki je vlasnik bio upoznat s metodom izvođenja operacije te je potpisao pristanak na protokol vađenja krvi i njezino korištenje u svrhu istraživanja. Sve su ee kuje anamnestički tjerale najmanje dva mjeseca prije operacije, a prije operacije ultrazvučno pregledane da bi se uočilo da nisu gravidne. U istraživanje je uključeno i deset kuja koje su bile kontrolna skupina i nisu operirane, a krv im je jednokratno vađena. Sve kuje uključene u istraživanje bile su križanih pasmina, tjelesne težine od 20 do 30 kg te starosti od dvije do tri godine. Svim kujama je uz ukupan antioksidacijski status izvađena krv za kompletnu krvnu sliku, biokemiju i CRP. Sve kuje su prije operacije klinički pregledane.

Kuje su operirane u općoj endotrahealnoj inhalacijskoj anesteziji (isofluran i kisik) uz mehanički kontroliranu ventilaciju, održavajući završni respiracijski volumen CO₂ između 30 i 40 mm Hg. Prije operacije 12-16 sati kuje nisu ništa jele. Prije premedikacije kuje su klinički pregledane i svrstane u jednu od skupina po klasifikaciji Američkog društva anesteziologa (*American Society of Anesthesiologists* - ASA). Sve kuje se premedicirane metadonom 0,15 mg/kg i medetomidinom 5 mcg/kg iv. Anestezija je inducirana propofolom 4 mg/kg iv, a održavana isofluranom. Za intraoperativnu anesteziju korišten je fentanil 0,005 mg/kg. Tijekom operacije sve su kuje primale intravenski NaCl 0,9%, 4 ml/kg/sat. Za vrijeme operacija praćenje općeg stanja životinja je uključivalo: EKG, mjerenje tjelesne temperature sondom postavljenom u jednjak, pulsnu oksimetriju, kapnografiju, broj respiracija u minuti i neinvazivno mjerenje krvnog tlaka. Ovarijektomija je započeta incizijom kože, infraumbilikalno medijalno (u bijeloj liniji) i nastavljaajući u kaudalnom smjeru. Nakon lokacije jajnika (lijevog ili

desnog), tupo je prepariran suspenzorni jajnički ligament i prstom prekinut u blizini pripadajućeg bubrega. Nakon toga tupo je napravljen otvor u mezovariju kaudalno od ovarijalnih krvnih žila. Prije postavljanja ligatura na mezovarij postavljena su dva Rochester Carmalt forcepsa. Prva ligatura postavljena je na vrhu roga maternice, tj. na *ligamentum proprium*. Prva ligatura na mezovariju postavljena je između dva forcepsa tako da nakon uklanjanja proksimalnog forcepsa od jajnika ligatura dođe na njegovo mjesto. Druga ligatura postavljena je ispod distalnog forcepsa. Nakon toga, jajnik je u cijelosti s jajničkom burzom i jajovodom odstranjen rezom iznad proksimalne ligature mezovarija i ligature na vrhu roga maternice. Isti postupak ponovljen je na drugom jajniku. Ligature su učinjene resorbirajućim polifilamentnim koncem Vicryl® (polyglactin 910, Ethicon, Johnson & Johnson). Mišići su šivani produžnim šavom monofilamentnim resorbirajućim koncem PDS® II (polydioxanon, Ethicon, Johnson & Johnson). Potkožje je šivano produžnim šavom korištenjem Vicryl® (polyglactin 910, Ethicon, Johnson & Johnson). Koža je šivana pojedinačnim čvorastim šavom neresorbirajućim monofilamentnim koncem Ethilon® (polyamid, Ethicon, Johnson & Johnson).

Krv operiranih kuja u ovom istraživanju uzimana je ukupno četiri puta: prije davanja premedikacije, 24 sata nakon operacije, 72 sata nakon operacije i sedmi dan nakon operacije. Uzorci krvi vađeni su iz *v. cephalica antebrachii*. Uzorci su uzimani u jednu epruvetu s antikoagulansom (EDTA) K3E i u tri epruvete bez koagulansa SST. Epruvete bez koagulansa su nakon grušanja krvi centrifugirane 3000 okretaja/min tijekom 10 minuta, nakon čega je odvojen serum. Serum je, do učinjenih pretraga, bio pohranjen u kivetama na -70 °C.

Ukupan antioksidacijski status (TAS) određivan je iz seruma kuja na aparatu Olympus AU 600, pomoću TAS test kitova (Randox, Crumlin, UK), u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb. Preporuka proizvođača kitova je standardiziranje referentnih vrijednosti u svakom laboratoriju. Zbog toga je učinjena analiza 30 seruma zdravih kuja koje nisu bile operirane te je kao referentna vrijednost korištena njihova srednja vrijednost +/- dvije standardne devijacije. Prosječna referentna vrijednost iznosila je 1,55 mmol/L.

Podatke smo obradili pomoću statističkih programa SAS verzija 8.1. i Statistika verzija 7. Distribucije vrijednosti smo analizirali pripadnim histogramima frekvencija i Kolmogorov-Smirnovim testom. Kod svih obilježja utvrđeno je da nemaju odlike Gaussove raspodjele te su primjenjene metode neparametrijske statistike. Razlike između vrijednosti medijana za ista obilježja dviju skupina analizirali smo Mann-Whitneyjevim U testom.

Rezultati

Vrijednosti ukupnog antioksidacijskog statusa nakon operacije u svim promatranim razdobljima nisu se statistički znatnije razlikovale. Uspoređujući minimalne i maksimalne vrijednosti u svim promatranim razdobljima, možemo zaključiti da nije bilo velikih razlika u vrijednostima ukupnog antioksidacijskog statusa u operiranih kuja (tabela 1). Srednja vrijednost TAS u kontrolnoj skupini nije se statistički razlikovala od vrijednosti utvrđenih u operiranih kuja ($P < 0,05$).

Medijan vrijednosti eritrocita u ovarijektomiranih kuja trećeg i sedmog poslijeoperacijskog dana bio je statistički znatno niži ($P < 0,07$). Uspoređujući minimalne vrijednosti eritrocita primjećuje se da su vrijednosti kroz sva promatrana razdoblja ostale u granicama referentnih vrijednosti. Koncentracija hemoglobina i hematokrita (medijan)

Tabela 1. Vrijednosti ukupnog antioksidacijskog statusa (mmol /L)

Vrijeme određivanja	Vrijednosti ukupnog antioksidacijskog statusa u mmol/L		
	Medijan	min.	maks.
prije operacije (0. dan)	1,27	1,07	1,35
1. dan nakon operacije	1,29	1,01	1,51
3. dan nakon operacije	1,28	1,16	1,42
7. dan nakon operacije	1,28	1,21	1,45

Tabela 2. Vrijednosti eritrocita ($\times 10^{12}/L$)

Vrijeme određivanja	Ovarijektomija		
	Medijan	Min.	Maks.
prije operacije (0. dan)	6,90	5,30	10,00
1. dan nakon operacije	6,70	4,10	8,40
3. dan nakon operacije	7,10	4,70	8,20
7. dan nakon operacije	7,10	5,10	8,40

Tabela 3. Vrijednosti C-reaktivnog proteina (mg/L)

Vrijeme određivanja	Ovarijektomija CRP		
	Medijan	Min.	Maks.
prije operacije (0. dan)	0,60	0,20	2,00
1. dan nakon operacije	3,50	0,90	5,40
3. dan nakon operacije	2,10	0,90	4,30
7. dan nakon operacije	1,50	0,70	2,80

u operiranih kuja nije se statistički znatnije razlikovala u svim promatranim razdobljima. (tabela 2). Vrijednosti leukocita pokazuju rast prvog dana nakon operacije nakon čega slijedi njihov pad na normalne vrijednosti. Ni jedan biokemijski parametar ne pokazuje statistički značajno odstupanje od fizioloških vrijednosti.

U odnosu na prijeoperacijske vrijednosti vrijednosti CRP-a su prvog poslijeoperacijskog dana porasle. Trećega

i sedmoga dana nakon operacije utvrđen je trend smanjenja koncentracije CRP-a. Koncentracija sedmog dana nakon operacije, promatrajući medijan nije pala na prijeoperacijske vrijednosti (tabela 3.).

Rasprava

Del Romero i sur. (2020.) navode da je CRP jedan od biomarkera sistemskog odgovora organizma na upalu te da ga se može koristiti u praćenju

postoperativnih komplikacija. Isti autori su istraživali odgovor akutne faze upale nakon ovarijektomije te navode da 24 sata nakon operacije u serumu dolazi do povišenja koncentracije CRP-a što je sukladno našem istraživanju. Slične rezultate su dobili i Dabroski i Wawron (2014.) istražujući proteine akutne faze upale u kuja nakon ovarijohisterektomije. Atabekoglu i sur. (2004.) uočili su veliki porast CRP-a prvoga i drugoga dana nakon laparoskopski asistirane vaginalne histerektomije i abdominalne histerektomije u žena. Veći porast koncentracije CRP-a zabilježen je i u laparotomijski operiranih žena u odnosu na one operirane laparoskopski. Pojačano stvaranje slobodnih radikala ili smanjenje antioksidacijskog mehanizma organizma naziva se oksidacijski stres (Sies, 1986.). Antioksidacijski sustav najvjerojatnije utječe na oporavak postoperativni oporavak (Morris i sur., 2000.). Ovarijohisterektomija izvedena kao elektivni ili hitni kirurški zahvat prouzroči oksidacijski stres (Serin i sur., 2008, Lee i Kim, 2014 i Sakundech i sur., 2020.). Uzrok navedenom ističe se kirurška trauma koja ima za posljedicu ishemijsku, povećanu koncentraciju slobodnog željeza i bakra koji se izlučuju iz tkiva te upalu seroznih ovojnica. Istraživanja provedena u ljudi pokazuju da je ukupni antioksidacijski status smanjen prilikom ishemijsko reperfuzijskog oštećenja koje se može usporediti s kirurškom traumom (Spark i sur., 1998.). Ohno i sur. (2009.) su peroralnom aplikacijom glutamina nakon operacije ileusa u 12 pasa spriječili stvaranje oksidacijskog stresa.

Salavati i sur. (2021) ističu da ovarijohisterektomija kuja izaziva oksidativni stres. Isti autori su istraživali protektivno djelovanje melatonina aplicirajući ga kujama prije i nakon provedene ovarijohisterektomije kako bi potaknuli pojačano izlučivanje antioksidativnih enzima. Sakundech

i sur. (2020.) navode da intravenska anestezija za ovarijohisterektomiju primjenom Xylazina i Ketamina dovodi do povišenja markera oksidativnog stresa. Stipančić (2002.) navodi da ukupni antioksidacijski status nije pouzdan pokazatelj pojave oksidacijskog stresa u operiranih osoba, poglavito ako je stupanj oksidacijskog stresa bio slabijeg intenziteta.

Na Veterinarskom fakultetu u Zagrebu ukupni antioksidacijski status koristi se i određuje u znanstvene svrhe te su referentne vrijednosti u kuja morale biti utvrđene. Prosječna referentna vrijednost iznosila je 1,55 mmol/L, što je nešto više nego u istraživanju Nemeca i sur. (2000.). Ovo istraživanje navodi normalne vrijednosti od 1,080 mmol/L za ukupni antioksidacijski status te zaključuju da ukupni antioksidacijski status pozitivno korelira s albuminom i vitaminom E, a negativno s ukupnim bilirubinom, vitaminom A i beta karotenom.

U ovom se istraživanju poslijeoperacijske vrijednosti ukupnoga antioksidacijskog statusa u odnosu na prijeoperacijske vrijednosti ni u jednoj od dviju skupina kuja u svim mjerenim razdobljima nisu bitno promijenile. Aengwanich i sur. (2019.) nisu primijetili pojavu oksidativnog stresa nakon kastracije muških pasa što je u suglasju s dobivenim rezultatima našeg istraživanja. Stipančić (2002.) navodi da kolecistektomija ljudi učinjena laparoskopskom ili laparotomijskom metodom ne izaziva oksidacijski stres, dok Bukan i sur. (2004.) u svojem istraživanju pokazuju da laparoskopiska i laparotomijska kolecistektomija ljudi prouzroči oksidacijski stres.

Na osnovi mjerenja ukupnoga antioksidacijskog statusa u našem istraživanju možemo zaključiti da nakon ovarijektomije nije došlo do oksidacijskog stresa u kuja.

Literatura

1. AENGWANICH, W., K. SAKUNDECH, C. CHOMPOOSAN, P. TUCHPRAMUK and T. BOONSORN (2019): Physiological changes, pain stress, oxidative stress, and total antioxidant capacity before, during, and after castration in male dogs. *J. Vet. Behav.* 32, 76-79. 10.1016/j.jveb.2019.04.004
2. ATABEKOGLU, C., M. SONMEZER, M. GUNGOR, R. AYTAC, F. ORTAC and C. UNLU (2004): Tissue trauma in abdominal and laparoscopic-assisted vaginal hysterectomy. *J. Am. Assoc. Gynecol. Laparosc.* 11, 467-72. 10.1016/S1074-3804(05)60077-1
3. BUKAN, M. H., N. BUKAN, N. KAYMAKCIGLU and T. TUFAN (2004): Effects of Open vs. Laparoscopic Cholecystectomy on Oxidative Stress. *Tohoku J. Exp. Med.* 202, 51-56. 10.1620/tjem.202.51
4. DABROWSKI, R. and W. WAWRON (2014): Acute-phase response in monitoring postoperative recovery in bitches after ovariohysterectomy. *Ann. Anim. Sci.* 14, 287-295. 10.2478/aoas-2014-0015
5. DEL ROMERO, A., B. CUERVO, P. PELÁEZ, L. MIGUEL, M. TORRES, M. YESTE, M. M. RIVERA DEL ALAMO, C. P. RUBIO and M. RUBIO (2020): Changes in Acute Phase Proteins in Bitches after Laparoscopic, Midline, and Flank Ovariectomy Using the Same Method for Hemostasis. *Animals* 10, 2223. 10.3390/ani10122223
6. DIPLOCK, A. T. (1994): Antioxidants and free radical scavengers. In: Rice-Evans, Burdon: Free radical damage and its control. Elsevier. Pp. 113-130. 10.1016/S0167-7306(08)60440-8
7. DORN, C. R. and R. A. SWIST (1977): Complications of canine ovariohysterectomy. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 13, 720.
8. HALLIWELL, B. and J. M. C. GUTTERIDGE (2007): *Free Radical Biology and Medicine* (4th ed.), Oxford Univ. Press, London.
9. HARMA, M., M. HARMA and O. EREL (2003): Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss Med. Wkly.* 133, 563-566.
10. JENSEN, S. J. K. (2003): Oxidative stress and free radicals. *J. Mol. Struct. (Theochem).* 666-667, 387-392. 10.1016/j.theochem.2003.08.037
11. JOHNSTON, S. A. and K. M. TOBIAS (2018): *Veterinary Surgery Small Animal*, Second Edition. Volume II. Elsevier. Pp. 2112-2119.
12. LAMONT, J., J. CAMPBELL and P. FITZGERALD (1997): Measurement of individual vs total antioxidants. *Clin. Chem.* 43, 852-853. 10.1093/clinchem/43.5.852
13. LEE, J. Y. and M. C. KIM (2014): Comparison of oxidative stress status in dogs undergoing laparoscopic and open Ovariectomy. *J. Vet. Med. Sci.* 76, 273-276. 10.1292/jvms.13-0062
14. NEMEC, A., J. BUTINAR, M. DROBNIČ-KOŠOROK, M. SKITEK, Z. PAVLICA and S. GALAC (2000): Serum Total Antioxidant Capacity (TAC) Values and Correlation of TAC and individual Antioxidants in Healthy Beagle Dogs. *Acta Vet. Brno* 69, 297-303. 10.2754/avb200069040297
15. OHNO, T., E. MOCHIKI, H. ANDO, T. FUKASAWA, Y. TOYOMASU, K. OGATA, R. AIHARA, T. ASAO and H. KUWANO (2009): Glutamine decreases the duration of postoperative ileus after abdominal surgery: an experimental study of conscious dogs. *Dig. Dis. Sci.* 54, 1208-1213. 10.1007/s10620-008-0478-5
16. PEARSON, H. (1973): The complication of ovariohysterectomy in the bitch. *J. Small Anim. Pract.* 14, 257-266. 10.1111/j.1748-5827.1973.tb06457.x
17. REICHLER, I. M., A. BARTH, M. HUBLER and S. ARNOLD (2004): Effect on Urodynamic Parameters of Spayed Continent and Incontinent Bitches by the Treatment of Depot Preparations of GnRH Analogues. *Reprod. Domest. Anim.* 66, 2127-2136. 10.1016/j.theriogenology.2006.06.009
18. SAKUNDECH, K., C. CHOMPOOSAN, P. TUCHPRAMUK, T. BOONSORN and W. AENGWANICH (2020): The influence of duration on pain stress, oxidative stress, and total antioxidant power status in female dogs undergoing ovariohysterectomy. *Vet. World* 13, 160-164. 10.14202/vetworld.2020.160-164
19. SALAVATI, S., A. MOGHEISEH, S. NAZIFI, A. AMIRI and B. NIKAHVAL (2021): The effects of melatonin treatment on oxidative stress induced by ovariohysterectomy in dogs. *BMC Vet. Res.* 17, 181. 10.1186/s12917-021-02882-1
20. SCHNEIDER, R. C. R. DORN and D. O. N. TAYLOR (1969): Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. *J. Natl. Cancer Inst.* 43, 1249-1261.
21. SERIN, G., F. KIRAL and I. SERIN (2008) Acute effect of ovariohysterectomy on lipid peroxidation and some antioxidant levels in dogs. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 52, 251-253.
22. SIES, H. (1986): *Biochemistry of oxidative damage*. *Angewandte Chemie, International Edition in English.* 25, 1058-1071. 10.1002/anie.198610581
23. SLATTER, D. (1993): *Textbook of Small Animal Surgery*. Volume II. W. B. Saunders Company. P. 1303.
24. STIPANČIĆ, I. (2002): Djelovanje kirurške traume na pokazatelje oksidativnog stresa u bolesnika kolecistektomiranih laparoskopskim odnosno laparotomijskim zahvatom. Sveučilište u Zagrebu Medicinski fakultet. *Disertacija*. Str. 23-115.

Total antioxidant status of bitches before and after ovariectomy

Tugomir KARADJOLE, DVM, PhD, Full Professor, Ljiljana BEDRICA, DVM, PhD, Full Professor in Retirement, Nino MAČEŠIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Goran BAČIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Ivan FOLNOŽIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Branimira ŠPOLJARIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Juraj ŠAVORIĆ, DVM, Assistant, Ivan BUTKOVIĆ, DVM, PhD, Senior Assistant, Nikica PRVANOVIĆ BABIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Maša EFENDIĆ, DVM, Assistant, Sandra KUNŠTEK, MSc, Mol. Biotechn., Expert Associate, Martina LOJKIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Ljerka FUČKALA, DVM, PhD, Ministry of Agriculture, Veterinary and Food Safety Administration, Zagreb; Miroslav TOMIĆ, DM, Sisters of Charity Hospital, Zagreb, Croatia; Vesna SOKOL KARADJOLE, DM, PhD, University Hospital Centre Zagreb, Croatia

Surgery impairs homeostasis, which is manifested in immunological, neuroendocrine, and metabolic changes in the organism. It is assumed that the response of the organism is proportional to the extent of the operative injury. Accordingly, the aim of this study was to determine the antioxidant status of bitches before and after ovariectomy. Fifteen bitches were presented to the Clinic for Reproduction and Obstetrics, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb, for elective ovariectomy due to castration. Blood sampling was performed on Day 0 (before surgery) and on Days 1, 3 and 7 after surgery to measure total antioxidant status (TAS), complete blood count, biochemistry and CRP. Total antioxidant capacity was determined

using TAS test kits. For the purpose of standardisation of reference values of TAS in laboratory, 30 serum samples of healthy, intact bitches were also analysed and the mean value +/- two standard deviations was used as the reference value. The average reference value was 1.55 mmol/L. The values of total antioxidant capacity after surgery on all sampling days did not differ significantly. Comparing the minimum and maximum values on all sampling days, there were no statistical differences in the values of the total antioxidant capacity in ovariectomised bitches. Based on these results, it can be concluded that ovariectomy did not cause oxidative stress.

Key words: ovariectomy; bitch; total antioxidant status