



Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

Manuela Zadravec

**POSTNATALNA DIFERENCIJACIJA  
KOŠTANOGA TKIVA DOBROGA  
DUPINA (*Tursiops truncatus*)**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2014.



University of Zagreb

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Manuela Zadavec

**POSTNATAL DIFFERENTIATION OF  
BONE TISSUE IN THE BOTTLENOSE  
DOLPHIN (*Tursiops truncatus*)**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2014.



Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

Manuela Zadavec

**POSTNATALNA DIFERENCIJACIJA  
KOŠTANOGA TKIVA DOBROGA  
DUPINA (*Tursiops truncatus*)**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

doc. dr. sc. Martina Đuras

dr. sc. Mario Mitak

Zagreb, 2014.



University of Zagreb

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Manuela Zadavec

**POSTNATAL DIFFERENTIATION OF  
BONE TISSUE IN THE BOTTLENOSE  
DOLPHIN (*Tursiops truncatus*)**

DOCTORAL THESIS

Supervisors:

Ph.D. Martina Đuras, Assist. Prof.

Ph.D. Mario Mitak, Sci. Advisor

Zagreb, 2014.

Najprije želim zahvaliti prof. dr. sc. Željku Cvetnić, ravnatelju Hrvatskog veterinarskog instituta koji mi je iskazao povjerenje i omogućio mi opis u Doktorski studij.

Veliko hvala mojim mentorima, doc. dr. sc. Martini Đuras i dr. sc. Mariu Mitaku na vođenju kroz ovu disertaciju te stručnu i osobnu podršku. Posebno zahvaljujem doc. dr. sc. Martini Đuras na izboru teme, pripremi uzoraka i strpljenju prilikom pisanja disertacije. Također zahvaljujem prof. dr. sc. Zvonimiru Kozarić na početnom izboru literature, izradi uzoraka i nesebičnom djeljenju znanja iz histologije. Dr. sc. Darinki Škrtić veliko hvala na pripremi uzoraka i stalnom bodrenju. Zahvaljujem dr. sc. Relji Becku na djeljenju znanja i savjeta o mikroskopiranju i izradi mikrografskih slika, kao i svim djelatnicima Laboratorija za parazitologiju HVI-a. Dr. sc. Miroslavu Beniću veliko hvala prvenstveno na strpljenju, i ništa manje, za statističku obradu podataka. Zahvaljujem mom suprugu Robertu na pomoći pri obradi podataka i slika. Neizmjerne sam zahvalna mojim „kolegama iz klupe“, dr. sc. Draganu Brniću, dr. sc. Marini Mikulić i Mariji Sedak s kojima sam djelila uspone i padove tijekom doktorskog studija i razmjenjivala iskustva. Doc. dr. sc. Jelki Pleadin zahvaljujem na „pravim pitanjima u pravo vrijeme“, podršci i savjetima koji su olakšali cijeli ovaj put. Neizmjerne zahvaljujem djelatnicima Laboratorija za mikrobiologiju hrane za životinje, prvenstveno Ruži Klarić na bezuvjetnoj podršci i bodrenju od prvog dana rada na HVI-u. Najljepše hvala svim djelatnicima Hrvatskog veterinarskog instituta koji su znali uputiti riječi podrške u pravom trenutku.

Mojim roditeljima, sestri, obitelji i prijateljima neizmjerne sam zahvalna na podršci te iako nikada nisu razumjeli histologiju kostiju, pokušali su razumjeti mene.

Robertu, Benjaminu i Lani neizmjerne, veliko hvala što pokreću moj ringišpil.....

# SAŽETAK

## POSTNATALNA DIFERENCIJACIJA KOŠTANOGA TKIVA DOBROGA DUPINA (*Tursiops truncatus*)

Postnatalni razvoj koštanog tkiva i histološka građa kostiju recentnih kitova nisu u potpunosti razjašnjeni. Kao model istraživanja dinamike osteogeneze i histomorfoloških mjerenja u recentnih kitova u ovom istraživanju proučena su rebra i nadlaktične kosti 105 dobroga dupina (*Tursiops truncatus*). Na koštanim izbruscima rebara i nadlaktičnih kostiju određeni su odnos kompakte i spongioze rebara, površine primarnih i sekundarnih osteona, broj primarnih i sekundarnih osteona te osteona u pregradnji, broj koštanih lamela u primarnim i sekundarnim osteonima te oblik osteocitnih lakuna. Izbrusci kostiju analizirani su pomoću svjetlosnog mikroskopa sa standardnim i polariziranim svjetlom. Ovim istraživanjem utvrđeno je da koštano tkivo dobroga dupina prolazi izrazite dinamične promjene. Površina kompakte u rebro se smanjuje nauštrb spongioze do 7. godine starosti, da bi starenjem došlo do povećanja udjela površine kompakte na 76%, dok se udio spongioze smanjuje na 24%. Ovakva građa rebara kod adultnih jedinki upućuje na zaštitnu funkciju rebara za organe prsne šupljine prilikom dubokih zarona, a manje kompaktna građa nadlaktične kosti sudjeluje u smanjenju uzgona prilikom ronjenja na većim dubinama. Ujedno, gustoća sekundarnih osteona u rebro ( $20,73/\text{mm}^2$ ) je veća nego u nadlaktičnoj kosti ( $13,3/\text{mm}^2$ ) što ukazuje na veću kompaktnost rebara. Osteocitne lakune dobroga dupina elipsoidnog su oblika s dugačkim kanalikulima koji radijalno izlaze iz lakune i nalikuju onima u preživača, a dobro se razlikuju od lakuna ptica i svinja. Opisi mikroskopskih struktura kostiju kroz dobne skupine dobroga dupina prvi su ovakav prikaz za morske sisavce, koji će naći primjenu u determinaciji vrsta, ekologiji i paleobiologiji i veterini u smislu kontrole sadržaja krmiva i krmnih smjesa za hranidbu životinja na prisudstvo prerađenih animalnih proteina.

**Ključne riječi:** kitovi, dobro dupin (*Tursiops truncatus*), kompakta, spongioza, rebro, nadlaktična kost, osteon, osteocitna lakuna

# EXTENDED ABSTRACT

## POSTNATAL DIFFERENTIATION OF BONE TISSUE IN THE BOTTLENOSE DOLPHIN (*Tursiops truncatus*)

### INTRODUCTION

Previous research on the development and structure of the bones of aquatic mammals has been conducted mainly on fossil bones. They were used for the study of growth dynamics and paleoecology. The development of bone tissue and bone histology of recent whales is still unexplored. In the present research the bones of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) were used to study postnatal bone development and their histomorphometric characteristics. The bottlenose dolphin is the only whale that lives in the Adriatic Sea and has been legally protected in Croatia since 1995.

### MATERIALS AND METHODS

For the purpose of this study bone sections of the right humerus and the 5<sup>th</sup> right rib originating from 105 bottlenose dolphins of all ages were used. The bone sections were used for the histomorphometry and the determination of the intensity and dynamics of bone growth based on the relationship between the thickness of the cortical and cancellous bone parts, the area of the primary and secondary osteon, the number of lamella in the primary and secondary osteon and the features of the osteocytes lacunae. The bone sections were studied with a compound microscope with standard and polarized light. The data were processed in terms of the correlation between the individual parameters by using the statistical software STATA 10.

### RESULTS

The rib of a newborn bottlenose dolphin consists of a thick compact bone tissue area, that reduces until 7 years of age. After this age the thickness of compact bone tissue in rib increases again. The density of primary osteon decreases with the increasing age of the dolphin while the density of secondary osteon and osteon in remodelling increases

with age in the humerus and ribs. Osteon density in the ribs is greater than in the humerus. Secondary osteons in the ribs and in the humerus have a larger area in females than in males. The number of lamellae in the secondary osteon is greater than the number of lamellae in the primary osteon. Osteocyt lacunae are oval-shaped with a long not dense canalicules

## CONCLUSION

This study represents the first morphological and morphometrical description of the microstructure of bones such as osteon, lamella and osteocytes lacunae in a cetacean species from a dolphin's birth to its old ages. The bottlenose dolphin ribs are more compact in structure than the humerus, because of their protective function for thoracic organs. On the other hand, the more cancellous structure of the humerus is supporting the balancing function of the pectoral flippers. This detailed description of bottlenose dolphin bone structures can be applied in species determination, ecology, paleobiology and veterinary medicine.



# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA.....	4
2.1. Biologija dobrog dupina .....	5
2.2. Građa kosti sisavaca .....	6
2.2.1. Makrostruktura kostiju.....	7
2.2.2. Mikrostruktura kostiju .....	8
2.2.2.1. Vrste koštanog tkiva.....	9
2.3. Značajke građe kostiju morskih sisavaca .....	15
3. OBRAZLOŽENJE TEME.....	20
4. MATERIJALI I METODE.....	22
4.1. Materijali .....	23
4.2. Metode.....	28
4.2.1. Udio kompakte i spongioze na presjeku rebra.....	28
4.2.2. Gustoća osteona, promjeri primarnih i sekundarnih osteona, broj lamela u osteonima .....	29
4.2.3. Veličina i oblik lakuna .....	30
4.2.4. Statistička obrada .....	34
5. REZULTATI .....	35
5.1. Mikroskopski prikaz razvoja koštanog tkiva u nadlaktičnoj kosti i rebru dobrog dupina .....	36
5.1.1. Mikroskopski prikaz razvoja koštanog tkiva nadlaktične kosti po dobi i spolu.....	37
5.1.2. Mikroskopski prikaz razvoja koštanog tkiva rebra dobrog dupina po dobi i spolu.....	47
5.2. Histomorfometrijska mjerenja rebra i nadlaktične kosti dobrog dupina .....	57
5.2.1. Rezultati mjerenja koštane površine kompakte i spongioze rebra .....	57

5.2.2. Rezultati mjerenja površine osteona, broja lamela i gustoće osteona .....	64
5.2.3. Opisi lakuna i rezultati mjerenja.....	73
6. RASPRAVA.....	76
6.1. Odnos kompakte i spongioze u nadlaktičnoj kosti i rebru.....	77
6.2. Površine osteona, broj osteona, broj lamela u osteonima.....	79
6.3. Lakune .....	85
7. ZAKLJUČCI .....	88
8. POPIS LITERATURE.....	91
9. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH ZNANSTVENIH RADOVA .....	105

# **1. UVOD**

Dobrog dupina (*Tursiops truncatus*) iz porodice kitova (Cetacea) prvi puta je opisao Montagu 1821 godine. Ovog dupina često se viđa uz obale mora te je stoga, ali i zbog zastupljenosti u dupinarijima, zoološkim vrtovima i medijim, najpoznatija vrsta dupina (JEFFERSON i sur. 1993). Dobri dupin jedini je kit za kojeg se može tvrditi da danas nastanjuje Jadransko more (GOMERČIĆ i HUBER, 1989.; NOTARBARTOLO DI SCIARA i BEARZI, 1992.; GOMERČIĆ i sur. 1998.a; BEARZI i sur. 2000.). S obzirom na stanište u kojem obitava dobri dupin dolazi u dva oblika: priobalni i pučinski (LEATHERWOOD i REEVES, 1983.; BAIRD i sur. 1993.; JEFFERSON i sur., 1993.; RICE, 1998.). BEARZI (2005.) navodi da se dobrog dupina osim u priobalju može naći i u ušćima rijeka pa čak i do pola kilometara u unutrašnjosti. Za razliku od priobalnog dobrog dupina, pučinski dobri dupin živi u većim skupinama, veće je tjelesne građe te živi u otvorenom moru (REEVES i sur., 2002.). Lov dobrog dupina u prehrambene i ekonomske svrhe zabilježen je u području Srednj i Južne Amerike, Azije i Južne Afrike (CULIK, 2004.). Široka rasprostranjenost u svjetskim morima te mogućnost prilagodbe na različite životne uvjete čini ovu vrstu indikatorom ekološkog zagađenja priobalnog i morskog ekosustava teškim metalima (BILANDŽIĆ i sur., 2012.) i pesticidima (LAHVIS i sur., 1995.).

Zakonska zaštita kitova proglašena je u velikom broju država svijeta, a od 1995. godine sve vrste kitova zaštićeni su u Republici Hrvatskoj Zakonom o zaštiti prirode (NARODNE NOVINE, 70/2005., 139/2008., 57/2011.) kojim se zabranjuje hvatanje, držanje, rastjerivanje i ubijanje ove životinjske vrste. Osim ovim zakonom kitovi su zaštićeni i Pravilnikom o zaštiti pojedinih vrsta sisavaca (Mammalia) (NARODNE NOVINE, 31/1995.), Pravilnikom o proglašavanju divljih svojti zaštićenim i strogo zaštićenim (NARODNE NOVINE, 99/2009.) i Sporazumom o zaštiti kitova (Cetacea) u Crnom moru, Sredozemnom moru i susjednom atlantskom području (Agreement on the conservation of cetaceans of the Black Sea and contiguous Atlantic area – ACCOBAMS) (MEĐUNARODNI UGOVORI, 6/2000.).

U posljednjih dvadeset godina provode se sustavna istraživanja populacije dobrog dupina u Jadranskom moru. Prema tim istraživanjima procijenjuje se da u hrvatskom djelu Jadranskog mora živi 218 jedinki dobrog dupina, od toga 202 adultne i 16 juvenilne životinje, razvrstane u 40 jata u zimskom razdoblju (GOMERČIĆ i sur., 1998.b). Prosječna veličina jata kreće se od 4,7 dupina u zadarskom području (ĐURAS

GOMERČIĆ i sur., 2003., SELETKOVIĆ i sur. 2012.) do 6,4 jedinke u Kvarneriću (BEARZI i sur., 1993.). Zastupljenost dobrih dupina u priobalnom moru hrvatskog djela Jadranskog mora je 10,75 jedinki /km<sup>2</sup>, a u otvorenom moru 3,3 jedinke /km<sup>2</sup> (GOMERČIĆ i sur., 1998.b).

Kosti kitova i morskih krava, ali i perajara (Ordo: Carnivora, Subordo: Pinnipedia) koji uz vodena koriste i kopnena staništa, doživjele su promjene u građi koje su makroskopski i mikroskopski vidljive. Razvoj koštanog tkiva i njegova histološka građa u dobrog dupina, posebice s aspekta postnatalnog razvoja i histologije koštanog tkiva, do sada nisu istraženi. Pretpostavlja se da i u dobrog dupina dolazi do promjena unutar građe kostiju kao što je to opisano u ostalih vrsta kitova. Na temelju histomorfoloških analiza uzoraka raznih dobnih skupina opisan će biti postnatalni razvoj koštanog tkiva dobrog dupina. Dodatni cilj ovog rada je detaljan mikroskopski opis koštanog tkiva dobrog dupina. Mjerenja i morfološki opis osteona, važne morfološke jedinice koštanog tkiva, biti će prvi detaljan opis ovih mikrostrukture u dobrog dupina i kitova općenito.

## **2.PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA**

## 2.1 Biologija dobrog dupina

Dobri dupin (*Tursiops truncatus*) pripada porodici Delphinidae iz podreda kitova zubana (Odontoceti), a BRUSINA (1889.), hrvatski zoolog, zabilježio je da hrvatski naziv potječe od njegove dobroćudnosti koju pokazuje prema ribarima tjerajući im ribe u mrežu.

Dobri dupin ima robusnu glavu, a iza glave nastavlja se kratki vrat i započinje trup valjkastog oblika. Leđna peraja je položena na sredini leđa, oblik joj može varirati, a nedostaje u nekih populacija koje žive u polarnom području (LEATHERWOOD i sur., 1988.). Prsni udovi preoblikovani su u prsne peraje koje su srednje veličine i šiljato distalno završavaju. Vodoravna repna peraja i cijelo repno područje koje je lateralno spljošteno, čini glavni pokretač tijela. Dobri dupin je tamno sivi na leđima, lateralno na trupu je svijetlo sive boje, a na trбуhu je bijele ili blago ružičast da bi na području trбуha prešla u bijelu ili blago ružičastu. Po tijelu može imati točke, a mogu biti i potpuno jednoboјni, crni, bijeli ili smeđi (LEATHERWOOD i REEVES, 1983.). Tjelesna masa dobrih dupina Jadranskog mora u prosjeku iznosi 219 kg za odrasle ženke i 259 kg za odrasle mužjake. Prosječna duljina za odrasle ženke je 278 cm, a za odrasle mužjake 298 cm (ĐURAS GOMERČIĆ, 2006.).

Zubalo dobrog dupina je homodontno bez generacije mliječnih zuba (GREEN; 1972.). Zubna formula iznosi 20-20/20-20 do 25-25/25-25 (BRUSINA, 1889.). Oblik zubiju je stožast i šiljast (LEATHERWOOD i sur., 1988.; ELLIS, 1996.), dužine 4 do 5 cm, promjera 10 mm (NISHIWAKI, 1972.). Sa starošću zubi se potroše i otupe (ELLIS, 1996.), te se prema istrošenosti zubiju može utvrditi životni vijek koji može doseći i 40 godina (COCKCROFT i ROSS, 1990.).

Kralježnična formula dobrog dupina je  $C7+T13-14+L15+S0+Ca29-30$  (NISHIWAKI, 1972.).

Reprodukcija je sezonalna i u ovisnosti s uvjetima okoliša (URIAN i sur., 1996.). Graviditet traje 12 mjeseci, a laktacija 18 mjeseci do 2 godine (COCKCROFT i ROSS, 1990.). Kao hrana dobrim dupinima služe različite vrste riba i beskralježnjaka. U priobalnim područjima dobri dupini hrane se ribom ulovljenom u mrežama, odbačenom s ribarskih brodova ili onom raspršenom djelovanjem turbina i mrežam s ribarskih brodova (LEATHERWOOD i REEVES, 1983., BIANCO i sur., 2001.). Zbog lova

dobri dupin često se udružuje u veće skupine i s ostalim vrstama kitova (CONNOR i sur., 1998.).

Dobri dupin nastanjuje sva mora svijeta osim u mora polarnog područja (LEATHERWOOD i REEVES, 1983.), a zapisi o njegovom životu u Sredozemnom moru postoje još od starih Grka i Rimljana (REEVES i sur., 2002.). Dobri dupin prema nekim autorima (LEATHERWOOD i REEVES, 1983.; BAIRD i sur. 1993.; JEFFERSON i sur., 1993.; RICE, 1998.) dolazi u dva oblika, pučinski i priobalni. U zadnjih dvadesetak godina provedena su brojna istraživanja koja su izučavala raznolikosti u genskoj struktura među populacijama iste vrste ali različitih staništa (QUEROUIL i sur., 2007.).

## **2.2 Građa kosti sisavaca**

Koštani sustav ima više uloga u organizmu. Prvenstveno služi za prihvaćanje mišića i ligamenata te tako omogućuje kretanje, zatim štiti organe središnjeg živčanog sustava i vitalne organe prsne šupljine, a srž koja se nalazi u koštanim šupljinama kosti je hematopoezni organ. Koštano tkivo stalno se mijenja kako bi prilagodilo svoj oblik i građu zahtjevima organizma. Od rođenja do smrti organizam modelira koštano tkivo stvarajući novo koštano tkivo i resorbirajući staro, već postojeće. Druga velika uloga kostiju u organizmu je izvor minerala, posebno kalcija koji je potreban za održavanje homeostaze tako što regulira koncentraciju ključnih elektrolita krvi uključujući kalcij, vodik i hidrogenfosfatov anion. Koštano tkivo se po svojoj izuzetnoj čvrstoći razlikuje od ostalih vezivnih tkiva zbog svoje tvrdoće i čvrstoće. Ove osobitosti posljedica su deponiranja apatita i hidroksiapatita u kolagenski kostur koštanog tkiva. Jedinstveno je po tome što ostala vezivna tkiva rastu „iz unutra“ (interstitially), dok kost raste samo dodavanjem tkiva na površinske stanice. Kost ne cijeli ožiljkom te je to još jedna razlika od ostalih vezivnih tkiva. (MARTIN, 1998.)

Građa kostiju može se promatrati na nekoliko razina. Hijerarhijska struktura kostiju sastoji se od makrostrukture (kompakta i spongioza), mikrostrukture (osteoni, Haversovi kanali i lamele), nanostrukture (kolagenska vlakna sastavljena od kolagenskih niti) i sub-nanostrukture (mineralni kostiju, molekule kolagena i ne kolagenski proteini) (RHO i sur., 1998.).



### 2.2.1. Makrostruktura kostiju

Prema makroskopskoj građi, kosti se dijele na: duge kosti, kratke kosti, plosnate kosti, pneumatizirane kosti i nepravilne kosti. Duge kosti karakterizira trup kosti (dijafiza) kojeg izvana obavija kompaktno koštano tkivo. Unutar trupa kosti nalazi se sržna šupljina. Duge kosti imaju proksimalni i distalni okrajak (epifize), koje izvana prekriva tanka koštana kora. Oba okrajka kosti građena su od spongioznog koštanog tkiva. Duge kosti tipične su za udove. Kratke kosti variraju znatno oblikom, mogu biti valjkaste, kockaste ili okrugle. Građene su od spongioznog koštanog tkiva koje je ispunjeno hemoretikularnim tkivom. Kratke kosti su kosti kralježnice, karpusa i tarzusa. Plosnate kosti sastoje se od dvije ploče kompaktnog koštanog tkiva između kojih se nalazi spužvasto koštano tkivo. U ovu skupinu ubrajaju se lopatica, crijevna kost i rebra te neke kosti lubanje. Pojedine kosti lubanje ubarajaju se u pneumatizirane kosti. Nepravilne kosti nepravilnog su oblika, npr klinasta kost na bazi lubanje. Sezamoidne kosti leže u blizini zglobova ili u tetivama ili ispod tetiva (npr. Patela). (KÖNIG i LIEBICH, 2009.)

Makroskopski na kosti jasno se razlikuju dva oblika koštanog tkiva. Kompaktno koštano tkivo (kompakta), sastavljeno od koštanih lamela te spongiozno koštano tkivo (spongioza) koje je organizirano u mrežu koštanih gredica, trabekula. Trabekule zatvaraju male komorice ispunjene koštanom srži. Koštana gredica (trabekula) je štapićastog ili pločastog izgleda, debljine 200  $\mu\text{m}$  i 1000  $\mu\text{m}$  (1mm) duljine (JEE, 1983.). Svaka se koštana gredica sastoji od osteocita smještenih u lakunama okruženim nepravilnim koštanim lamelama. Samo se na nekim mjestima mogu naći tipični osteoni s Haversovim lamelama. Za razliku od kompakte trabekule spongioze nemaju centralni kanal s krvnim žilama i živcima.

Između kompakte i spongioze nema oštre, dobro vidljive granice. Debljina kompakte i spongioze u pojedinim kostima ovisi o mehaničkim silama koje utječu na kost. Kvantitativni odnosi debljine kompakte i spongioze dobro su vidljivi na dugim kostima udova sisavaca. U dugim, cjevastim kostima spongioza ispunjava epifize kostiju dok se kompakta nadovezuje na spongiozu u tankom sloju. Kompakta gradi dijafizu kostiju, koja oblikuje cijev čija je šupljina prostrana i ispunjena koštanom srži (BLOOM i FAWCET, 1975.). Na površini većine kostiju nalazi se tanki sloj pokosnice (periosta).

Periost se sastoji od dva sloja: unutarnjeg koji naliže na kost i ima osteogenetičko svojstvo, te vanjski sloj kojeg grade nepravilno raspoređena kolagena vlakna i krvne žile. Periost ne pokriva dijelove kosti koji su pokriveni zglobnim hrskavicama i mjesta gdje se prihvaćaju tetive i ligamenti (DELLMAN, 2006.).

Stvarna razlika u građu kompakte i spongioze leži u njihovoj mikrostrukturnoj građi. Mikrostruktura spongioze građena je od nepravilnih, krivudavih lamela, dok je kompakta građena od pravilnih, cilindričnih lamela. Zbog svoje nepravilne, poroznije građe, spongioza je podložnija vanjskim utjecajima te je metabolički aktivnija od kompakte (RHO i sur., 1998.).

### **2.2.2. Mikrostruktura kostiju**

Koštano tkivo se sastoji od staničnih elemenata i koštanog matriksa. Stanični elementi su: matične koštane stanice, osteoblasti, osteociti i osteoklasti. Matične koštane stanice su stanice s velikom sposobnošću diobe i diferencijacije u druge koštane stanice. Nalaze se na površini kostiju, unutarnjim dijelovima periosta, endostu i oko i u krvožilnim kanalima kompakte. Među matičnim stanicama razlikuju se dva tipa: preosteoblasti iz kojih nastaju osteoblasti i preosteoklasti iz kojih nastaju osteoklasti. Osteoblasti su stanice zadužene za stvaranje koštanog matriksa. Uloga osteoblasta je sinteza kolagena i amorfnih međustaničnih tvari. Osteocitima nazivamo neaktivnu formu osteoblasta. Nakon svoje aktivnosti osteoblasti ostaju okruženi koštanim tkivom u malom prostoru, lakunama. Oblik lakuna je različit, oko mladih osteocita lakuna je okrugla, u starijih je izdužena. Osteociti se ne dijele pa se u svakoj lakuni nalazi samo jedna stanica. Na površini osteocita nalaze se dugački citoplazmatski završeci koji kroz kanaliće u koštanom tkivu (kanalikuli) međusobno povezuju susjedne stanice. Kroz kanalikule prolazi intersticijalna tekućina i metaboliti iz žilnog sustava. Osteoklasti su velike stanice čija je primarna uloga razgradnja koštanog tkiva prilikom pregradnje kosti. Osteoklasti izlučuju organske kiseline koje otope koštane minerale i snize pH u kiselo područje, što pogoduje aktivnosti lizosomalnih enzima koji potom razgrade organski koštani matriks. (KOZARIĆ, 1997.)

Koštani matriks sastoji se kolagenskih vlakana, amforne osnovne tvari i velike količine anorganskih soli. Kolagenska vlakna građena su od kolagena tipa I i razmještena u

obliku debelih koncentričnih slojeva oko središta osteona. Anorganska komponenta građena je od kalcijevog fosfata u obliku hidroksiapatita, kalcijeva karbonata i natrija. Kristali hidroksiapatita tvore osnovni oblik minerala u koštanom matriksu. Amorfna osnovna tvar građena je od sijeloproteina, fosfoproteina, kiselih proteina i male količine sulfatnih polisaharida. (HENRIKSON i sur., 1997.)

### **2.2.2.1 Vrste koštanog tkiva**

U viših kralježnjaka koštano tkivo dolazi u dva oblika, kao valovito koštano tkivo i lamelarno koštano tkivo.

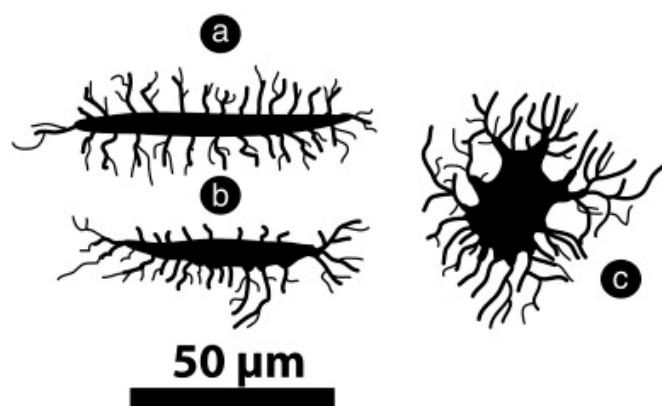
Valovito koštano tkivo nezreli je oblik koštanog tkiva. Sadrži mnogo okruglih osteocita smještenih u lakunama koje su u kosti razmještene bez nekog reda i okružene nepravilno razmještenim debelim snopovima kolagenskih vlakana, pa zbog toga taj oblik koštanog tkiva ne pokazuje pravilnu dvolomnost u polariziranom svijetlu. Valovito tkivo je primarni oblik kosti koji se stvara u osifikacijskim centrima ploda kao i u primarnoj spongiozi odraslih životinja. Prilikom zarastanja prijeloma kosti primarni kalus je građen od valovitog koštanog tkiva. Valovito koštano tkivo dolazi u mladim životinjama i karakteristično je za brzorastuće životinje. (KOZARIĆ, 1997.)

Jedno od podvrsta valovitog koštanog tkiva je laminarno koštano tkivo. Laminarno koštano tkivo ubraja se također u nezrela koštana tkiva, a nastaje kad rast kostiju nije kontinuiran već se zbiva različitim intenzitetom. Stvaranje laminarne kosti počinje urastanjem nizova krvnih žila s endostalne strane kompaktne kosti u primarno valovito koštano tkivo. Oko krvnih žila aktivnošću osteoblasta potom se stvara koštano tkivo primarnih osteona. Urastanjem slijedećeg niza krvnih žila isti postupak se ponavlja, ali između pojedinih nizova primarnih osteona uvijek ostane sloj valovitog koštanog tkiva. Na taj način kompakta poprima laminaran izgled, gdje se izmjenjuju slojevi valovitog i lamelnog koštanog tkiva (MARTIN, 1998.; MORI i sur., 2003.).

Lamelarno koštano tkivo zreli je oblik koštanog tkiva i dolazi u većini kostiju odraslih životinja. Vezivnotkivni matriks dolazi u obliku slojeva mineraliziranih kolagenskih vlakana. U susjednim slojevima kolagenska vlakna se križaju pod kutom tako da se u polariziranom svijetlu opaža pravilna dvolomnost (KOZARIĆ, 1997.). Osteocitne lakune i osteociti plosnati su i raspoređeni u paralelne nizove između koštanih lamela.

Raspored pojedinih elementa u formiranome koštanom tkivu rezultat je djelovanja sila tlaka i vlaka na cijelu ili dio kosti, s jedne strane, a s druge strane, ovisan je o razmještaju krvožilne mreže (ENLOW, 1963.).

Kompaktna kost građena je od osteona, osnovne funkcionalno-morfološke jedinice, kojeg čine 5-20 koncentrično razmještenih lamela oko središnjeg Haversova kanala u kojem se nalaze krvne žile i živci. Između lamela nalaze se lakune. Lakune su prostori u koštanom tkivu u kojima se nalaze osteociti. Oblik lakuna je različit s obzirom od kojeg dijela kosti uzorak potječe. O toj razlici govore CANE i sur. (1982.), PAWLICKI (1985.) i CADENA i SCHWEITZER (2012.). Oni razlikuju tri oblika lakuna i nazivaju ih elipsoidne, izduženo elipsoidne i zvjezdaste (slika 1).

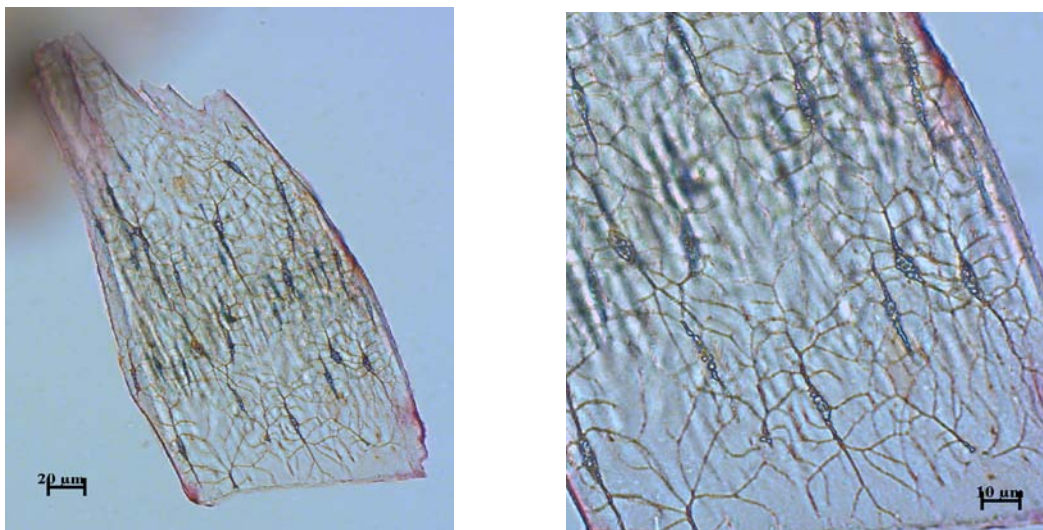


**Slika 1.** Oblici lakuna: a) izduženi elipsoidni oblik; b) elipsoidni oblik; c) zvjezdasti oblik (CADENA i SCHWEITZER, 2012.)

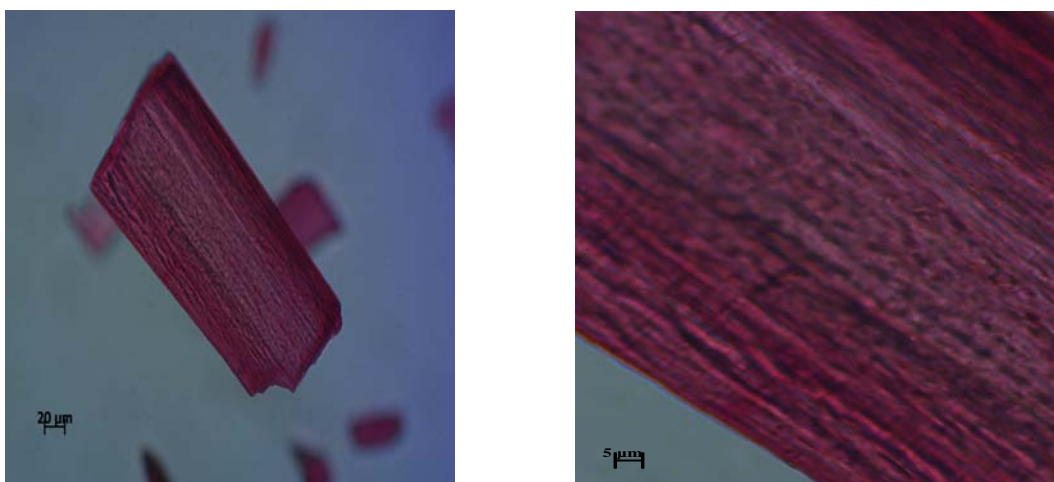
Zvjezdaste lakune nalaze se većinom u valovitom koštanom tkivu. Elipsoidne lakune nalazimo u međulamelarnom prostoru lamelarnog koštanog tkiva, a izdužene elipsoidne lakune u lamelama osteona. Izdužene elipsoidne lakune prevladavaju u kostima starijih životinja koje imaju formirano lamelarno koštano tkivo.

Osim ove podjele prema obliku lakuna, razlika postoji i u gustoći lakuna u koštanom tkivu (ARDIZZONI, 2001.; SKEDROS i sur., 2011.). Oblik i gustoća te raspored kanalikula svojstven je klasifikacijskom razredu kojima životinje pripadaju, premda je i između nekih razreda životinja samo prema obliku i gustoći lakuna teško odrediti razliku. Oblik lakuna nije povezan s vodenim ili kopnenim staništem u kojima životinje žive (CAO i sur., 2011.). Na slikama od 2 do 6 prikazani su fragmenti kostiju životinjskih vrsta koji se najčešće nalaze u mesno koštanom brašnu. Prikazane slike

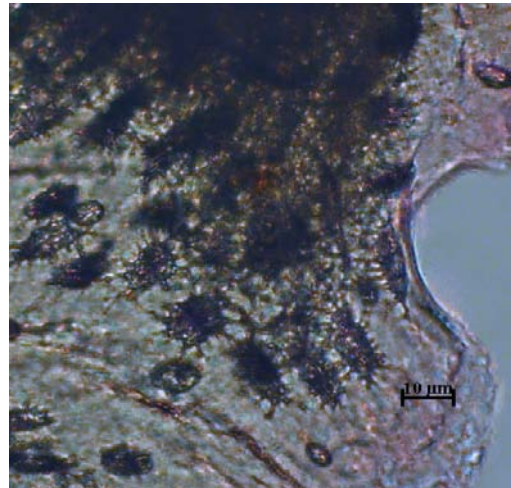
služe kao referentni materijali za mikroskopsku analizu krmiva i krmnih smjesa u Laboratoriju za mikrobiologiju hrane za životinje pri Hrvatskom veterinarskom institutu i do sada nisu nigdje objavljeni.



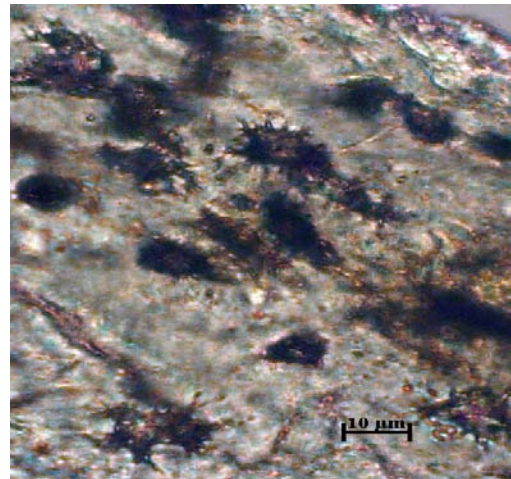
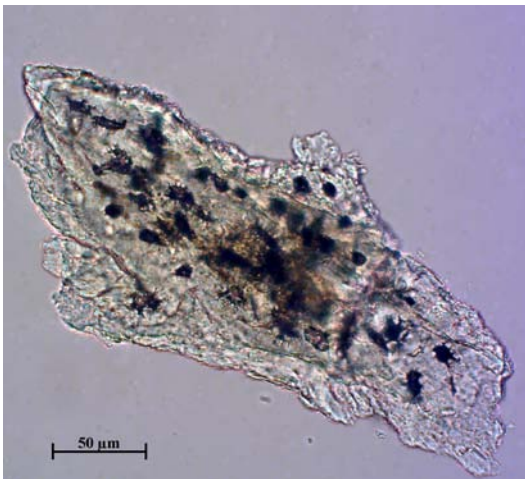
**Slika 2.** Fragment stanične kosti ribe (obojena alizarinskim crvenilom)



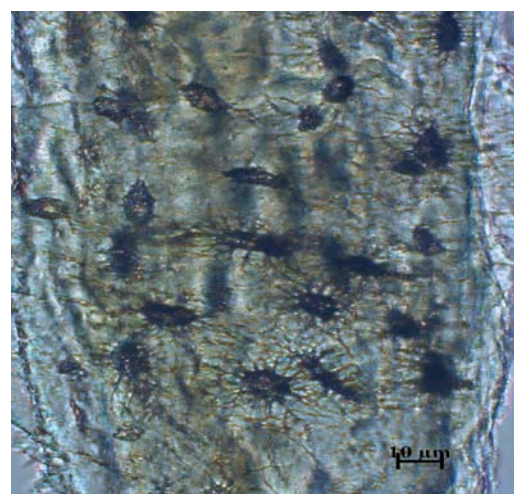
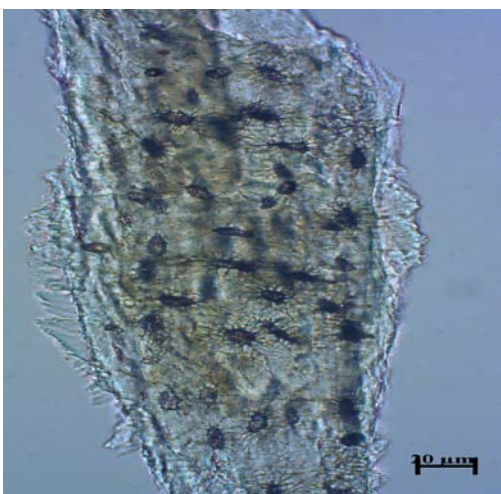
**Slika 3.** Fragment nestanične kosti ribe (obojena alizarinskim crvenilom)



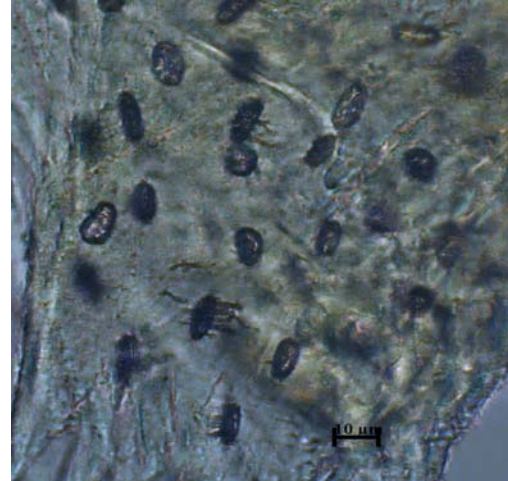
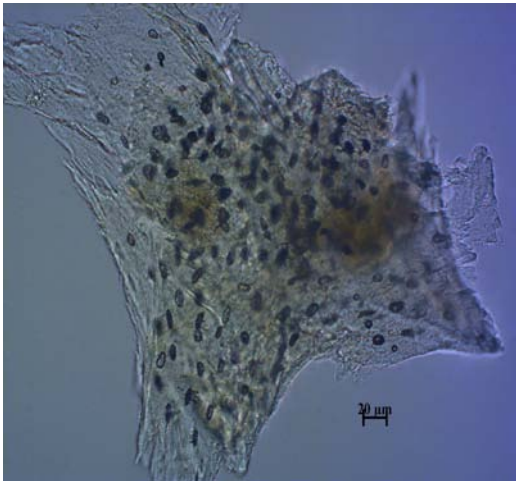
**Slika 4.** Fragment kosti peradi



**Slika 5.** Fragment kosti svinje



**Slika 6.** Fragment kosti goveda



**Slika 7.** Fragment kosti ovce

Najveća razlika u morfologiji lakuna uočena je između morfologije lakuna riba, sisavaca i ptica. Oblik lakune riba ovisi o vrsti riba, tj da li imaju stanični ili nestanični oblik kosti (HORTON i SUMMERS., 2009.). Nestanične kosti (slika 3.) nemaju tipične lakune već one djeluju kao podužno izcrtane linije na kosti bez kanalikula. Stanične kosti (slika 2.) imaju izrazito izdužene, vretenaste lakune s dugačkim kanalikulima (GIZZI i sur., 2003.). DOMENIS i sur. (2009.) lakune peradi opisuju kao gusto raspoređene, lećaste i s kanalikulima koji se teško uočavaju (slika 4.). Za razliku od ptica, kosti kopnenih sisavaca imaju eliptično-globularne lakune s relativno dobro vidljivim kanalikulima (slike 6 i 7). Od ovog opisa odstupaju kosti svinja (slika 5), jer su lakune više okruglog oblika i gušće raspoređene, te stoga vrlo nalikuju onima u kostima peradi (ARIES, 2004.).

Mnogobrojnim istraživanjima građe kostiju, od dinosaura (ROSENBERGER i WATABE, 2000.), riba i gmazova (CAO i sur. 2011; CADENA i sur., 2012.), ptica (DOMENIS i sur., 2009.) do sisavaca, uključujući i čovjeka, (CANE i sur. 1982.; ARDIZZONI 2001.; MORI i sur. 2005.; MARTINIAKOVA i sur. 2006.b, MARTINIAKOVA i sur. 2007.) uočena je zamjetna razlika u veličini i obliku mikrostruktura kompakte te su se ta saznanja počela koristiti u razlikovanju različitih vrsta (MARTINIAKOVA i sur., 2006.a; GREENLEE i DUNELL 2010.).

Haversovi kanali (slika 8.) paralelni su s površinom kosti, a krvne su žile u njima u kontaktu s koštanom srži i periostom. Susjedni Haversovi kanali spojeni su poprečnim kanalima koji se nazivaju Volkmanovi kanali. Volkmanovi kanali također sadrže krvne

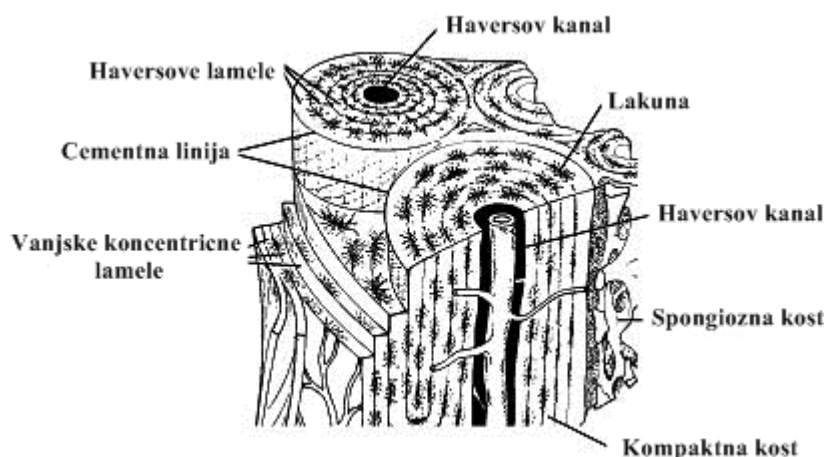
žile kojima se krvožilna opskrba Haversovih kanala spaja s koštanom srži i s periostom, ali nisu okruženi koncentričnim lamelama koštanog tkiva. Građa kompakte kosti rezultat je niza promjena koje uključuju formiranje primarnih osteona i njihovu pregradnju u sekundarne osteone. Primarni osteoni su male cilindrične tvorbe građene od krvne žile koja je okružena slojevima koštanog tkiva, a formiraju se na periostalnoj površini kosti. Primarni osteoni nastaju tako da na periostalnoj površini krvnu žilu okruži koštani matriks koji oko nje oblikuje nekoliko slojeva koštanog tkiva nejasno ograničenog od okolnog koštanog tkiva. (KOZARIĆ, 1997)

Sekundarni osteoni slični su po svojem izgledu primarnim osteonima, ali su mnogo veći i jasno ograničeni cementnom linijom. Promjer sekundarnih osteona kreće se od 200 do 300  $\mu\text{m}$  (MARTIN i sur. 1998.).

Pretvorba primarnih u sekundarne osteone složeni je proces koji uključuje aktivnost osteoklasta i osteoblasta. Aktivnošću osteoklasta koji se nalaze u središnjem kanalu primarnog osteona razgrađuje se sloj po sloj koštanog tkiva primarnog osteona, tako da na njegovu mjestu nastane resorptivna šupljina. Granicu resorptivne šupljine čini cementna (granična linija). U resorptivnoj šupljini nalazi se krvne žila i mnoštvo osteoblasta koji, počevši od granične linije naslojavaju sloj po sloj novog koštanog tkiva. Kada se cijela šupljina popuni slojevima koštanog tkiva u središnjem dijelu ostaje koštani kanal s krvnom žilom. (ENLOW, 1962.).

U kompaktnoj kosti nalaze se četiri vrste lamela. Lamelle koje se nalaze oko Haversova kanala (Haversove lamelle), lamelle na unutrašnjoj površini kosti iznad endosta (unutrašnje koncentrične lamelle) i lamelle na vanjskoj površini kosti, neposredno ispod periosta (vanjske koncentrične lamelle) (slika 8.). Četvrti tip lamela nalazi se u prostorima između osteona i rezultat su razgradnje i pregradnje starih Haversovih lamela (intersticijalne ili mađulamele). (KOZARIĆ, 1997.)





**Slika 8.** Građa lamelarne kosti. Obradeno.

([http://www.ufrgs.br/imunovet/molecular\\_immunology/muscles.html](http://www.ufrgs.br/imunovet/molecular_immunology/muscles.html))

### 2.3 Značajke građe kostiju morskih sisavaca

Građa kostiju morskih sisavaca ima svoje specifičnosti. Neka stanja koja se kod kopnenih sisavaca smatraju patološkim stanjima u morskih sisavaca su fiziološki nalaz. U tablici 1 opisani su osnovni pojmovi koji se koriste pri opisu građe kostiju morskih sisavaca.

**Tablica 1.** Osnovna terminologija pojmova vezanih uz građu kosti morskih sisavaca (GRAY i sur., 2007.)

Stanje	Opis
Osteopenija	Prorjeđivanje kompakte kostiju, smanjenje broja trabekula i općenito gubitak koštane strukture.
Osteoporozna	Težak oblik osteopenije, uzrokovan intenzivnom aktivnošću osteoklasta.
Pahiostoza	Izuzetno guste ili masivne kosti. Histološki: proširenje kompaktnog sloja kostiju prema van i izražen debeo kortikalni dio kosti naspram spongioze i koštane šupljine. Anatomske: općenito šire i deblje kost od uobičajnih dugih kostiju.
Hiperosteozna	Neuobičajno velika širina sloja koštanog tkiva koji može biti kompaktni ili spongiozni.

Osteopetroza	Hipermineralizirana kost. Koštana srž se razvija kasnije ili se uopće ne razvije i ponekad se mogu naći ostaci kalcificirane hrskavice. Može nastati kao posljedica jake aktivnosti osteoblasta.
Osteoskleroza	Kost koja nastaje zbog velike količine kalcificirane hrskavice. Ponekad se nalazi uz osteopetrozu. Također se može naći uz pahioostozu u endoskeletu tetrapoda koji su se naknadno prilagodili životu u vodi.

Kitovi (Ordo: Cetacea) i morske krave (Ordo: Sirenia) su životinjske skupine koje su se razvile iz kopnenih sisavaca, a danas cijeli svoj život provode isključivo u vodenom staništu. Kostri kitova i morskih krava, ali i perajara (Ordo: Carnivora, Subordo: Pinnipedia) koji uz vodena koriste i kopnena staništa, doživjele su promjene u građi koje su makroskopski i mikroskopski vidljive. U odnosu na kopnene sisavce kosti vodenih sisavaca su povećane ili smanjene gustoće (WALL, 1983.; de BUFFRÉNIL i MAZIN, 1990.).

Uočeno je da vodeni sisavci koji dio života provode u većim dubinama imaju kosti manje gustoće nego kopneni sisavci (WALL, 1983.; de BUFFRÉNIL i SCHOEVAERET, 1988.; GRAY i sur., 2007.). Takve su kosti malih i srednje velikih kitova zubana (Subordo: Odontoceti), nekih kitova velikih tjelesnih duljina i nekih tuljana (MASS, 2002.). Nasuprot plivačima, morske krave provode statičan život na dubinama do 10 m hraneći se morskim biljem na dnu ili površini, a hidrostatski pritisak svladavaju najvećim dijelom statičkim mehanizmom, tj. većom gustoćom koštanog tkiva. Ovakva gustoća kostiju postignuta je: osteosklerozom, tj. opsežnim okoštavanjem hrskavičnog matriksa, zatim pahioostozom, tj. razvojem osobito debelih i čvrstih kosti zbog povećane gustoće zbitog koštanog tkiva, te redukcijom spongioze i nedostatka sržne šupljine ili kombinacijom obiju (pahioosteoskleroza) (DOMNING i de BUFFRÉNIL, 1991.). U morskih krava je pahioosteoskleroza posebno izražena u grudnom i zatiljnom području (DOMNING i de BUFFRÉNIL, 1991.). Ujedno, velika gustoća koštanog tkiva utvrđena je i u kostima udova morževa i nekih tuljana (MASS, 2002.).

U usporedbi s kopnenim sisavcima i morskim kravama kitovi imaju kosti manje gustoće, no gustoća koštanog tkiva nije jednaka u mladim i odraslim životinja. Promjene u građi kostiju kitova intenzivne su tijekom postnatalnog razvoja. U mladim životinja primarno nastaje kost građena uglavnom od kompaktnog koštanog tkiva, ubrzo slijedi intenzivna erozija i kompaktno koštano tkivo se preoblikuje u spužvasto koštano tkivo. Osnovne značajke kosti kitova su: znatna redukcija kompaktnog koštanog tkiva i gubitak prostranih sržnih šupljina u dijafizama dugih kostiju te povećanja udjela spongioznog koštanog tkiva. Uпитno je je li za ovakvu građu kostiju odgovoran vanjski čimbenik, tj. smanjenje gravitacijskog utjecaja u vodenom mediju, ili je to posljedica specijalne osteogeneze koja je određena unutarnjim čimbenicima, tj. genima (de BUFFRÉNIL i SCHOEVAERT, 1988.). Povećanje spongioznog koštanog tkiva na račun kompaktnog koštanog tkiva nije patološke naravi jer je mikrostruktura takve kosti znatno bolje organizirana nego što je to kod patološki promjenjene, osteoporotične kosti (MASS, 2002.).

Evolucijski razvoj promjena u gustoći koštanog tkiva vodenih sisavaca predmet je više istraživanja (WALL, 1983.; de BUFFRÉNIL i SCHOEVAERT, 1988.; WIFFEN i sur., 1995.; GRAY i sur., 2007.). Dosadašnja istraživanja histološke građe kostiju današnjih vodenih sisavaca upućuju da su se oba oblika kostiju razvila kao posljedica prilagodbe na različite načine dobavljanja hrane (WIFFEN i sur., 1995.; UHEN, 2007.). Prelazak od kopnenog k semiakvatičnom odnosno akvatičnom načinu života postignut je pomoću potpunih promjena na razini mikrostrukture kostiju. Kod najranijih predaka kitova, semiakvatičnih organizama iz porodice Pakicetidae, čiji su ostaci stari oko 50 milijuna godina, uočena je hiperostoza u postkranijalnom djelu kostura. Kasniji preci kitova, koji su provodili više vremena u vodi, ali u plićacima (porodice Ambulocetidae i Protocetidae) imaju pahioosteosklerotičnu građu kostiju koja nije drugačija od one u današnjih morskih krava. Tek u predaka kitova čiji su ostaci stari oko 10 milijuna godina i za koje se smatra da su bili potpuno vodeni organizmi i aktivni lovci u morskim staništima (porodica Basilosauridae, potporodica Zygorhiza), GRAY i suradnici (2007.) uočili su smanjenu gustoću koštanog tkiva karakterističnu za kostur današnjih kitova.

Unutar skupine današnjih kitova prisutne su kosti jedinstvene histološke građe. Poznato je da su pećinasti i bubnjišni dio sljepoočne kosti najtvrdi dijelovi kostura općenito u svih sisavaca, no gustoća koštanog tkiva ovih kostiju posebno je izražena u kitova. Dok u ostalih sisavaca gustoća petroznog i timpaničnog dijela sljepoočne kosti ne prelazi  $2,3 \text{ g/cm}^3$  ona u kitova doseže vrijednosti do čak  $2,7 \text{ g/cm}^3$ . Ove kosti u kitova su izrazito kompaktne a najveću gustoću dosežu već tijekom prvih godina života. Smatra se da je ovakva građa kosti, koje sudjeluju u osjetu sluha, važna zbog poboljšanog prijenosa valova visokih frekvencija i boljeg razlučivanja izvora zvuka (de BUFFRÉNIL i sur., 2004.).

Jedna od najtvrdih kosti unutar tetrapoda je ralo (vomer) kita zubana vrste *Mesoplodon densirostris*. U odraslih mužjaka ralo je prošireno prema dorzalno i zamjenjuje hrskavičnu nosnu pregradu (PITMAN, 2002.). Uzrok velike gustoće koštanog tkiva ove kosti je hipermineralizacija sekundarnih osteona (ZYLBERBERG i sur., 1998.). Smatralo se da ovako građeno ralo doprinosi čvrstoći rostralnog dijela glave i sprečava oštećenja čeljusti prilikom agresivnih obračuna mužjaka, no novija istraživanja upućuju na hidrostatsku ulogu rala čime pomaže u ronjenju na većim dubinama (PITMAN, 2002.).

Između pojedinih vrsta kitova ali i unutar jedne vrste, uočene su razlike u mineralnoj gustoći i mineralnom sadržaju kostiju. Tako je utvrđeno da nadlaktična kost dobrog dupina sadrži više minerala i ima veću mineralnu gustoću od nadlaktične kosti plavobijelog dupina (*Stenella ceruleoalba*), te da se ove vrijednosti mijenjaju s dobi, a razlikuju se i između spolova. Naime, porastom dužine tijela dobrog i plavobijelog dupina raste i mineralna gustoća. Mineralna gustoća manja je u ženki nego u mužjaka (LUCIĆ, 2006.). Periodično taloženje u periostu korišteno je u mnogim istraživanjima sisavaca za određivanje dobi, no njegova je primjena ograničena zbog činjenice da se kosti sisavaca pregrađuju tijekom cijelog života (KLEVEZAL, 1996.). Razvoj koštanog tkiva i njegova histološka građa u dobrog dupina, posebice s aspekta postnatalnog razvoja i histologije koštanog tkiva, do sada nisu istraženi. Pretpostavlja se da i u dobrog dupina dolazi do promjena unutar građe kostiju kao što je to opisano u ostalih vrsta kitova. Prilikom istraživanja građe kostiju nije važno samo opisati odnos spongioze i kompakte i oblik osteona, nego je važan i promjer osteona, broj lamela u

osteonu, raspored lakuna i kanalikula u osteonu te pod kojim su kutem kanalikuli postavljeni naspram lakuna (CHOEN i HARRIS, 1958.). U istraživanju je najbolje primjeniti tehniku koja se temelji na obradi mikroskopskih slika i primjeni statističkih metoda (MARTINIAKOVA i sur., 2007.). Na temelju mikromorfoloških analiza uzoraka kostiju raznih dobnih skupina opisati će se postnatalni razvoj koštanog tkiva dobrog dupina.

### **3. OBRAZLOŽENJE TEME**

Dosadašnja istraživanja razvoja i građe kostiju akvatičkih sisavaca provedena su u najvećoj mjeri na fosilnim ostacima kostiju u svrhu identifikacije vrste, utvrđivanja dinamike rasta životinje i paleoekoloških uvjeta u kojima je životinja živjela. Razvoj koštanog tkiva i njegova histološka građa u recentnih kitova, posebice s aspekta postnatalnog razvoja i histologije koštanog tkiva, prema dostupnoj literaturi do sada nisu u potpunosti razjašnjeni. Na temelju histomorfoloških analiza uzoraka raznih dobnih skupina dobrog dupina biti će opisan model postnatalnog razvoja koštanog tkiva recentnog kita.

Dodatni cilj ovog rada je detaljan mikroskopski opis koštanog tkiva dobrog dupina (*Tursiops truncatus*). Mjerenja i morfološki opis osteona, važne morfološke jedinice koštanog tkiva, biti će prvi detaljan opis ovih mikrostrukture u dobrog dupina i kitova općenito.

Zbog aktualnosti spongiformnih encefalopatija i njihovim dokazanim širenjem putem hrane za životinje koja sadrži mesno koštano brašno, opis i mjere osteocitnih lakuna uvelike će doprinjeti u vrsnom razlikovanju koštanih fragmenata u mesno koštanom brašnu.

## **4. MATERIJALI I METODE**



#### 4.1. Materijali

Ovo istraživanje provedeno je na 105 dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) koji su pronađeni mrtvi u hrvatskom dijelu Jadranskog mora u razdoblju od listopada 1990. do travnja 2011. (tablica 2.), a istraženi su u sklopu znanstveno-istraživačkog projekta (053-0533406-3640) Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske "Zdravstvene i biološke osobitosti populacija morskih sisavaca u Jadranu". Budući da se radi o zaštićenoj životinjskoj vrsti, od 1995., prikupljanje i obrada lešina dobrih dupina obavljani su u skladu s dopuštanjem za istraživanje dupina u teritorijalnim vodama Republike Hrvatske izdanim od nadležnih institucija. Lešine su obrađene prema istraživačkom obrascu za dupine na mjestu nalaza ili u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Njihovi koštani ostaci čuvaju se u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Osim kostiju, u svrhu ovog istraživanja koristili su se podaci o spolu, dobi i vanjskim tjelesnim mjerama zabilježeni u istraživačkim obrascima.

**Tablica 2.** Osnovni podaci uzorkovanih dobrih dupina (*Tursiops truncatus*) iz zbirke Zavoda za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (Ž=ženka, M=mužjak, GLG=growth layer group)

Oznaka dupina	Datum nalaza	Tjelesna masa (kg)	Ukupna tjelesna dužina (cm)	Dob (GLG)	Spol	Dobna skupina
2	01/11/1990	52,0	164	<1	Ž	<b>I Dobna skupina</b>
10	01/09/1994	75,0	163	<1	M	
18	02/08/1997	13,0	125	<1	M	
46	03/07/2000	23,7	122	<1	Ž	
92	02/08/2002	32,0	134	<1	Ž	
110	26/10/2003	43,5	160	<1	M	
140	31/07/2005	13,0	117	<1	Ž	
163	09/06/2007	27,5	128	<1	Ž	
184	10/05/2008	11,5	118	<1	M	
187	01/06/2008	22,5	128	<1	M	
189	11/06/2008	8,0	99	<1	Ž	
191	07/07/2008	47,5	182	<1	M	
192	28/07/2008	35,0	132	<1	Ž	
205	07/04/2009	72,0	171	<1	M	

32	01/11/1999	128,0	208	3	M	<b>II Dobna skupina</b>
55	23/03/2001	62,0	165	2	Ž	
103	14/03/2003	101,0	186	2	M	
107	24/09/2003	57,0	172	3	Ž	
131	14/12/2004	77,0	175	1	M	
134	18/05/2005	128,0	223	3	M	
158	19/02/2007	85,0	191	3	M	
168	05/08/2007	89,0	199	3	M	
175	05/10/2007	47,0	162	2	Ž	
193	04/08/2008	79,0	193	3	M	
210	11/10/2009	33,0	154	1	Ž	
216	04/06/2010	53,0	176	3	Ž	
3	18/06/1992	240,0	263	7	M	<b>III Dobna skupina</b>
7	29/03/1994	120,0	219	6	Ž	
8	26/05/1994		265	6	Ž	
87	16/06/2002	79,0	188	5	Ž	
97	10/11/2002	66,0	192	4	Ž	
101	31/10/2002	98,0	212	4	M	
109	10/10/2003	69,0	198	5	M	
113	16/01/2004	144,0	215	6	M	
127	20/09/2004	130,0	231	7	Ž	
128	22/09/2004	60,0	190	4	Ž	
136	15/06/2005	161,0	260	7	M	
138	16/07/2005	124,0	246	7	M	
149	28/04/2006	186,0	242	5	M	
150	17/05/2006	87,0	186	4	Ž	
157	08/11/2006	67,0	196	6	M	
172	12/09/2007	100,0	227	6	M	
198	06/11/2008	117,0	226	5	Ž	
204	07/04/2009	80,0	193	4	M	
206	08/05/2009	119,0	210	5	Ž	
1	16/10/1990	204,0	265	9	Ž	<b>IV Dobna</b>
15	02/10/1996	279,0	290	12	M	
17	30/07/1997		274	13	Ž	
35	24/11/1999	163,0	258	14	Ž	
36	01/12/1999	156,0	282	13	M	
40	17/03/2000	288,0	288	13	M	
41	27/04/2000	224,0	261	12	Ž	
62	19/07/2001	155,0	290	14	M	
72	05/01/2002	153,0	235	10	M	
76	20/02/2002	177,5	272	12	M	
83	25/04/2002	180,0	266	11	Ž	

88	18/06/2002	135,0	249	11	M	skupina
91	11/07/2002	246,0	280	13	Ž	
96	22/08/2002	169,0	268	12	Ž	
99	08/10/2002	249,0	256	12	M	
100	23/10/2002	215,0	270	12	M	
111	30/11/2003	130,0	251	10	Ž	
129	24/09/2004	168,0	280	14	M	
178	19/12/2007	148,0	275	12	M	
183	10/05/2008	218,0	267	14	Ž	
217	29/06/2010	160,0	281	13	Ž	
225	22/09/2010	163,0	264	11	Ž	
20	08/10/1997	214,0	288	21	Ž	V Dobna skupina
25	27/02/1999	228,0	278	23	Ž	
28	09/07/1999	249,0	312	16	M	
38	12/01/2000	261,0	286	21	Ž	
39	02/03/2000	192,0	276	26	Ž	
51	15/02/2001		275	21	Ž	
54	18/03/2001	236,0	281	17	Ž	
64	09/10/2001	305,0	312	17	M	
66	06/11/2001	199,0	283	26	Ž	
80	01/03/2002	324,0	294	17	M	
102	24/12/2002	216,0	262	20	Ž	
104	17/07/2003	210,0	277	20	M	
108	06/10/2003	209,0	277	17	Ž	
112	20/12/2003	268,0	303	20	M	
120	28/05/2004	206,0	284	15	Ž	
124	01/09/2004	205,0	301	17	M	
126	14/09/2004	182,0	266	19	M	
139	25/07/2005	239,0	294	21	M	
141	19/10/2005	197,0	282	18	Ž	
142	22/10/2005	270,0	307	23	M	
143	25/10/2005	163,5	263	20	Ž	
152	05/07/2006	171,0	262	21	Ž	
159	10/04/2007	298,0	286	22	Ž	
162	28/05/2007	216,0	300	26	M	
169	20/08/2007	314,0	298	24	M	
170	24/08/2007	222,0	288	17	M	
173	21/09/2007	167,0	291	21	Ž	
177	06/12/2007	234,0	322	19	M	
186	17/05/2008	204,0	299	16	Ž	
194	09/08/2008	206,0	285	20	M	
195	28/10/2008	154,0	272	27	M	

196	30/10/2008	166,0	280	26	Ž	
200	26/11/2008	277,0	298	28	M	
203	24/01/2009	218	280	25	Ž	
209	24/07/2009	182	287	25	Ž	
211	21/10/2009	232	302	20	M	
212	09/01/2010	245	299	20	M	
215	28/04/2010	304	278	19	M	
221	21/08/2010	194	276	21	M	

Kosti dupina nakon nalaza i postmortalnog pregleda lešine očišćene su od većih ostataka mekih tkiva i kuhane u otopini detergenta. Nakon toga su isprane i potopljene tijekom 48 sati u 4% otopinu vodikova peroksida radi izbjeljivanja, te osušene na zraku. Poslije sušenja svaka kost je označena brojem dupina koji odgovara broju njegovog istraživačkog obrasca. Vanjske tjelesne mjere mjerene su prema PERRIN-u (1975.). Spol je određen makroskopskim pregledom spolnih organa. Dob je određena brojanjem godišnjih zona prirasta u dentinu (engl. growth layer group) (HOHN i sur., 1989.; MYRICK i CORNELL, 1990.) pomoću svjetlosnog mikroskopa na podužnim i poprečnim presjecima zubiju obojenim Harrisovim hemalaunom po SLOOTEN (1991.) Za potrebe ovog istraživanja životinje su razvrstane prema dobi u 5 dobnih skupina (tablica 3.).

**Tablica 3.** Kategorizacija dobnih skupina

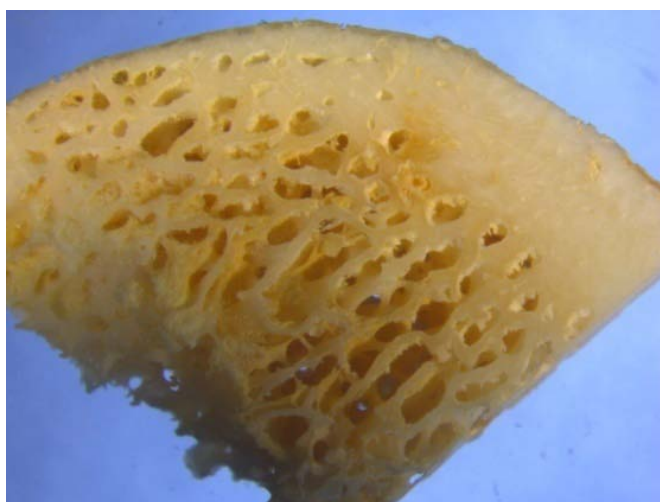
Dob/godine	Kategorija
<1	I dobna skupina
1-3	II dobna skupina
4-7	III dobna skupina
8-14	IV dobna skupina
>14	V dobna skupina

U svrhu ovog istraživanja uzorkovano je peto desno rebro i desna nadlaktična kost svake jedinke. Rebro je uzorkovano tako da je uz ventralni kraj rebrenog žlijeba (sulcus costae) napravljen poprečni rez i rebro je prepiljeno na pola. Na tom mjestu još jednim rezom otpiljen je koštani segment debljine oko 0,5 cm (slika 9.). Nadlaktična kost

uzorkovana je na način da je neposredno distalno od glave nadlaktične kosti (caput humerale) izrezan koštani segment, isječak presjeka, također debljine 0,5 cm (slika 10.).



**Slika 9.:** Presjek rebra dupina 204



**Slika 10.:** Isječak presjeka nadlaktične kosti dupina 128

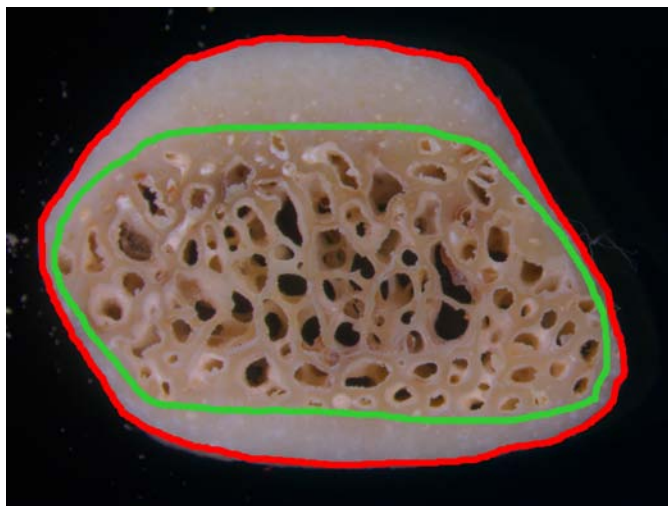
Za dobivanje koštanog uzorka koristila se dijamantna ploča edenta, NoDSB321.524.400HP, promjer 4 cm i rezač: NSK ultimate 500. Izrazito masni koštani segmenti odmašćeni su u tetrakloretilenu kroz 48 sati prije daljnje obrade. Nakon odmašćivanja koštanih segmenata, dvokomponentnim ljepilom izrezani segmenti kostiju lijepljeni su na predmetnice, a zatim su izrađeni izbrusci brušenjem brusnim papirom do debljine pogodne za mikroskopiranje svjetlosnim mikroskopom.

## 4.2 Metode

Koštani uzorci promatrani su pod lupom Zeiss SteREO Discovery.V20 (Zeiss, Njemačka) i svjetlosnim mikroskopom Zeiss AXIO ImagerM2 (Zeiss, Njemačka). Proučena je i opisana mikromorfologija uzoraka odvojeno za svaki spol unutar pojedinih dobnih skupina te su provedena sljedeća mikromorfološka mjerenja. U istraživanju je obrađeno 14 dupina iz 1. dobnе skupine (sedam ženki i sedam mužjaka), 12 dupina iz 2. dobnе skupine (sedam mužjaka i pet ženki), 19 dupina iz 3. dobnе skupine (deset mužjaka i devet ženki), 22 dupina iz 4. dobnе skupine (jedanaest mužjaka i jedanaest ženki) te 39 dupina iz 5. dobnе skupine (dvadeset mužjaka i devetnaest ženki). Ovim istraživanjem obrađena je 81 nadlaktična kost i 91 rebro.

### 4.2.1. Udio kompakte i spongioze na presjeku rebra

Uzimanjem uzorka obuhvaćen je cjeloviti presjek samo rebra (slika 11.), zbog čega je udio kompakte i spongioze mogao biti određен samo na rebrima, a ne i na nadlaktičnoj kosti.



**Slika 11.** Presjek rebra dupina 128. Crvena linija: granica površine cijelog presjeka rebra. Zelena linija: granica površine spongioze.

Svakom presjeku određena je ukupna površina, te površina spongioze. Iz dobivenih rezultata određena je površina spongioze i udio kompakte, prema sljedećim formulama:

$$\frac{\text{površina spongioze}}{\text{površina presjeka}} = \text{udio spongioze \%}$$

$$100\% - \text{udio spongioze\%} = \text{udio kompakte \%}$$

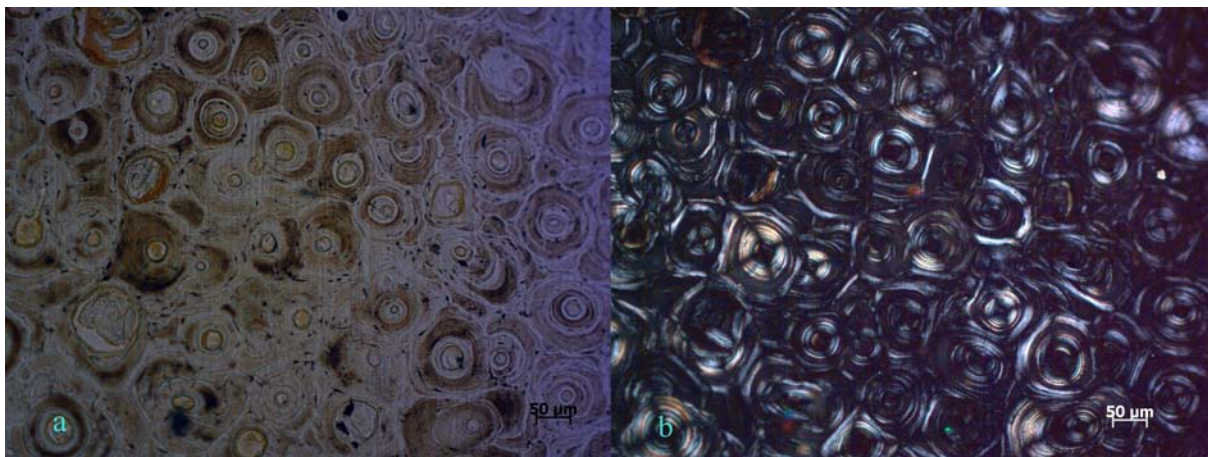
$$\text{površina ukupnog presjeka rebra} - \text{površina spongioze} = \text{površina kompakte}$$

#### 4.2.2. Gustoća osteona, promjeri primarnih i sekundarnih osteona, broj lamela u osteonima

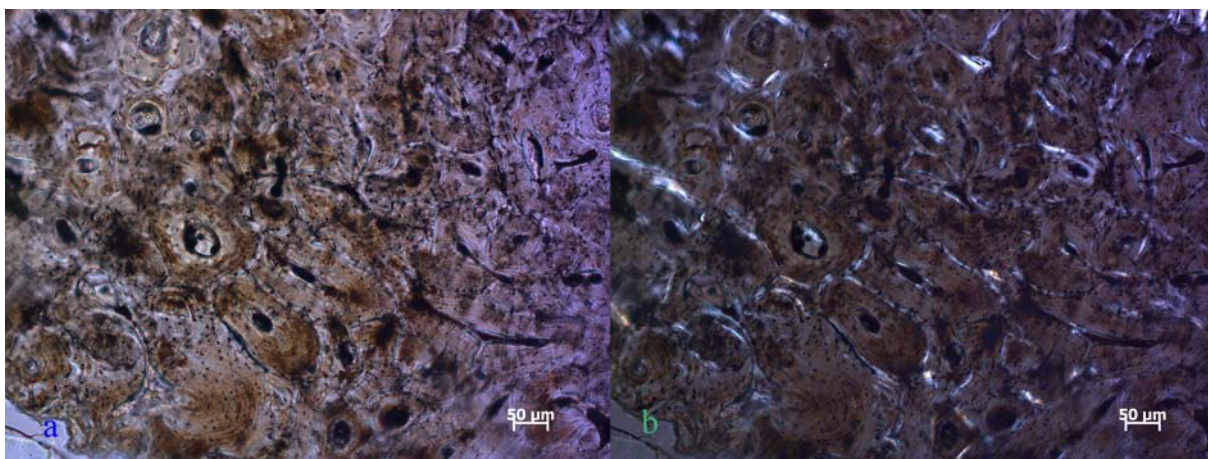
U svrhu određivanja gustoće osteona, promjera primarnih i sekundarnih osteona, broja lamela u osteonima koštani izbrusci promatrani su svjetlosnim mikroskopom, pod transmisivnom i polariziranom svjetlošću (slike 12. i 13.). Pod povećanjem 100 x na svakom preparatu nasumično je odabrano pet vidnih polja, veličine 890 x 670 μm na kojima je određen broj primarnih i sekundarnih osteona te osteona u pregradnji. Zbog interpretacije rezultata broj osteona je izražen u mm<sup>2</sup>. Za razlikovanje primarnih od sekundarnih osteona koristila se polarizirana svjetlost. Na svakom preparatu na dobro izdiferenciranim primarnim i sekundanim osteonima (najviše do pet po preparatu) određen je promjer osteona i broj lamela u osteonu. Pomoću promjera osteona izračunata je površina osteona prema formuli:

$$\left(\frac{\text{duljina dijametra}}{2}\right)^2 \pi = \text{površina osteona}$$

Na preparatima gdje osteoni nisu bili dobro izdiferencirani predviđena mjerenja i brojanja nisu izvedena.



**Slika 12.** Sekundarni osteoni. Dupin 200, 28 godina, rebro. a) vidno polje pod transmisivnim svjetlom b) vidno polje pod polarizacijom.



**Slika 13.** Primarni osteoni. Dupin 103, 2 godine, rebro. a) vidno polje pod transmisivnim svjetlom; b) vidno polje pod polarizacijom.

#### 4.2.3. Veličina i oblik lakuna

Veličina i oblik lakuna određivani su na uzorcima nadlaktične kosti koji su usitnjeni u tarioniku do veličine čestica  $<0,5$  mm, kako bi dobivene čestice bile što više nalik česticama kostiju dobivenih nakon proizvodnje mesno koštanog brašna (SAKAČ i FILIPOVIĆ, 2004.). Dobiveni fragmenti izbiježeni su u natrij hipokloritu kroz 10 minuta te osušeni na zraku. Preparati za analizu lakuna izrađeni su na pokrovnici na koju se nakapalo Norland Optical Adhesive 65 (Norland Products, SAD) u koju je



stavljena mala količina fragmenata usitnjenih i izbijeljenih kostiju i pokriveni su pokrovnicom. Pripremljen preparat izložen je UV zrakama valne duljine od 320-400 nm kroz 10 minuta kako bi se dobio trajan preparat. Preparati s česticama promatrani su pod povećanjem od 200 puta. Lakune su podijeljene prema obliku u lakune elipsoidnog oblika, zvjezdastog oblika i izduženog elipsoidnog oblika, i (slika 14. a, b i c). Svakom od oblika lakuna određena je dužina i širina. Na svakom uzorku izmjerene su najmanje dvije lakune po obliku.



**Slika 14.** Oblici lakuna: a) elipsoidni oblik, b) zvjezdasti oblik, c) izduženi elipsoidni oblik

U tablici 4 navedni su uzorci kostiju dobrih dupina koji su korišteni za pojedina mikromorfološka mjerenja

**Tablica 4.** Uzorci kostiju dobrih dupina korišteni za pojedina mikromorfološka mjerenja

Dupin	Spol	Dob	Kategorija	Ispitivana kost					
				Nadlaktična kost			Rebro		
				Promjer osteona	Broj lamela	Lakune	Promjer osteona	Broj lamela	Presjek rebra
1	Ž	9	4	+	+		+	+	
2	Ž	<1	1	+	+	+	+	+	+
3	M	7	3	+	+		+	+	
7	Ž	6	3						+
8	Ž	6	3			+			+
10	M	<1	1	+	+		+	+	+
15	M	12	4				+	+	
17	Ž	13	4	+	+		+	+	+
18	M	<1	1	+	+				
20	Ž	21	5	+	+		+	+	
25	Ž	23	5	+	+		+	+	
28	M	16	5	+	+	+			+
32	M	3	2	+	+				
35	Ž	14	4	+	+		+	+	

36	M	13	4	+	+		+	+	
38	Ž	21	5	+	+	+	+	+	
39	Ž	26	5	+	+		+	+	
40	M	13	4	+	+		+	+	
41	Ž	12	4	+	+		+	+	
46	Ž	<1	1	+	+	+	+	+	+
51	Ž	21	5	+	+		+	+	+
54	Ž	17	5				+	+	
55	Ž	2	2	+	+		+	+	
62	M	14	4	+	+		+	+	
64	M	17	5	+	+		+	+	
66	Ž	26	5	+	+		+	+	
72	M	10	4	+	+		+	+	
76	M	12	4	+	+		+	+	
80	M	17	5	+	+		+	+	
83	Ž	11	4			+	+	+	
87	Ž	5	3				+	+	
88	M	11	4	+	+	+	+	+	+
91	Ž	13	4	+	+		+	+	
92	Ž	<1	1				+	+	+
96	Ž	12	4	+	+		+	+	
97	Ž	4	3				+	+	
99	M	12	4	+	+		+	+	
100	M	12	4	+	+		+	+	
101	M	4	3				+	+	
102	Ž	20	5	+	+				
103	M	2	2	+	+		+	+	+
104	M	20	5	+	+		+	+	
107	Ž	3	2			+	+	+	+
108	Ž	17	5	+	+	+	+	+	+
109	M	5	3			+	+	+	
110	M	<1	1	+	+		+	+	
111	Ž	10	4	+	+		+	+	
112	M	20	5	+	+		+	+	
113	M	6	3			+	+	+	
120	Ž	15	5	+	+		+	+	
124	M	17	5	+	+				
126	M	19	5				+	+	
127	Ž	7	3	+	+		+	+	
128	Ž	4	3						
129	M	14	4	+	+		+	+	
131	M	1	2	+	+		+	+	+
134	M	3	2	+	+		+	+	
136	M	7	3	+	+		+	+	
138	M	7	3	+	+		+	+	
139	M	21	5	+	+	+	+	+	

140	M	<1	1	+	+		+	+	
141	Ž	18	5				+	+	
142	M	23	5	+	+				
143	Ž	20	5	+	+		+	+	
149	M	5	3	+	+		+	+	
150	Ž	4	3	+	+		+	+	+
152	Ž	21	5				+	+	
157	M	6	3				+	+	+
158	M	3	2	+	+	+	+	+	+
159	Ž	22	5	+	+		+	+	
163	Ž	<1	1	+	+		+	+	
168	M	3	2	+	+	+	+	+	
172	M	6	3				+	+	
170	M	17	5						
173	Ž	21	5	+	+		+	+	
175	Ž	2	2	+	+		+	+	
177	M	19	5	+	+		+	+	
178	M	12	4	+	+	+	+	+	
183	Ž	14	4	+	+		+	+	
184	M	<1	1	+	+				
186	Ž	16	5	+	+		+	+	
187	M	<1	1	+	+	+			
189	Ž	<1	1	+	+				
191	M	<1	1	+	+	+	+	+	+
192	Ž	<1	1				+	+	+
193	M	3	2	+	+		+	+	+
194	M	20	5	+	+		+	+	
195	M	27	5						
196	Ž	26	5	+	+		+	+	
198	Ž	5	3	+	+	+	+	+	
200	Ž	28	5	+	+		+	+	
203	Ž	25	5	+	+		+	+	
204	M	4	3				+	+	+
205	M	<1	1	+	+		+	+	
206	Ž	5	3	+	+		+	+	+
209	Ž	25	5	+	+		+	+	
210	Ž	1	2	+	+		+	+	+
211	M	20	5	+	+		+	+	
212	M	20	5	+	+		+	+	
215	M	19	5	+	+		+	+	
216	Ž	3	2	+	+	+	+	+	+
217	Ž	13	4	+	+		+	+	+
225	Ž	11	4				+	+	

#### **4.2.4. Statistička obrada**

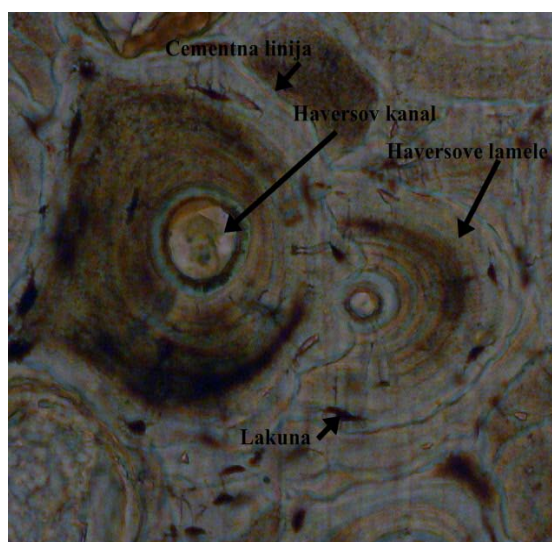
Brojčani podaci statistički su obrađeni u informatičkim programom Stata 10.0 (Stat. Corp. USA). Dobivene vrijednosti međusobno su uspoređene t-testom, analizom varijance ili Kruskall Wallis neparametrijskim testom. Linearnom regresijom provjerena je korelacija izmjerenih vrijedosti s dobi i spolom. Kao statistički značajna razlika smatrala se ako je p vijednost bila manja od 0,05 ( $p < 0,05$ ).

## **5. REZULTATI**

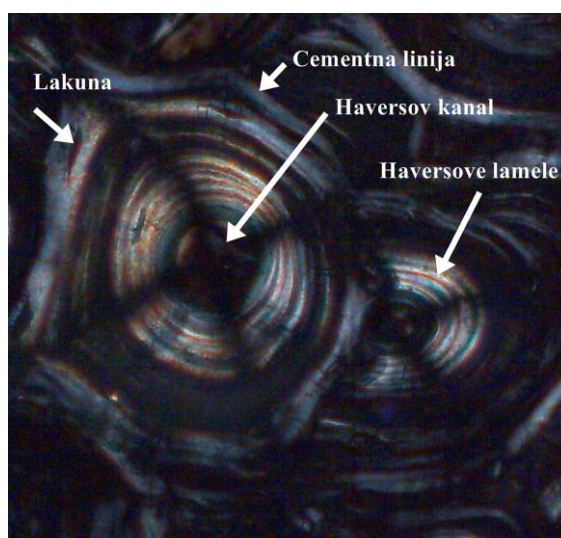
## 5.1. Mikroskopski prikaz razvoja koštanog tkiva u nadlaktičnoj kosti i rebru dobrog dupina

Koštano tkivo prolazi tijekom života kroz dinamične promjene. Slijedećim nizom slika opisuje se razvoj koštanog tkiva u nadlaktičnoj kosti i rebru dupina mlađih od godine dana do njihove starosti, odvojeno za svaku navedenu kost i odvojeno po spolu. Prvo slijedi prikaz razvoja koštanog tkiva u nadlaktičnoj kosti, zatim u rebru. Razvoj koštanog tkiva nadlaktične kosti i promjene koje se dešavanju opisane su kroz dobne skupine.

Primjer izgleda sekundarnog osteona i njegovih djelova prikazan je na slikama 15. i 16.



**Slika 15.** Sekundarni osteon pod transmisivnim svjetlom, dupin oznake 200

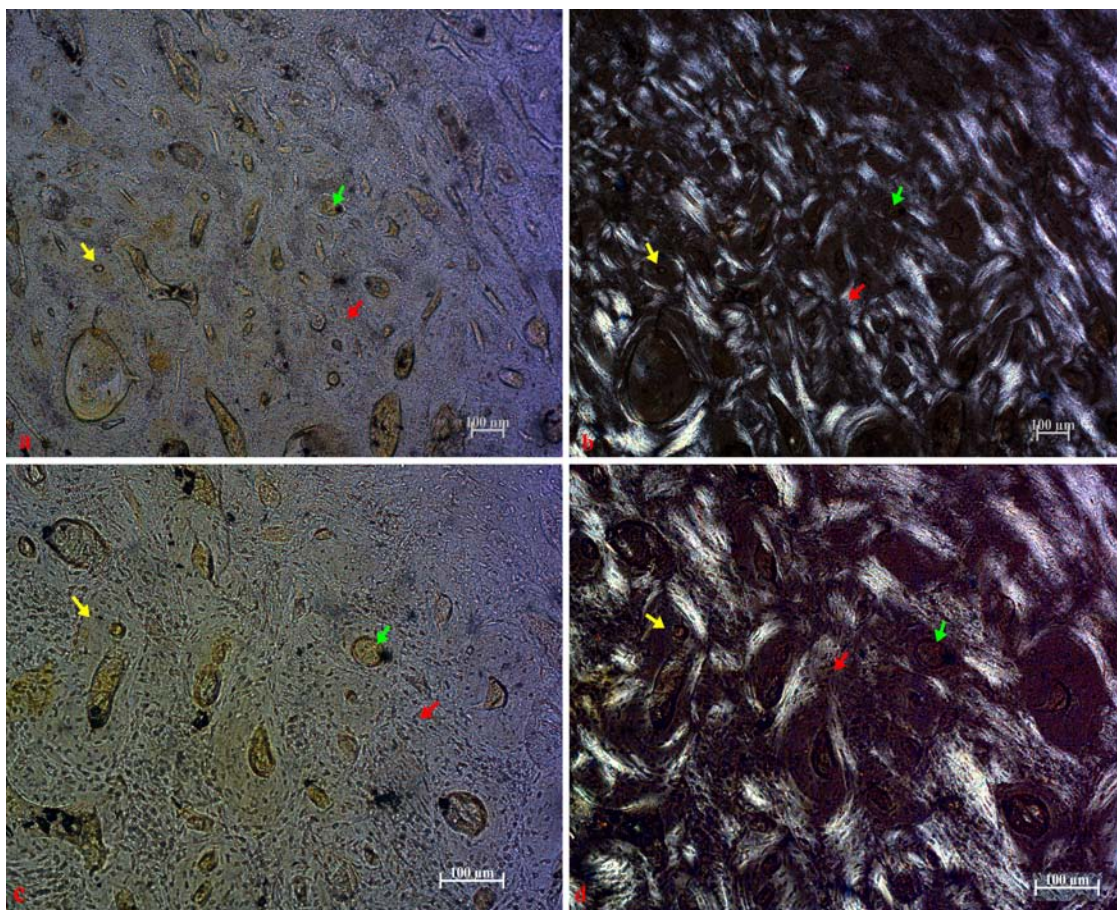


**Slika 16.** Sekundarni osteon pod polariziranim svjetlom, dupin oznake 200

### 5.1.1. Mikroskopski prikaz razvoja koštanog tkiva nadlaktične kosti po dobi i spolu

#### Mikroskopski prikaz nadlaktične kosti dobrih dupina mladih od 1 godine, 1. dobna skupina

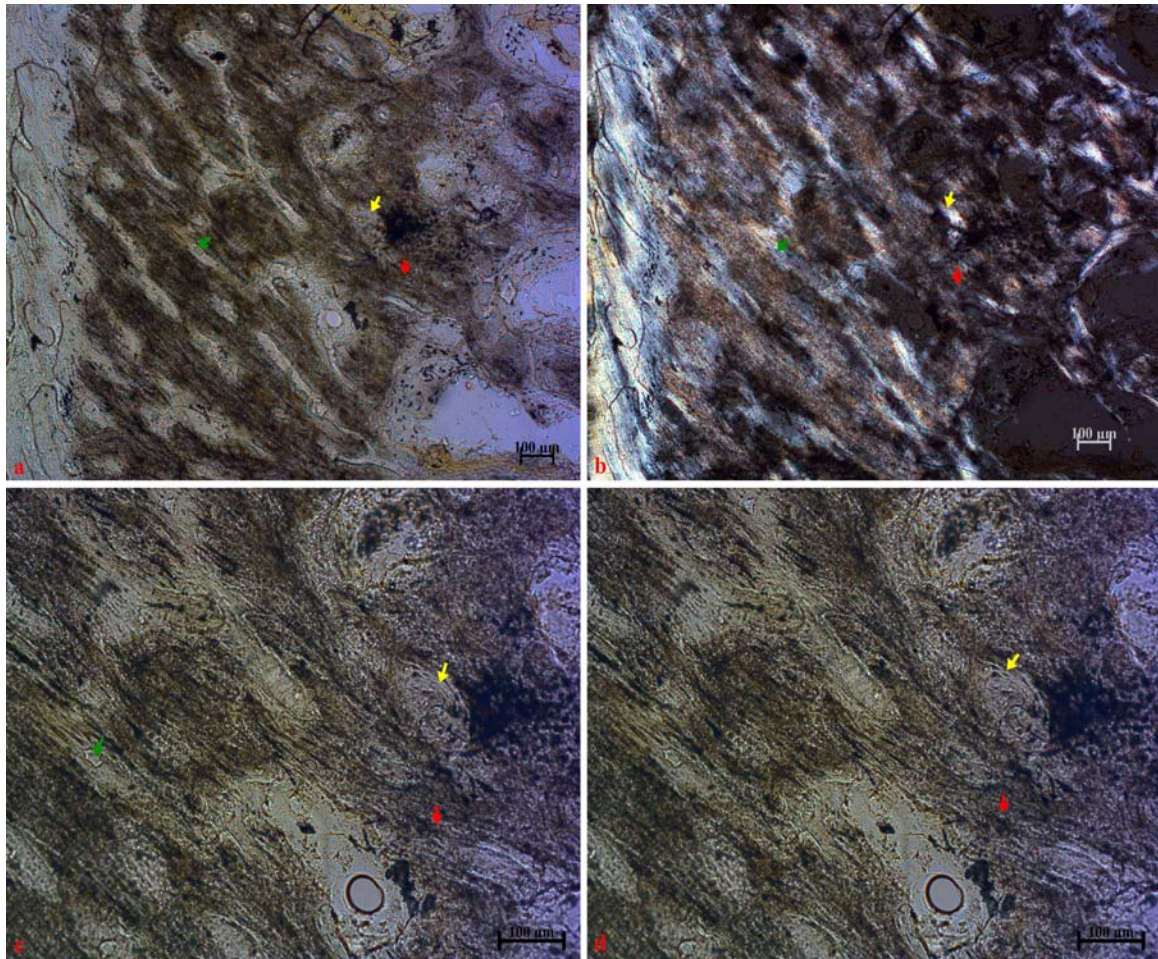
U mužjaka prve dobne skupine (slika 17.) kompaktni dio nadlaktične kosti je vrlo homogene građe i sastoji se od brojnih uzdužnih koštanih kanala, koji su preteča primarnih osteona (slika 17. a, b i c), umetnutih u valovito fibrozno koštano tkivo. Oko pojedinih kanala nalazi se 4 do 6 lamela (primarni osteon). Ti primarni osteoni su različitog promjera. Gređice spongioze građene su od valovitog koštanog tkiva.



**Slika 17.** Nadlaktična kost mužjaka dobrog dupina oznake 205. Slike a) i c) transmisivno svjetlo, b) i d) polarizirano svjetlo. Uzdužni koštani kanali (zelena strelica), valovito koštano tkivo (crvena strelica), primarni osteoni (žuta strelica)



Kompaktni dio nadlaktične kosti ženki prve dobne skupine (slika 18.) pokazuje izrazito rasijanu orijentaciju koštanih kanala, a samo na prijelazu u spongiozu nalazi se poneki uzdužni koštani kanal (slika 18. a, b i c). Najveći dio koštanog tkiva kompakte pripada valovitom koštano tkivu (slika 18. a, b i d). Oko uzdužnih kanala nalazi se prosječno 5 slojeva lamela (primarni osteoni). Gredice spongioze građene su od valovitog koštanog tkiva.



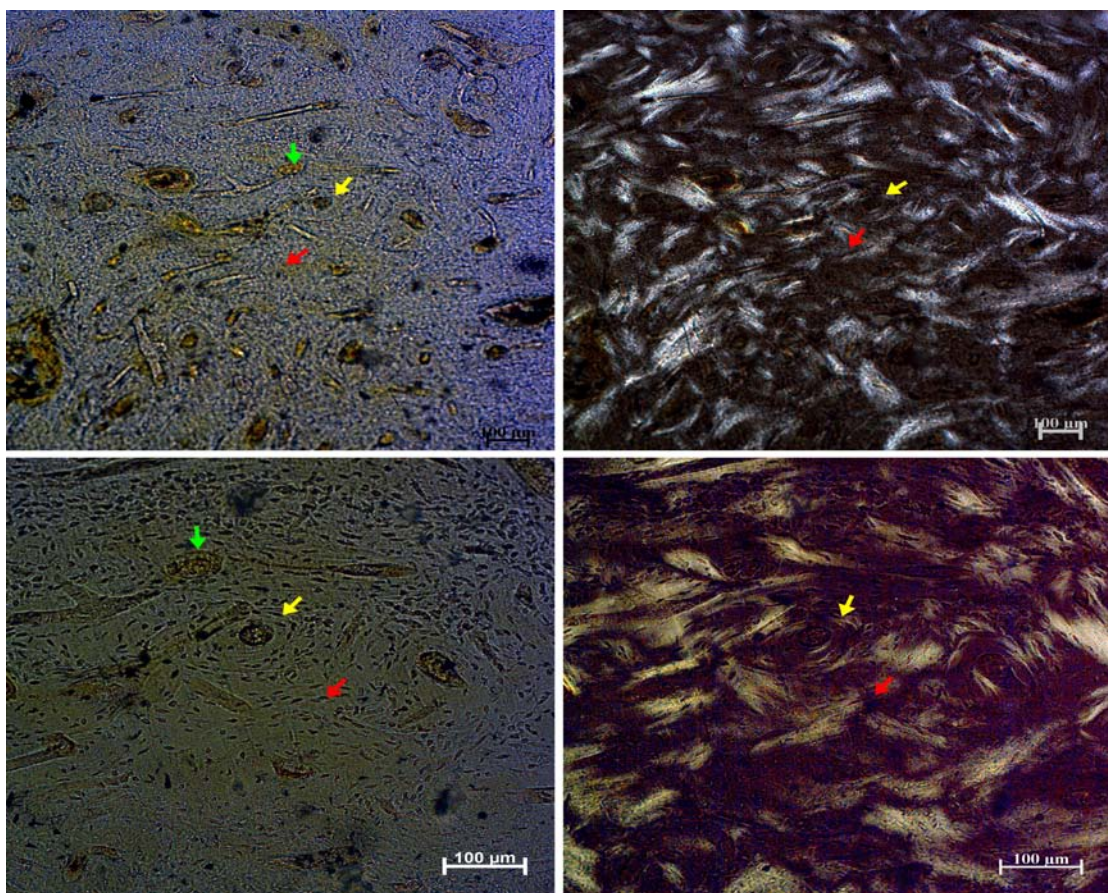
**Slika 18.** Nadlaktična kost ženke dobrog dupina oznake 163. Slike a) i c) transmisivno svjetlo, b) i d) polarizirano svjetlo. Uzdužni koštani kanali (zeleni strelica), valovito koštano tkivo (crveni strelica), primarni osteoni (žuti strelica).





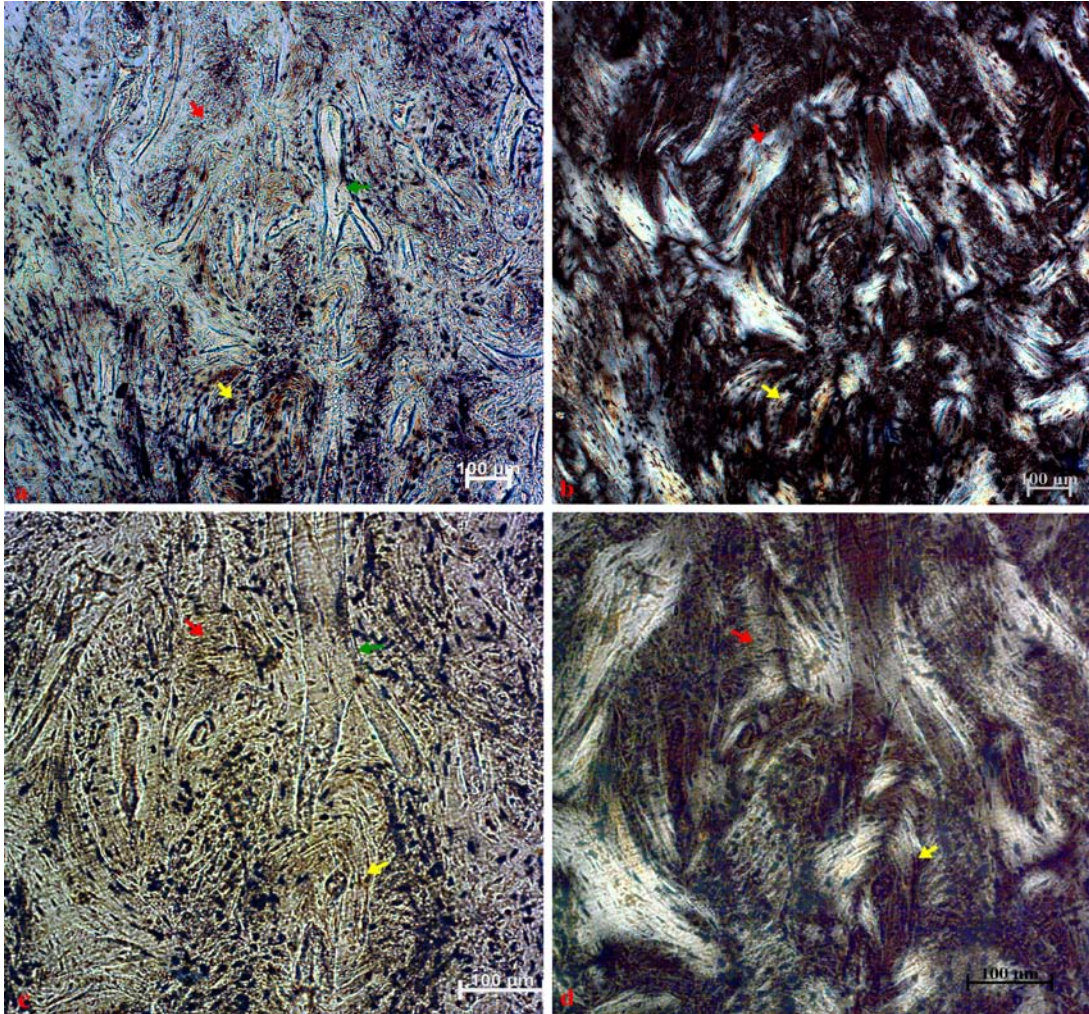
## Mikroskopski prikaz nadlaktične kosti dobrih dupina od 1. do 3. godine starosti, 2. dobna skupina

Kompaktni dio nadlaktične kosti muškaka druge dobne skupine (slika 19.) pokazuje uglavnom uzdužnu orijentaciju koštanih kanala (slika 19. a i c) i manji broj radijalno položenih koštanih kanala. Oko većeg broja uzdužnih kanala nalazi se 5 do 7 lamela i predstavljaju primarne osteone. Između primarnih osteona nalazi se relativno velika količina valovitog koštano tkiva. Znakovi koštane pregradnje i sekundarni osteoni se ne opažaju. Valovito koštano tkivo zapaža se i u gredicama spongioze.



**Slika 19.** Nadlaktična kost muškaka dobrog dupina oznake 103. Slike a i c transmisivno svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Uzdužni koštani kanali (zelena strelica), valovito koštano tkivo (crvena strelica), primarni osteoni (žuta strelica)

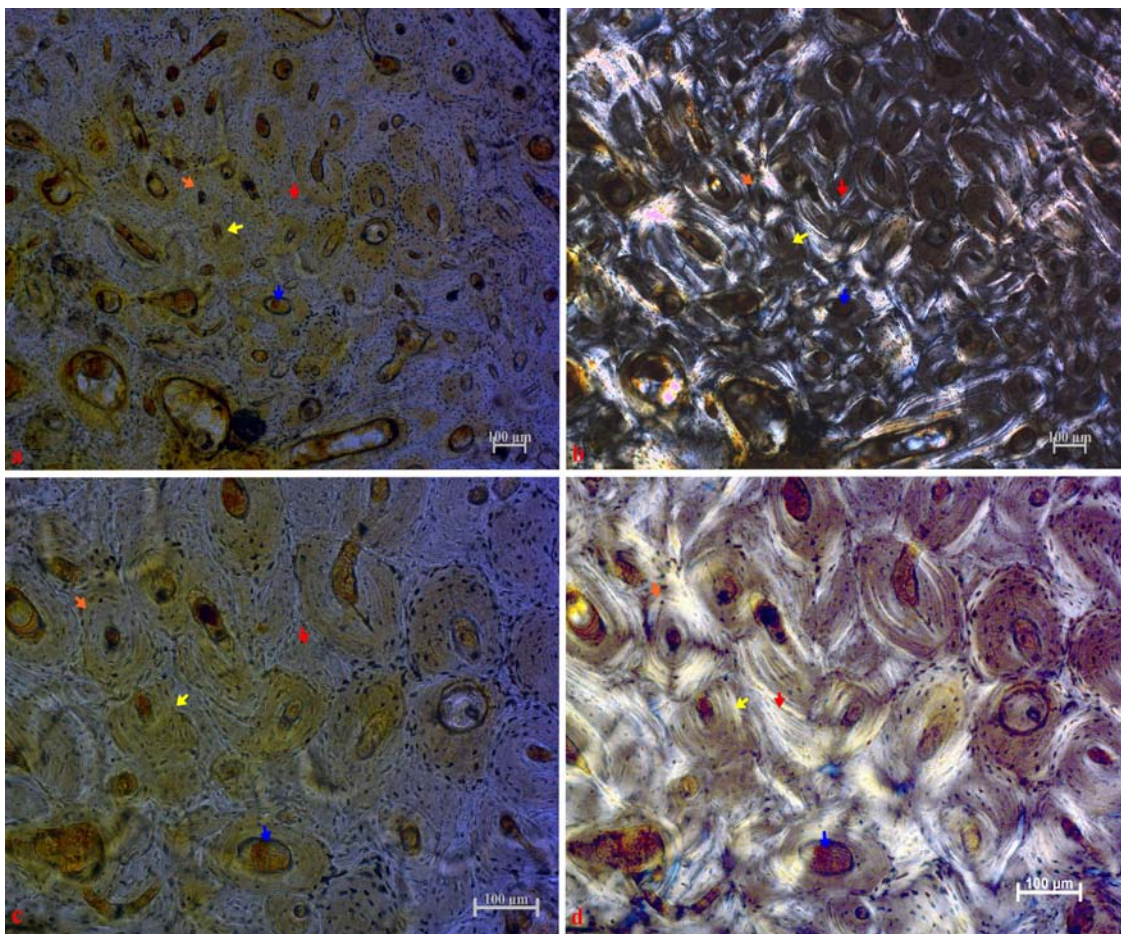
Mikrostruktura nadlaktične kosti ženki druge dobne skupine (slika 20.) odgovara onoj u mušjaka iste dobi. Kompakta nadlaktične kosti ženki druge dobne skupine pokazuje veći broj uzdužnih koštanih kanala povezanih s radijarno položenim kanalima (slika 20. a i c). Oko uzdužnih kanala nalazi se 6 do 8 slojeva lamelnog koštanoga tkiva (primarni osteoni), a prostor između njih popunjava velika količina valovitog koštanog tkiva. Valovito koštano tkivo zapaža se i u gredicama spongioze.



**Slika 20.** Nadlaktična kost ženke dobrog dupina oznake 216. Slike a i c transmisivno svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Uzdužni koštani kanali (zelena strelica), valovito koštano tkivo (crvena strelica), primarni osteoni (žuta strelica)

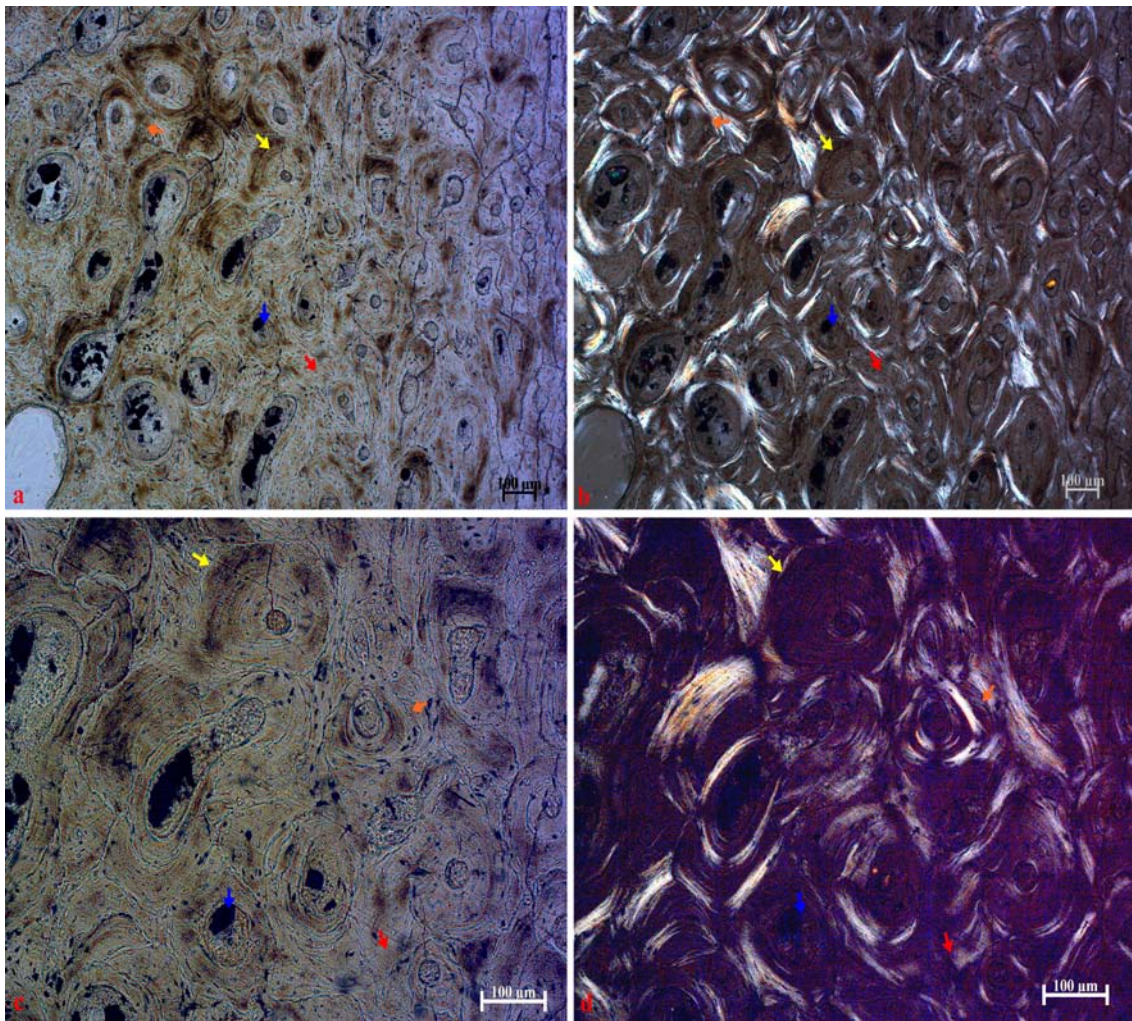
### Mikroskopski prikaz nadlaktične kosti dobrih dupina od 4. do 7. godine starosti, 3. dobna skupina

Veliki broj uzdužno orijentiranih primarnih osteona popunjava kompaktni dio nadlaktične kosti mužjaka treće dobne skupine (slika 21.). Oko primarnih osteona nalazi se još uvijek znatna količina valovitog koštanog tkiva. U dubljim dijelovima kompakte opažaju se počeci pregradnje i pojava resorptivnih šupljina okruženih valovitim koštanim tkivom. U ovoj dobnoj skupini opažaju se i sekundarni osteoni koji su smješteni u središnjem dijelu kompakte. Gredece spongioze su građene od lamelarnog koštanog tkiva u kojem se rijetko zapažaju i sekundarni osteoni.



**Slika 21.** Nadlaktična kost mužjaka dobrog dupina oznake 3. Slike a i c transmisivno svijetlo, b i d polarizirano svijetlo. Valovito koštano tkivo (crvena strelica), primarni osteoni (žuta strelica), resorptivne šupljine (plava strelica), sekundarni osteoni (narančasta strelica).

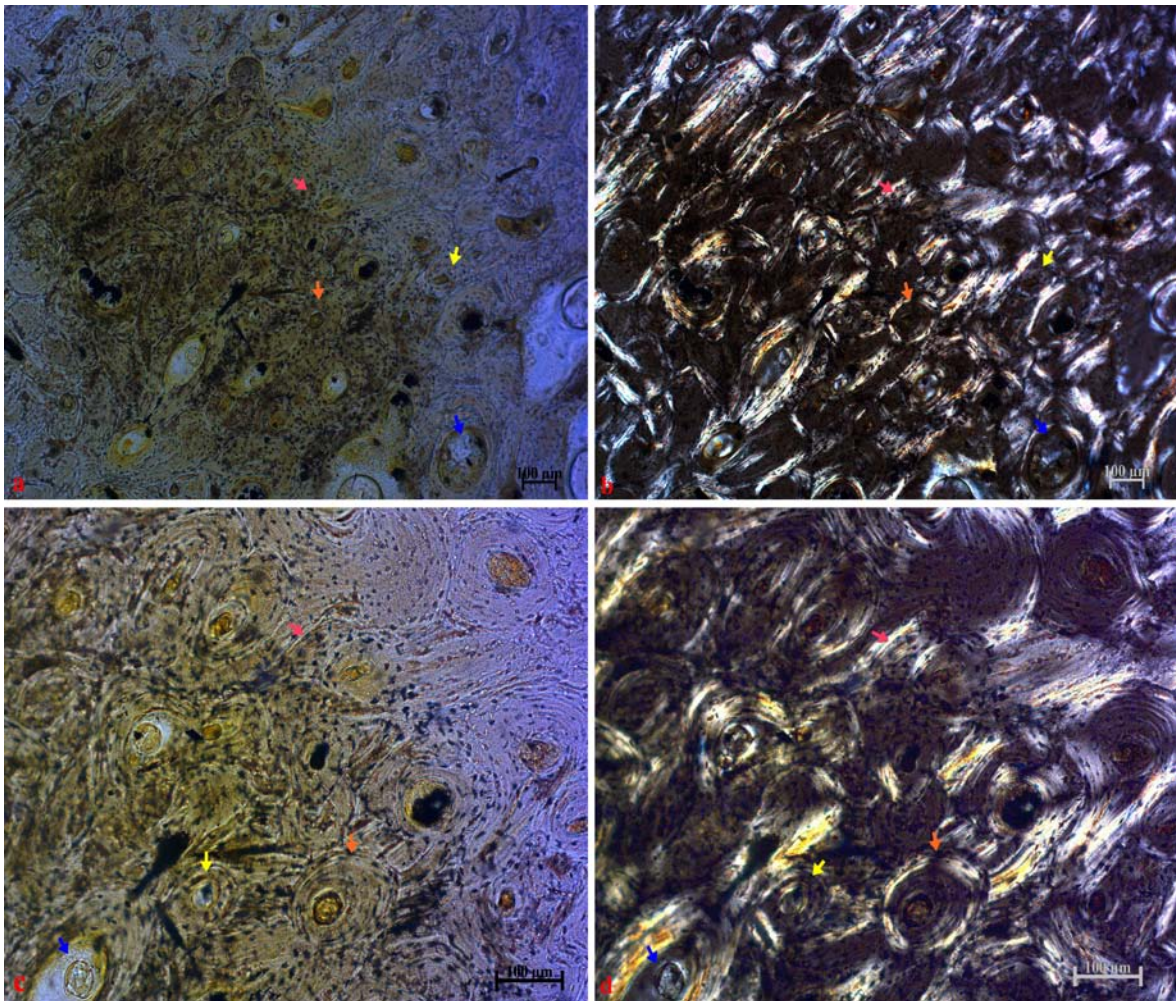
Kao i u muškaka ove dobi i kompaktni dio nadlaktične kosti ženke treće dobne skupine (slika 22.) čine uglavnom primarni osteoni okruženi s relativno velikom količinom valovitog koštanoga tkiva. U dubljim dijelovima kompakte opaža se pojava resorptivnih šupljina i njihovo međusobno spajanje. Sekundarni osteoni rijetko se zapažaju. Gređice spongioze građene su od valovitog koštanog tkiva.



**Slika 22.** Nadlaktična kost ženke dobrog dupina oznake 198. Slike a i c transmisivno svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Valovito koštano tkivo (crvena strelica), primarni osteoni (žuta strelica), resorptivne šupljine (plava strelica), sekundarni osteon (narančasta strelica).

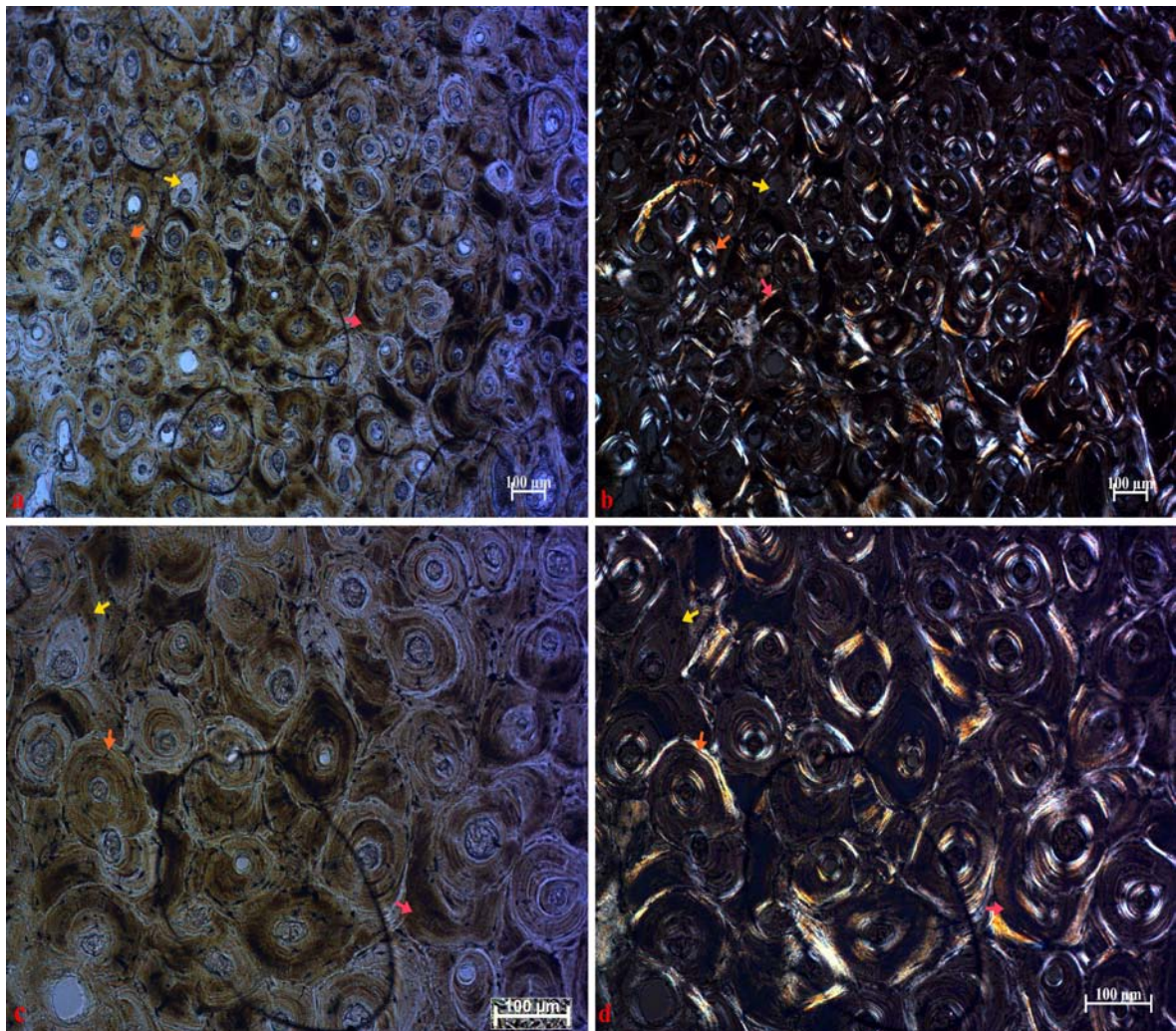
#### Mikroskopski prikaz nadlaktične kosti dobrih dupina od 8. do 14. godine starosti, 4. dobna skupina

Kompaktni dio nadlaktične kosti mušjaka četvrte dobne skupine (slika 23.) grade zbijeni primarni i sekundarni osteoni s uzdužnom orijentacijom koštanih kanala. Između osteona opažaju se ostaci osteona u obliku međulamela. Na prijelazu kompakte u spongiozu opažaju se velike resorptivne šupljine okružene valovitim koštanim tkivom. U gređicama spongioze se zapaža lamelarno koštano tkivo s rijetkim sekundarnim osteonima.



**Slika 23.** Nadlaktična kost mušjaka dobrog dupina oznake 100. Slike a i c transmisivno svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Međulamele (ružičasta strelica), sekundarni osteoni (narančasta strelica), primarni osteoni (žuta strelica), resorptivne šupljine (plava strelica).

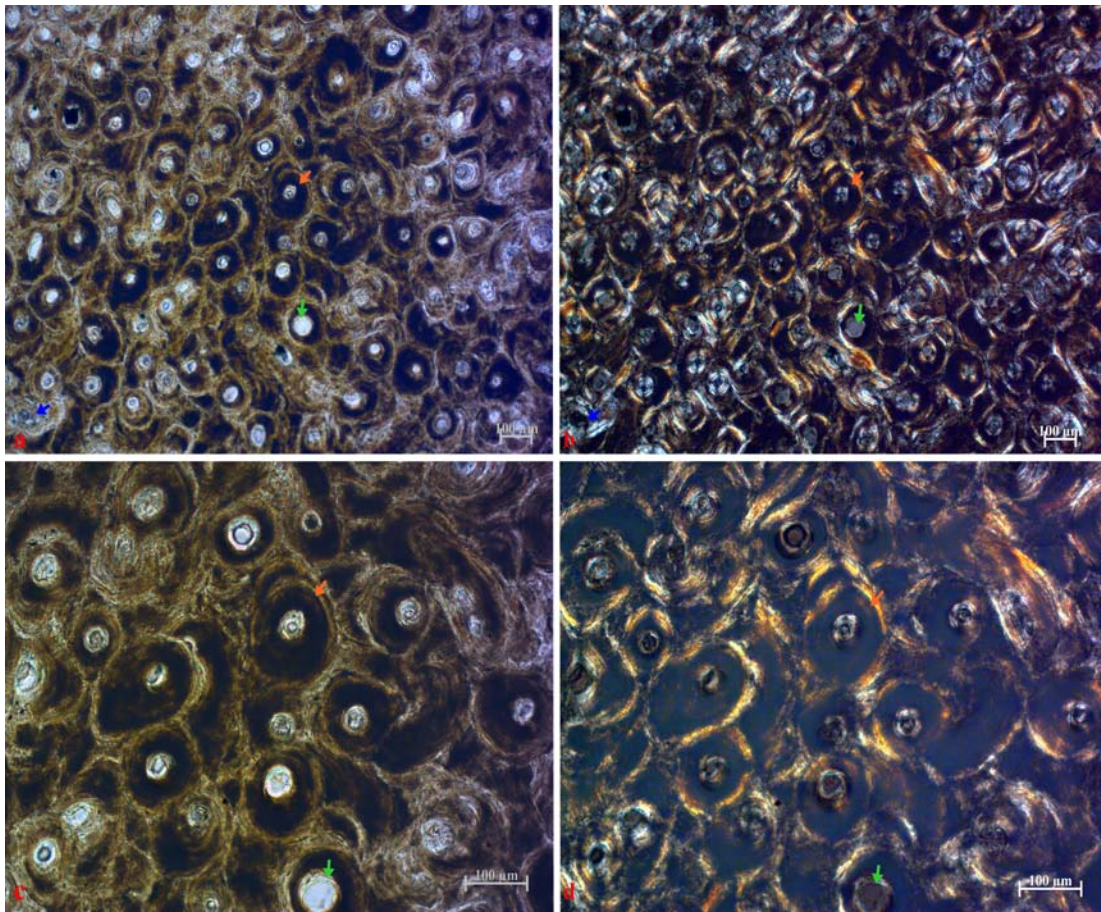
Koštani kanali u nadlaktičnoj kosti ženki četvrte dobne skupine (slika 24.) su uzdužno orijentirani i okruženi lamelarnim koštanim tkivom (osteoni). Osteoni su različitog promjera i u najvećem broju pripadaju sekundarnim osteonima. Između osteona ima dosta međulamela koje su ostatci koštane pregradnje. Gređice spongioze građene su od lamelarnog koštanog tkiva sa pokojim sekundarnim osteonom.



**Slika 24.** Nadlaktična kost ženke dobrog dupina oznake 17. Slike a i c transmisivno svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Međulamele (ružičasta strelica), sekundarni osteoni (narančasta strelica), primarni osteoni (žuta strelica).

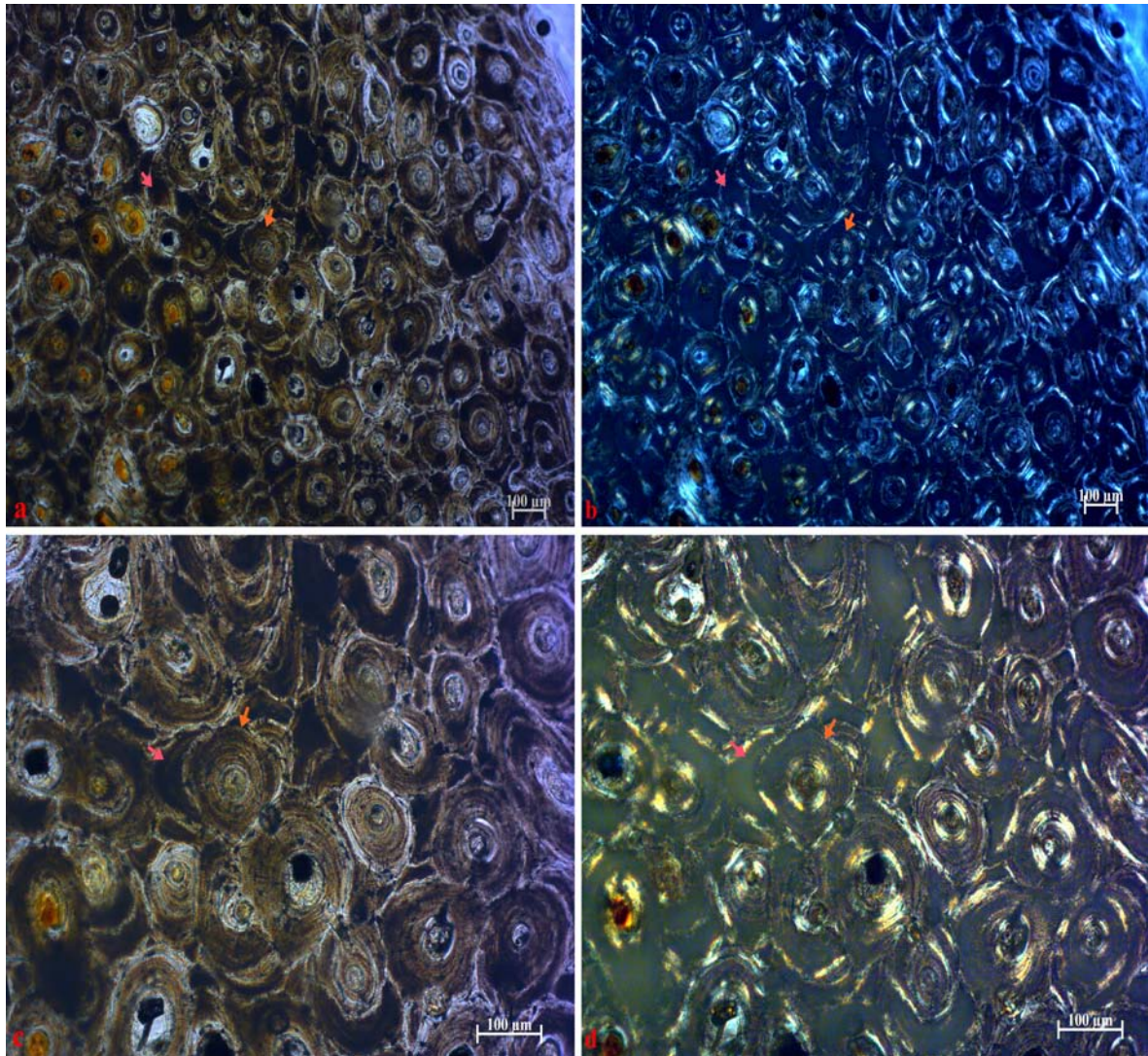
## Mikroskopski prikaz nadlaktične kosti dobrih dupina starijih od 14 godina, 5. dobna skupina

Kompaktni dio nadlaktične kosti muškaka pete dobne skupine (slika 25.) čine uzdužno orijentirani koštani kanali okruženi s lamelarnim koštanim tkivom. Većina tih osteona pripada sekundarnim osteonima ili primarnim osteonima u pregradnji. U dijelu kompakte na prijelazu u spongiozu opaža se veći broj resorptivnih šupljina (slika 25. a i b). Spongioza je lamelarne građe u kojoj se rijetko zapažaju sekundarni osteoni u gredicama.



**Slika 25.** Nadlaktična kost muškaka dobrog dupina oznake 124. Slike a i c transmisiono svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Osteoni u pregradnji (zelena strelica), sekundarni osteoni (narančasta strelica), resorptivne šupljine (plava strelica).

Kompaktni dio nadlaktične kosti ženki pete dobne skupine (slika 26.) čine uzdužno orijentirani sekundarni osteoni različita promjera. Između osteona opažaju se međulamele. Na prelazu u spongiozu uočavaju se resorptivne šupljine. Gredice spongioze su građene od lamelnarnog koštanog tkiva sa pokojim sekundarnim osteonom.



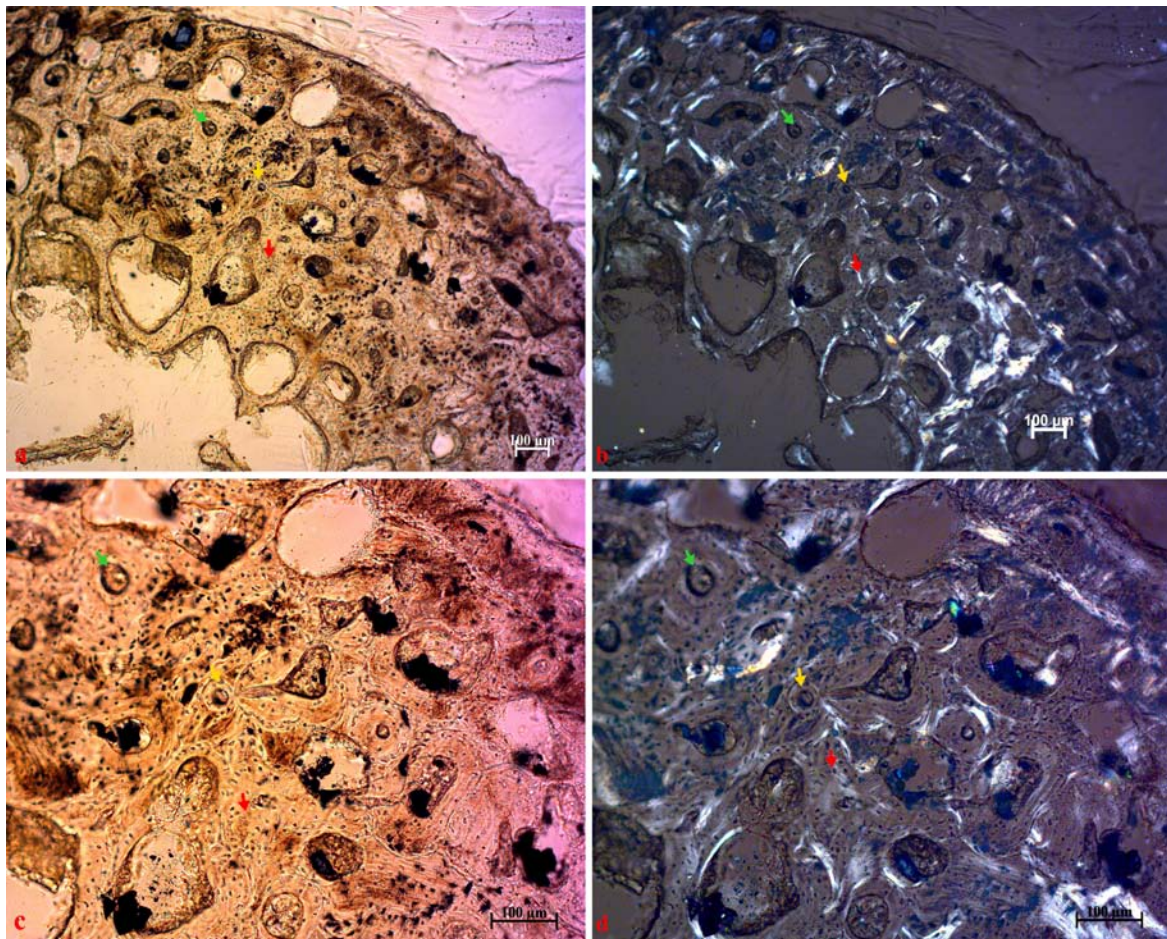
**Slika 26.** Nadlaktična kost ženke dobrog dupina oznake 102. Slike a i c transmisivno svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Sekundarni osteoni (narančasta strelica), međulamele (ružičasta strelica).



### 5.1.2. Mikroskopski prikaz razvoja koštanog tkiva rebra dobrog dupina po dobi i spolu

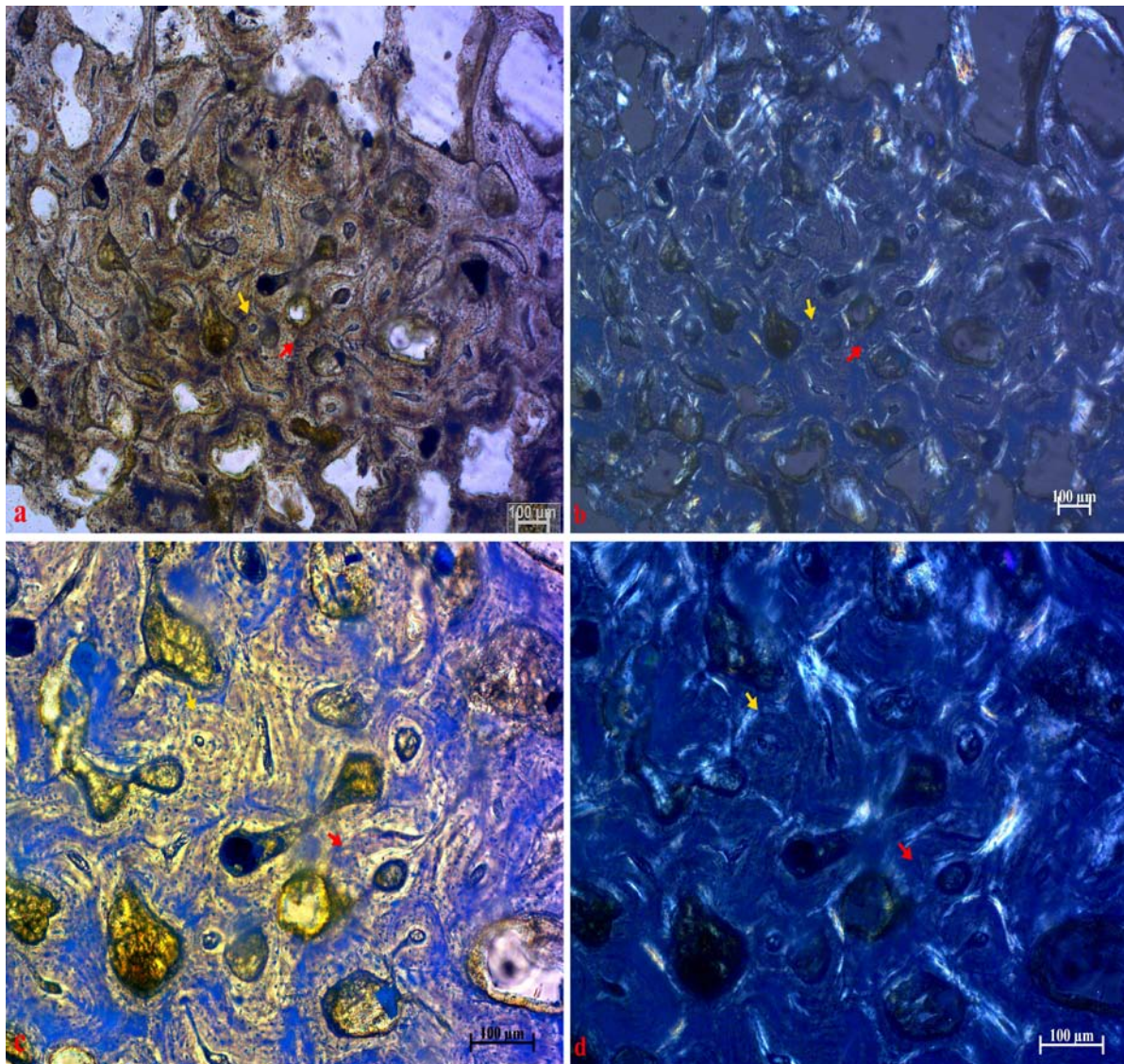
#### Mikroskopski prikaz rebra dobrih dupina mladih od 1 godine, 1. dobna skupina

Na periostalnoj površini rebra mužjaka prve dobne skupine (slika 27.) nalazimo tanki sloj valovitog koštanog tkiva na koji se prema unutrašnjosti nastavlja dobro izražena kompakta koja bez jasne granice prelazi u spongiozu. U kompakti su koštani kanali u uzdužnom smjeru. Većina kanala je velikog promjera okružena s valovitim koštanim tkivom. Oko kanala manjeg promjera uočava se 5 do 7 lamela (primarni osteoni). Prostor oko primarnih osteona ispunjen je valovitim koštanim tkivom. U spongiozi se zapaža valovito tkivo.



**Slika 27.** Rebro mužjaka dobrog dupina oznake 10. Slike a i c transmisivno svijetlo, b i d polarizirano svijetlo. Valovito koštano tkivo (crvena strelica), primarni osteoni (žuta strelica), uzdužni koštani kanali (zelena strelica).

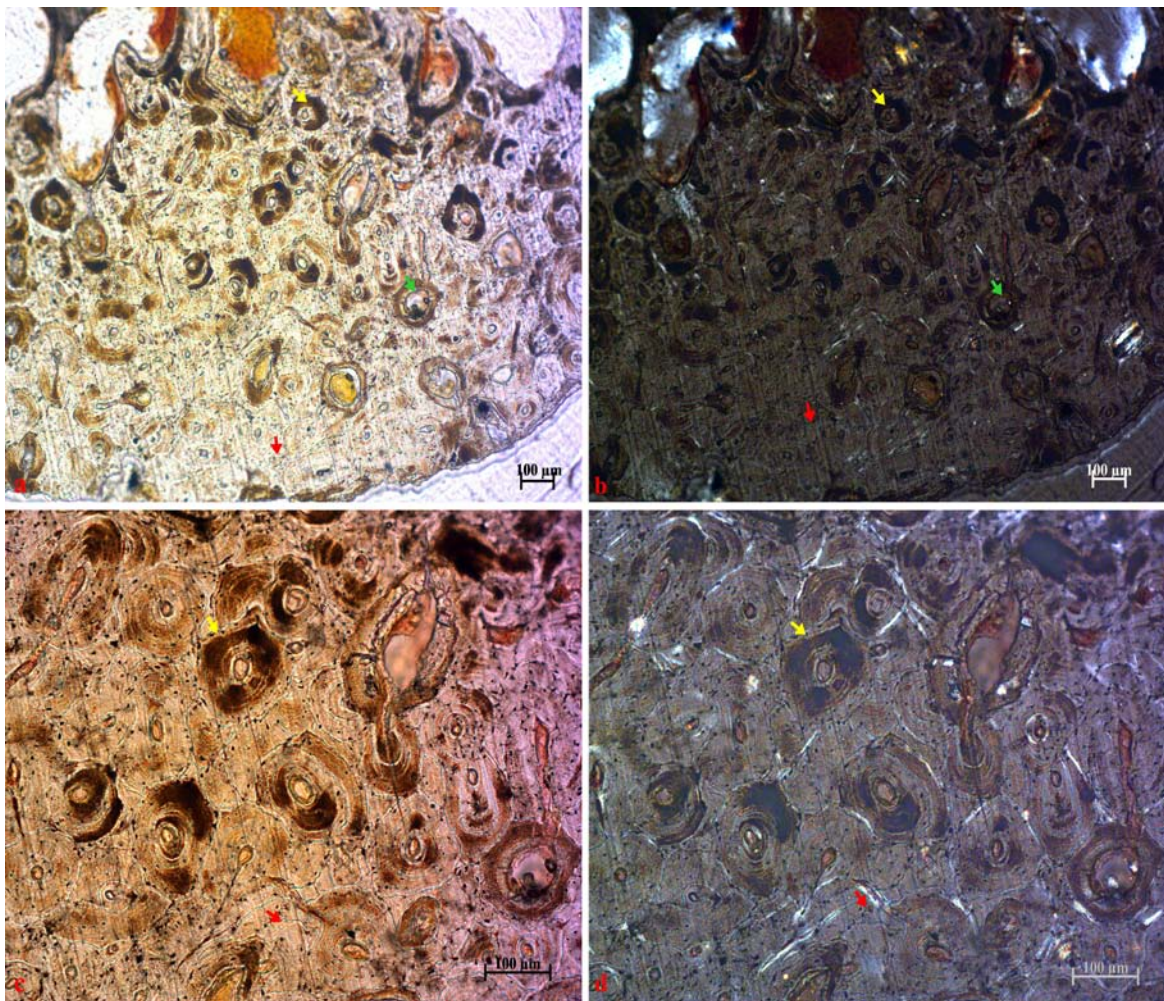
Kompaktni dio rebra ženki prve dobne skupine (slika 28.) pokazuje retikularnu organizaciju koštanih kanala s naglašenijom uzdužnom komponentom. Većina kanala uzdužne orijentacije je okružena s 6 do 8 slojeva lamelnog koštanoga tkiva (primarni osteoni). Velike koštane šupljine okružene su valovitim koštanim tkivom koje popunjava i prostore između primarnih osteona. Gredice spongioze građene su od valovitog koštanog tkiva.



**Slika 28.** Rebro ženke dobrog dupina oznake 2. Slike a i c transmisivno svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Valovito koštano tkivo (crvena strelica), primarni osteoni (žuta strelica).

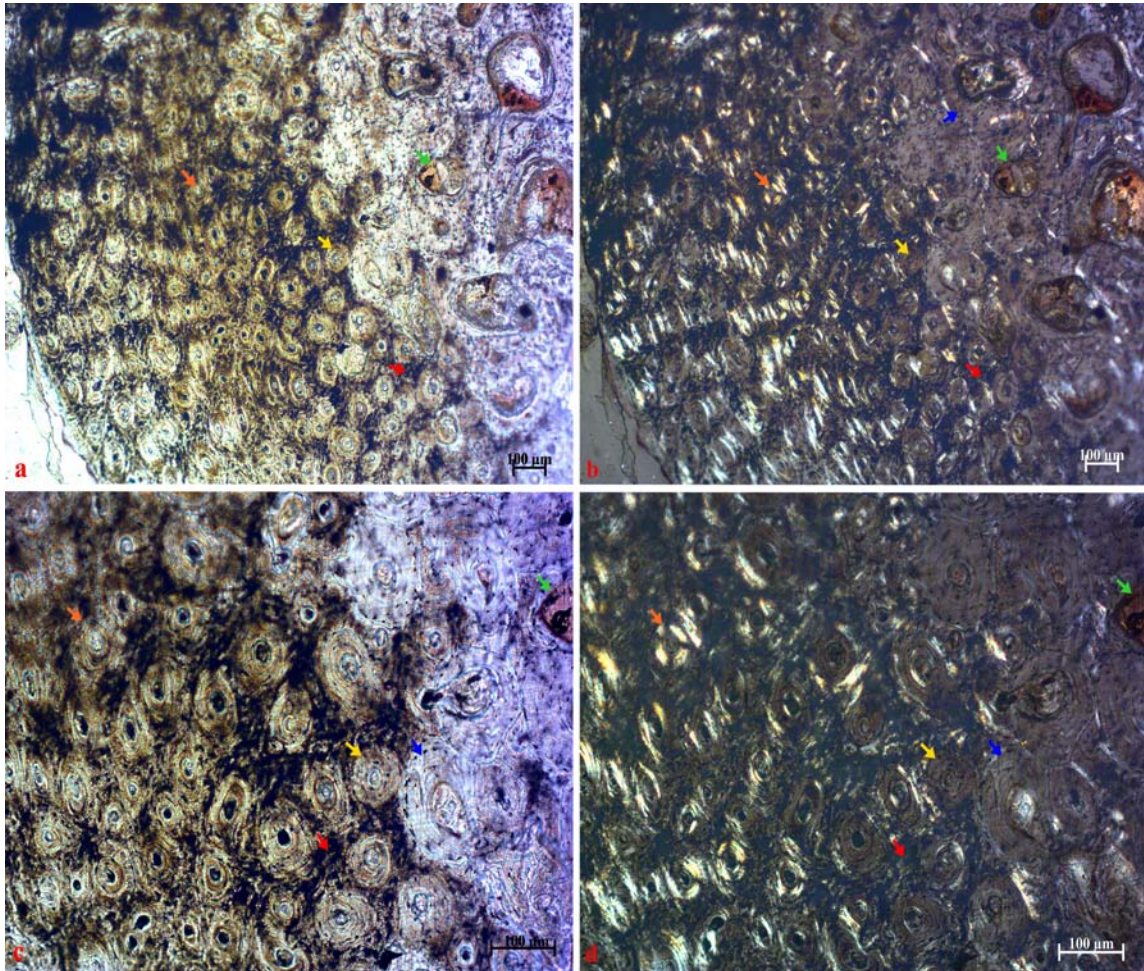
## Mikroskopski prikaz rebra dobrih dupina u dobi od 1. do 3. godine, 2. dobna skupina

Koštani kanali u kompakti rebra mužjaka druge skupine (slika 29.) uzdužno su orijentirani i dosežu sve do periostalnog dijela kompakte. Oko koštanih kanala opaža se naslojavanje lamelnog koštanoga tkiva od 2 do 4 lamele (primarni osteoni). U oko 10% primarnih osteona opažaju se počeci koštane pregradnje pojavom velikih resorptivnih šupljina (slika 29. a i b). Oko primarnih osteona opaža se vrlo malo valovitog koštanog tkiva. Gredice spongioze lamelarne su građe.



**Slika 29.** Rebro mužjaka dobrog dupina oznake 168. Slike a i c transmisiono svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Resorptivne šupljine (zelena strelica), primarni osteoni (žuta strelica), valovito koštano tkivo (crvena strelica).

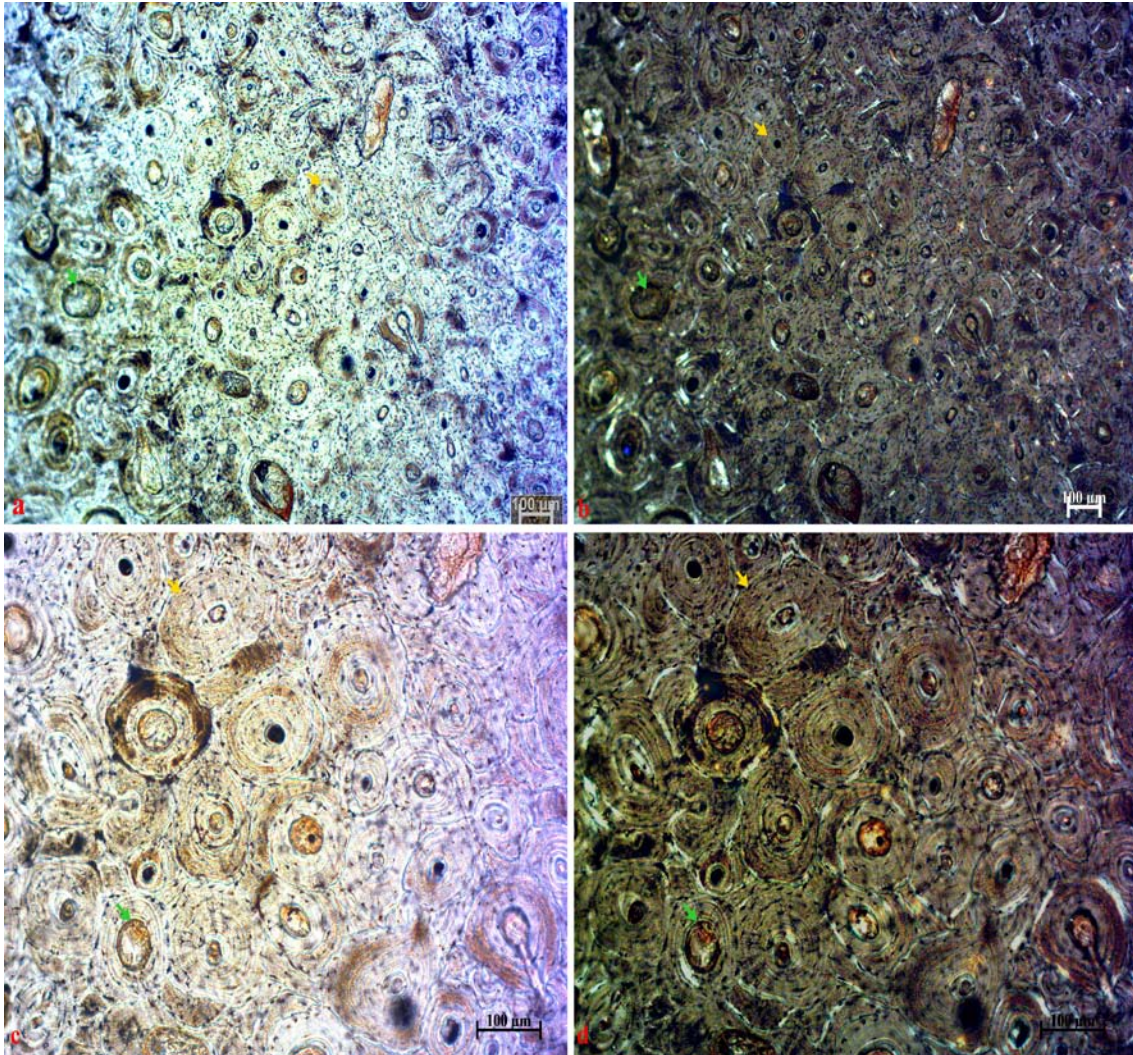
Kompakta rebara ženki druge dobne skupine (slika 30.) ispunjena je uzdužno položenim koštanim kanalima oko kojih se nalaze slojevi lamelnog koštanoga tkiva (primarni osteoni). U dijelu kompakte na prijelazu u spongiozu opažaju se prostrane resorptivne šupljine okružene lamelarnim koštanim tkivom (slika 30. b, c i d). Oko primarnih osteona opaža se relativno malo valovitog koštanog tkiva (slika 30. a, b i c). Opaža se i pojava sekundarnih osteona. Gredice spongioze su lamelarne građe.



**Slika 30.** Rebro ženke dobrog dupina oznake 216. Slike a i c transmisivno svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Valovito koštano tkivo (crvena strelica), primarni osteoni (žuta strelica), resorptivne šupljine (zelena strelica), lamelarno koštano tkivo (plava strelica), sekundarni osteoni (narančasta strelica).

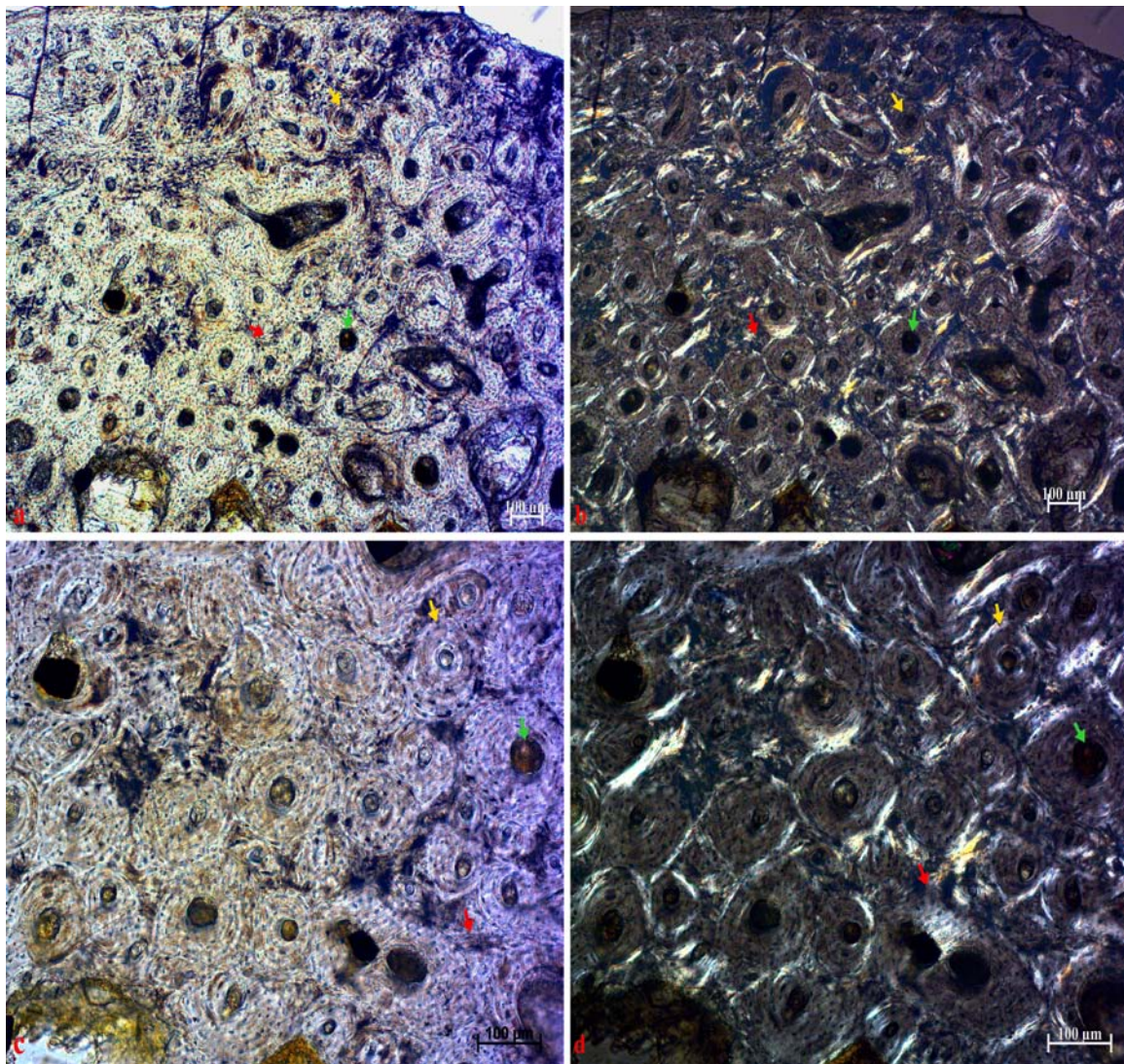
### Mikroskopski prikaz rebra dobrih dupina u dobi od 3. do 7. godine, 3. dobna skupina

Kompakta rebra mužjaka treće dobne skupine (slika 31.) ispunjena je gusto zbijenim primarnim osteonima. Oko primarnih osteona nema tragova valovitog koštanoga tkiva. Resorptivne šupljine vidljive su u dubljim dijelovima kompakte. Iako se opaža nekoliko resorptivnih šupljina, razvijeni sekundarni osteoni se rijetko opažaju. Koštano tkivo spongioze lamelarne je građe.



**Slika 31.** Rebro mužjaka dobrog dupina oznake 138. Slike a i c transmisiono svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Primarni osteoni (žuta strelica), resorptivne šupljine (zelena strelica).

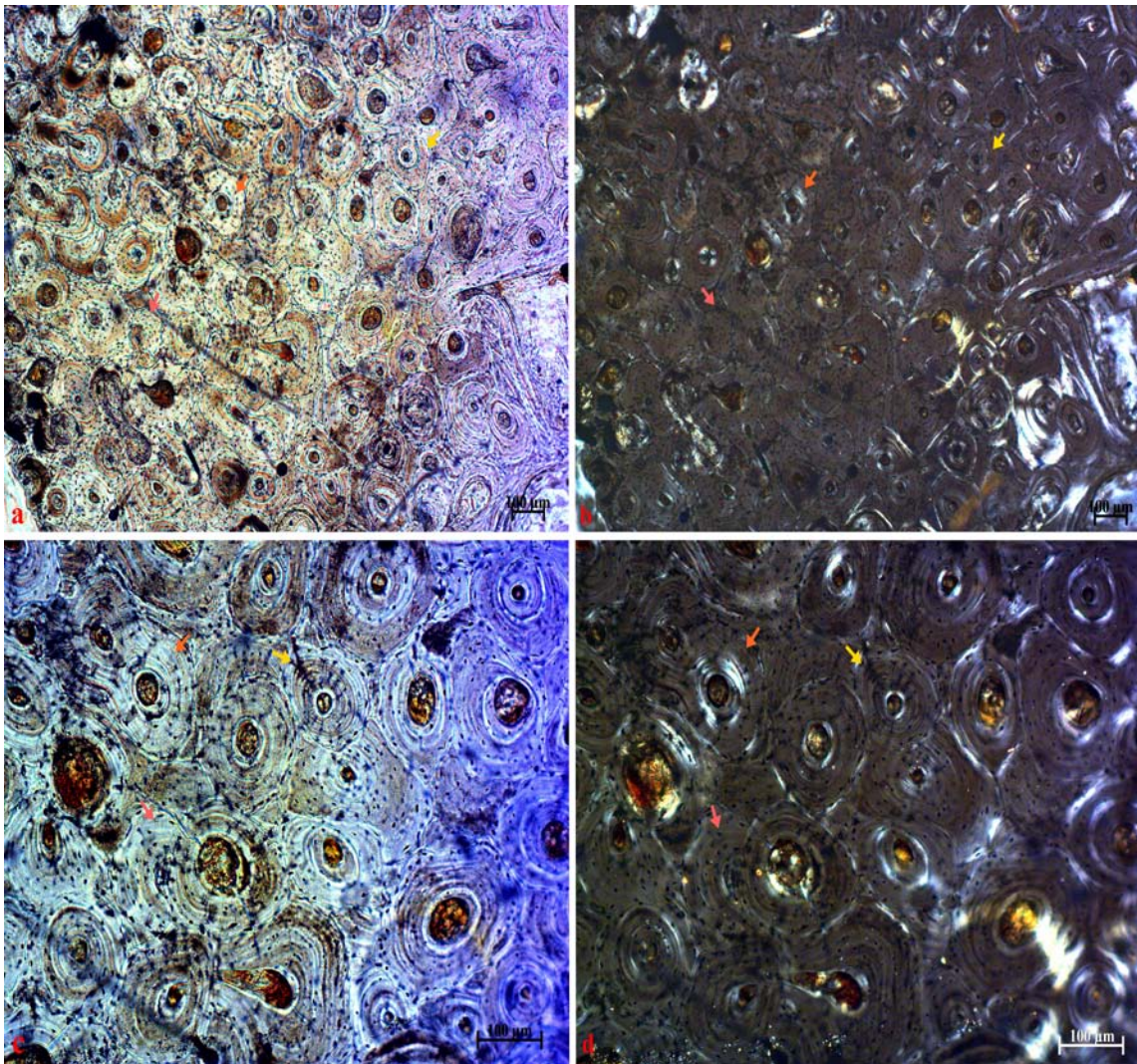
U kompakti rebra ženki treće dobne skupine (slika 32.) koštani kanali okruženi su s 6-8 koštanih lamela i čine primarne osteone. Oko primarnih osteona nalazi se relativno mala količina valovitog koštanoga tkiva. Na nekim primarnim osteonima opažaju se počeci koštane pregradnje. Sekundarni osteona rijetko su vidljivi. U gredicama spongioze uočava se lamelarno koštano tkivo.



**Slika 32.** Rebro ženke dobrog dupina oznake 128. Slike a i c transmisivno svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Primarni osteoni (žuta strelica), resorptivne šupljine (zelena strelica), valovito koštano tkivo (crvena strelica).

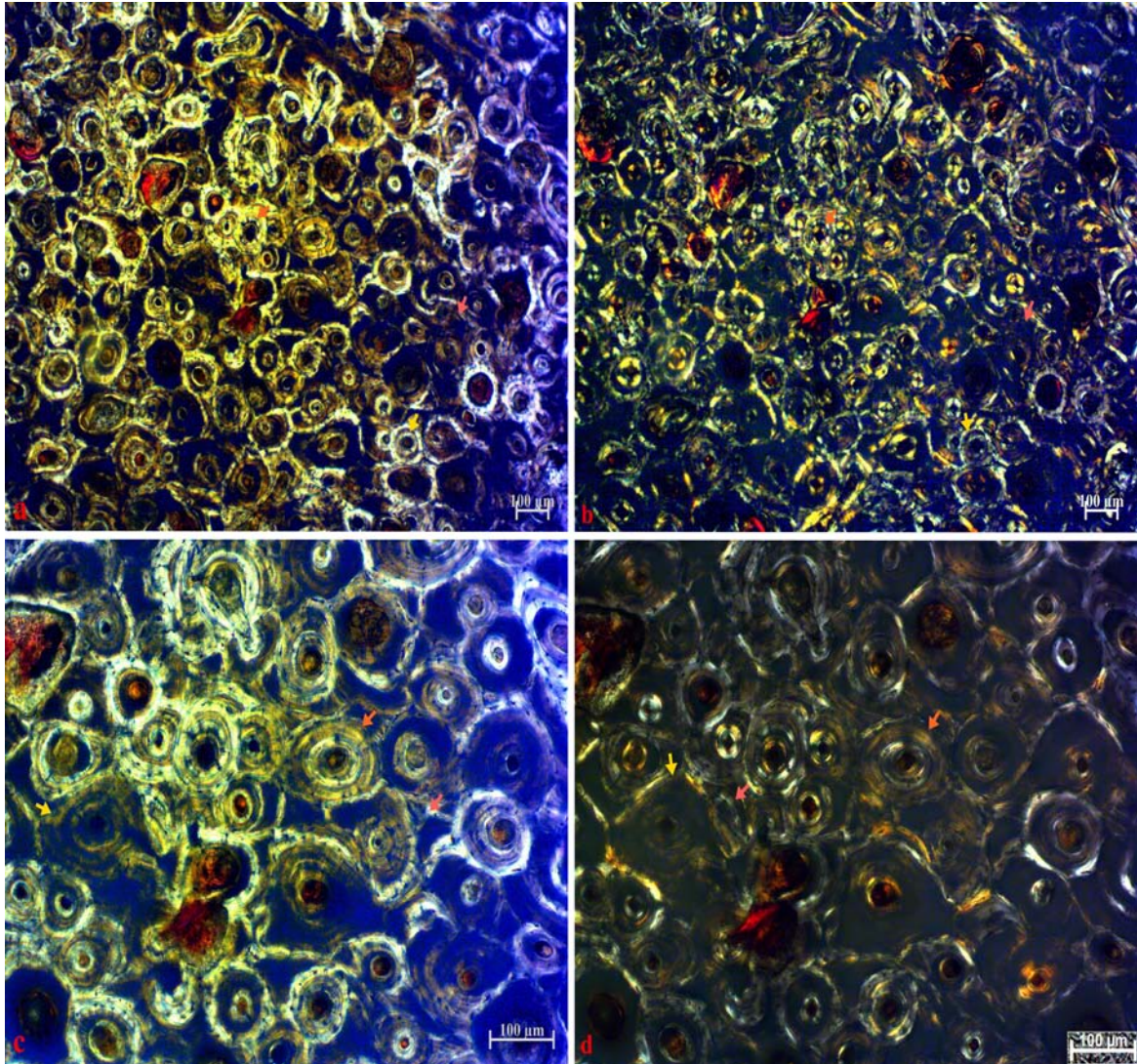
### Mikroskopski prikaz rebra dobrih dupina u dobi od 8. do 14. godine, 4. dobna skupina

Kompakta rebra mužjaka četvrte dobne skupine (slika 33.) građena je od uzdužno orijentiranih koštanih kanala okruženih lamelarnim koštanim tkivom. Većina osteona uz periost su primarni osteoni, a sekundarni osteoni (slika 33. a i b) se pojavljuju u dubljim dijelovima kompakte. Valovito koštano tkivo se ne opaža, ali se između osteona nalazi dosta međulamela. Lamelarno koštano tkivo zapaža se i u gredicama spongioze s ponekim sekundarnim osteonom.



**Slika 33.** Rebro mužjaka dobrog dupina oznake 100. Slike a i c transmisiono svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Primarni osteoni (žuta strelica), sekundarni osteoni (narančasta strelica), međulamela (ružičasta strelica).

Kompakta rebra ženke četvrte dobne skupine (slika 34.) izgrađena je od gusto zbijenih osteona. Pored primarnih opaža se i veliki broj sekundarnih osteona. Valovitog koštanoga tkiva nema, ali se između osteona nalaze međulamele preostale nakon koštane pregradnje. U gredicama spongioze zapaža se lamelarno koštano tkivo sa rijetkim sekundarnim osteonima.

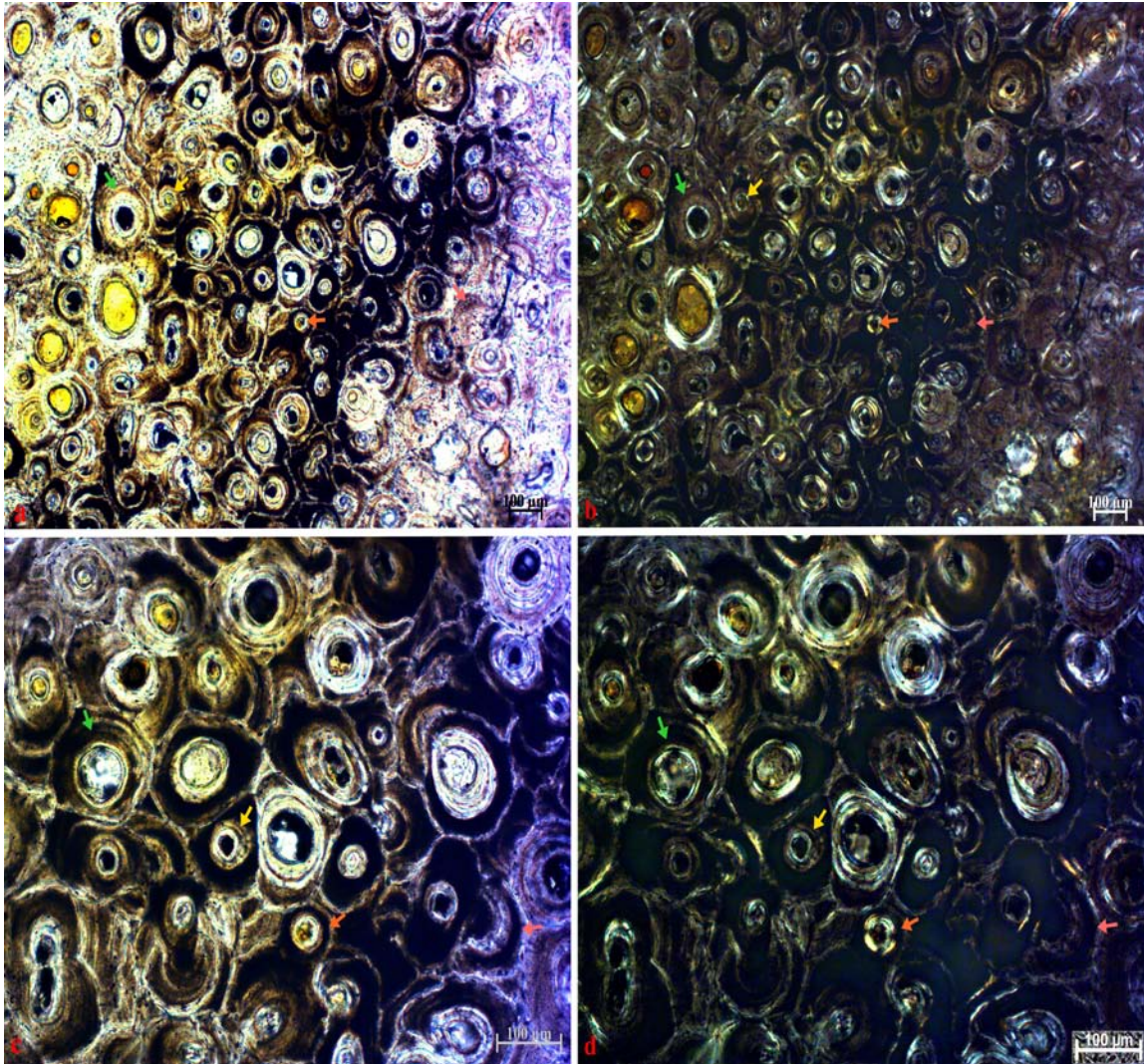


**Slika 34.** Rebro ženke dobrog dupina oznake 83. Slike a i c transmisivno svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Primarni osteoni (žuta strelica), sekundarni osteoni (narančasta strelica), međulamele (ružičasta strelica).



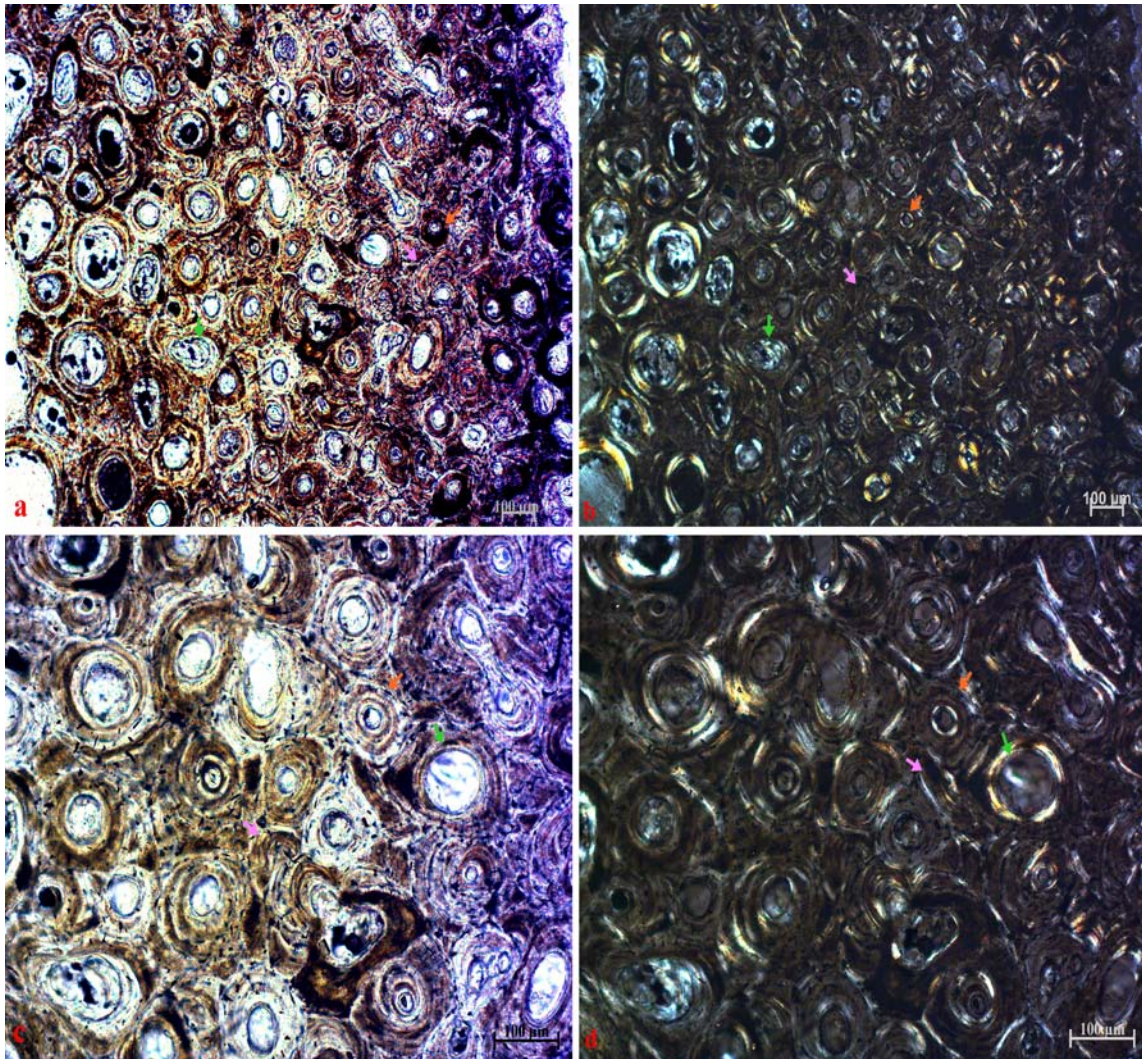
### Mikroskopski prikaz rebra dobrih dupina starijih od 14 godina, 5. dobna skupina

Kompaktni dio rebra mužjaka pete dobne skupine (slika 35.) građen je od gusto zbijenih osteona s uzdužno orijentiranim koštanim kanalima. Pored primarnih i sekundarnih osteona opaža se veći broj osteona u pregradnji (zelena strelica) s izrazito širokim koštanim kanalima. Prostor između lamela popunjavaju međulamele, dok valovitog koštanog tkiva nema. Gredice spongioze građene su od lamelarnog koštanog tkiva.



**Slika 35.** Rebro mužjaka dobrog dupina oznake 64. Slike a i c transmisivno svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Primarni osteoni (žuta strelica), sekundarni osteoni (narančasta strelica), međulamele (ružičasta strelica), osteoni u pregradnji (zelena strelica)

Kompaktom rebra ženke pete dobne skupine (slika 36.) dominiraju sekundarni osteoni okruženi međulamelama kao ostacima koštane pregradnje. U dubljim dijelovima kompakte opažaju se resorptivne šupljine. Spongioza je građena od lamelnog koštanog tkiva. Gredice u spongiozi građene su od lamelnog koštanog tkiva s rijetkim sekundarnim osteonima.



**Slika 36.** Rebro ženke dobrog dupina oznake 203. Slike a i c transmisivno svjetlo, b i d polarizirano svjetlo. Sekundarni osteoni (narančasta strelica), međulamele (ružičasta strelica), resorptivne šupljine (zelena strelica).

## 5.2. Histomorfometrijska mjerenja rebra i nadlaktične kosti dobrog dupina

### 5.2.1. Rezultati mjerenja površine kompakte i spongioze rebra

Površina kompakte i spongioze izmjerena je u rebru 29 dupina nasumično odabranih iz svih dobnih skupina. Najmlađe jedinke u oba spola imale su manje od godine dana, dok je najstariji mužjak imao 27 godina, a ženka 21 godinu. Razlike u dobnjoj strukturi između nasumično odabranih mužjaka i ženki dupina nisu statistički značajne (tablica 5).

**Tablica 5:** Dob istraženih dupina

spol	n	Median/godine	Min.	Maks.	p
M	13	6	<1	27	0,427
Ž	16	4	<1	21	

U prvoj dobnjoj skupini dupina na presjeku rebra kompakta ravnomjerno okružuje spongiozu koja je umjereno razvijena u središtu presjeka. Koštane gredice u spongiozi gusto su raspoređene (slika 37.).



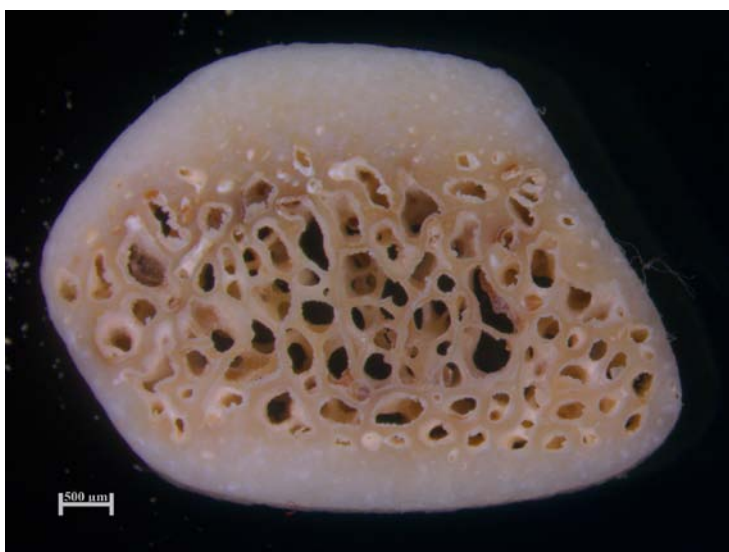
**Slika 37.** Presjek rebra dupina 2 iz 1. dobne skupine

U drugoj dobnoj skupini na presjeku rebra kompakta je naglašenija na lateralnom i medijalnom djelu rebra, dok je s kranijalne i kaudalne strane za trećinu tanja. Gredice u spongoizi rjeđe su nego na presjeku rebra dupina iz 1. dobne skupine (slika 38.).



**Slika 38.** Presjek rebra dupina 107 iz 2. dobne skupine

Presjek rebra dupina iz 3. dobne skupine obiluje spongioznim koštanim tkivom s vrlo rijetkim gredicama. Kompakta je oko dva puta deblja na lateralnoj strani nego na medijalnoj strani. Na kranijalnoj i kaudalnoj strane kompakta je oko četiri puta tanja nego na lateralnoj strani (slika 39.).



**Slika 39.** Presjek rebra dupina 128 iz 3. dobne skupine

Na presjeku rebra dupina iz 4. dobne skupine uočava se prorijeđena spongioza s malo gredica. Kompakta je jednako debela na lateralnoj i medijalnoj strani rebra, dok se na kranijalnoj i kaudalnoj strani uočava zadebljanje kompakte oko dva puta u odnosu na kompaktu rebra dupina iz 3. dobne skupine (slika 40.).



**Slika 40.** Presjek rebra dupina 17 iz 4. dobne skupine

Presjek rebra dupina iz 5. dobne skupine obiluje kompaktom koja je izrazito zadebljana na lateralnoj strani, s medijalne strane je za trećinu tanja. S kranijalne i kaudalne strane kompakta je u odnosu na lateralnu stranu dvostruko tanja. Spongioza sadrži rijetke gredice (slika 41.).

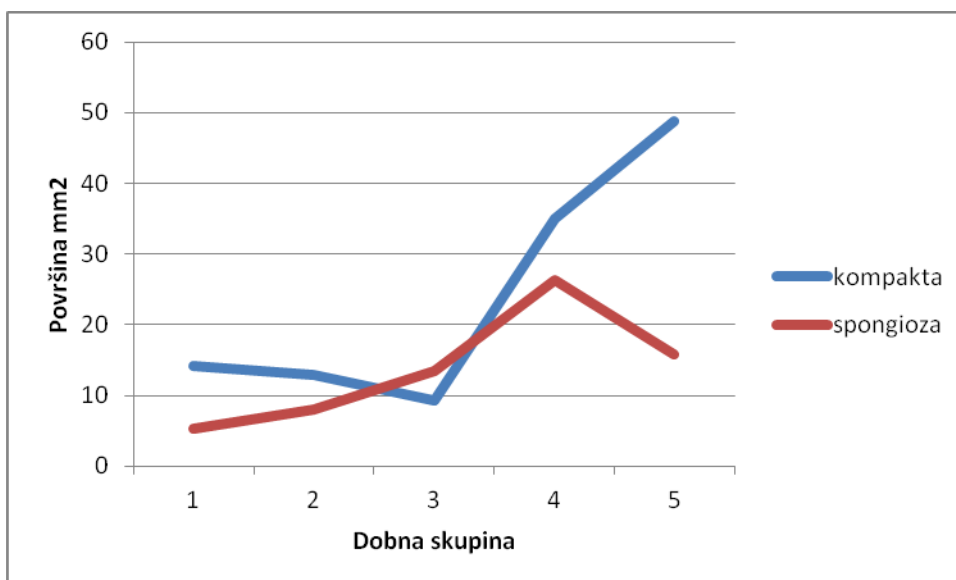


**Slika 41.** Presjek rebra dupina 51 iz 5. dobne skupine

Vrijednosti površine kompakte i spongoize u rebru dobrog dupina mijenjanju se s dobi (tablica 6.). Površina kompakte smanjuje se u prve tri dobne kategorije (do 7 godina), a zatim raste s povećanjem dobi. To povećanje posebno je istaknuto između dupina kategorije 3 i 4, tj. dobi od 4- 7 godina i 8-14 godina. Dupini 4. dobne skupine imaju gotovo trostruko veću površinu kompakte nego dupini 3. dobne skupine. Površina spongoize se povećava s dobi do 4. dobne skupine, nakon čega se smanjuje za gotovo pola svoje vrijednosti dosegnute u dupina 3. dobne skupine (slika 42.). Promjena vrijednosti površina kopakte i spongioze prema dobnim skupinama statistički je značajna.

**Tablica 6.** Površine kompakte i spongioze rebra dobrog dupina

Dobna skupina	n		Udio u površini	Srednja vrijednost (mm <sup>2</sup> )	SD	Medijan	Min.	Maks.
1	6	kompakta	73%	14,25	2,39	19,85	15,5	22,38
		spongioza	27%	5,34	1,48	5,19	3,67	7,11
2	6	kompakta	62%	12,97	3,59	20,94	15,38	26,68
		spongioza	38%	8,07	2,41	8,23	4,02	11,29
3	7	kompakta	41%	9,23	7	21,27	13,82	36,98
		spongioza	59%	13,45	4,09	14,73	5,93	17,67
4	5	kompakta	57%	34,94	48,96	30,97	24,27	129,11
		spongioza	43%	26,37	24,59	15,44	10,38	69,29
5	5	kompakta	76%	48,75	57,59	25,29	22,48	148,92
		spongioza	24%	15,75	10,66	11,51	6,79	33,71
P (Kruskall-Wallis)		kompakta	0,02					
		spongioza	0,00					



**Slika 42.** Promjene površina kompakte i spongioze rebra dobrog dupina u odnosu na dob

Međodnos površine kompakte i spongioze rebra prikazan je količnikom dobivenim dijeljenjem površine kompakte s površinom spongioze. Ovaj je količnik poput brojčanih komponenti iz kojih je računom dobiven, linearno povezan s dobnim skupinama dupina. U prve tri kategorije vrijednost mu pada, dok u dupina starijih od 7 godina ponovno raste (tablica 7.). Razlike u odnosima površina kompakte i spongioze statistički su značajne. Dobivene vrijednosti stratificirane su u slijedećim tablicama.

**Tablica 7.** Odnos površine kompakte i spongioze u rebru dobrog dupina

Dobna skupina	n	SV±SD	Min.	Maks.
1	6	2,82±0,73	2,06	4,02
2	6	1,78±0,77	0,83	2,82
3	7	0,75±0,38	0,27	1,33
4	5	1,43±0,9	0,86	3
5	5	3,01±2,81	1,2	7,92
p		0,004		

SV-srednja vrijednost, SD-standardna devijacija

Starenjem dupina površina kompakte rebra se statistički značajno linearno povećava u muških jedinki dok se u ženki smanjuje, ali ne statistički značajno. Svaki porast dobi za jednu godinu dovodi do povećanja površine kompakte u mužjaka za 16,4 puta (tablica 8.).

**Tablica 8.** Linearni odnos površine kompakte rebra s dobi i spolom dobrog dupina

spol	n	Faktor regresije	p
svi	29	8,78	0,01
Ž	16	-0,45	0,55
M	13	16,4	0,02

Starenjem dupina površina spongioze rebra se statistički linearno povećava. Odvojenom analizom po spolu životinja utvrđena je pozitivna linearna povezanost površine spongioze i dobi u oba spola, iako je samo u ženki ova povezanost statistički značajna. Svaki porast dobi za godinu dana dovodi do povećanja prosječne površine spongioze u ženki za 2,16 puta (tablica 9.).

**Tablica 9.** Linearni odnos površine spongioze rebra s dobi i spolom dobrog dupina

spol	n	Faktor regresije	p
svi	29	3,96	0,02
Ž	16	2,16	0,01
M	13	5,16	0,15

U mužjaka odnos površina kompakte površina spongioze raste sa starošću, što znači da se starenjem mužjaka povećava površina kompakte, a površina spongioze se smanjuje. Taj porast vrijednosti odnosa površina kompakte površina spongioze nije statistički značajan. Porast dobi za jednu godinu u ženki dupina dovodi do povećanja površine spongioze nauštrb površine kompakte za 0,57. Smanjenje vrijednosti odnosa površina kompakte površina spongioze u ženki statistički je značajano (tablica 10.).



**Tablica 10.** Linearna povezanost odnosa površina kompakte:površina spongioze s dobi i spolom dobrog dupina

spol	n	Faktor regresije	p
svi	29	-0,03	0,89
Ž	16	-0,57	0,00
M	13	0,48	0,23

### 5.2.2. Rezultati mjerenja površine osteona, broja lamela i gustoće osteona

Prosječna površina primarnog osteona u svih kategorija dobrog dupina oba spola u nadlaktičnoj kosti je  $0,66 \times 10^4 \mu\text{m}^2$  dok je u rebru veća i iznosi  $0,76 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ . Za razliku od primarnih osteona, sekundarni osteoni imaju u nadlaktičnoj kosti veću površinu ( $1,36 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ ) nego u rebru ( $1,31 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ ). Razlike u veličini površine primarnih i sekundarnih osteona u pojedinim kostima nisu statistički značajne (tablica 11.).

**Tablica 11.** Površina primarnih i sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti i rebru dobrog dupina

		Nadlaktična kost		Rebro		p
		n	SV $\pm$ SD $\times 10^4 \mu\text{m}^2$	n	SV $\pm$ SD $\times 10^4$ $\mu\text{m}^2$	
Površina/ $\mu\text{m}^2$	Primarni osteon	27	0,66 $\pm$ 0,27	62	0,76 $\pm$ 0,37	0,19
	Sekundarni osteon	57	1,36 $\pm$ 0,38	80	1,31 $\pm$ 0,35	0,45

SV – srednja vrijednost, SD – Standardna devijacija

Površina primarnih osteona u rebru linearno se smanjuje sa starošću u dobrim dupina oba spola, ali ove razlike nisu statistički značajne. U nadlaktičnoj kosti odnos površine primarnih osteona i dobi nije jednak u oba spola. Naime, u nadlaktičnoj kosti muškarača površina primarnih osteona linearno se smanjuje s dobi (statistička značajnost  $p=0,09$ ), dok se u ženki površina primarnih osteona u nadlaktičnoj kosti povećava sa starošću, no ovo povećanje nije statistički značajno (tablica 12.).

**Tablica 12.** Linearni odnos površine primarnih osteona s dobi i spolom dobrog dupina

spol	n	kost	Koeficijent regresije	p
Ž	13	H	171,82	0,15
M	14	H	-232,48	0,09
Ž	34	R	-93,10	0,11
M	28	R	-198,82	0,05

H-Nadlaktična kost, R-Rebro

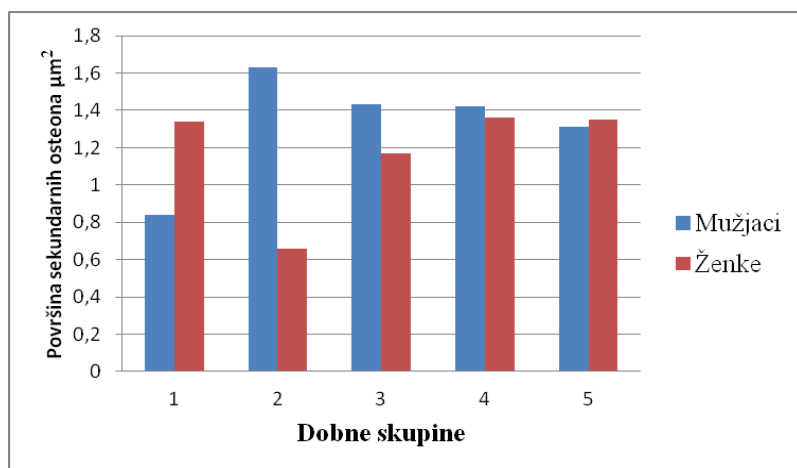
Površina sekundarnih osteona u rebru oba spola linearno se povećava s dobi. Nasuprot tome, površina sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti oba spola smanjuje se sa starošću (tablica 13.).

**Tablica 13.** Linearni odnos površine sekundarnih osteona s dobi i spolom dobrog dupina

spol	n	kost	Koeficijent regresije	p
Ž	30	H	-32,45	0,76
M	27	H	-89,52	0,42
Ž	45	R	101,09	0,14
M	35	R	62,43	0,45

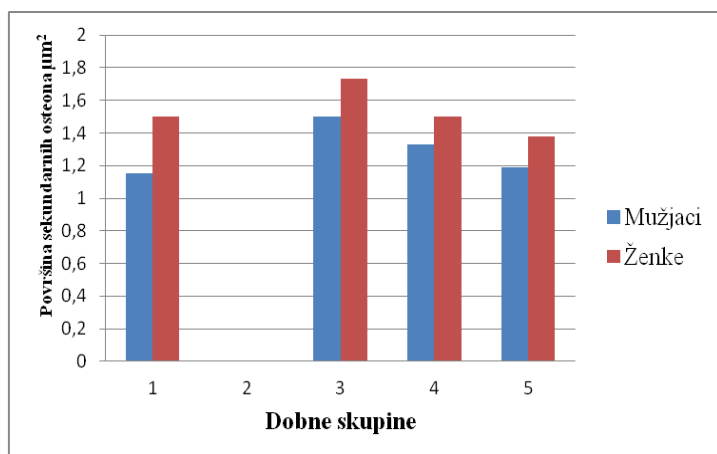
H-Nadlaktična kost, R-Rebro

Uzimajući u obzir pojedine dobne skupine, zamjećuju se znatne promjene u površini sekundarnih osteona. Tako je površina sekundarnih osteona u rebru ženki dobrih dupina (slika 43.) u prvoj dobnoj skupini veća od površine sekundarnih osteona mužjaka ( $1,3 \times 10^4 \mu\text{m}^2$  u ženki, a  $0,84 \times 10^4 \mu\text{m}^2$  u mužjaka). U drugoj dobnoj skupini, dolazi do obrata, te prosječne površine sekundarnih osteona u muškom rebru iznose  $1,63 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ , a u ženskom  $0,66 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ . Povećanjem dobne skupine prosječne površine sekundarnih osteona se ujednačuju te u 5. dobnoj skupini vrijednosti površina su gotovo jednake (mužjaci  $1,31 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ , ženke  $1,38 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ ).



**Slika 43.** Prosječna površina sekundarnih osteona u rebru dobrog dupina

Prosječne površine sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti (slika 44.) u prvoj dobnoj skupini nešto su manje nego u višim starosnim skupinama (mužjaci  $1,15 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ , ženke  $1,5 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ ). Starenjem prosječne površine sekundarnih osteona se najprije povećavaju do 3. starosne skupine i u mužjaka i u ženki, da bi se povećanjem dobi te prosječne vrijednosti smanjile i u 5. starosnoj skupini iznosile u mužjaka  $1,19 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ , a u ženki  $1,38 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ . Prosječna površina sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti ženki u svim starosnim skupinama veća je nego u mužjaka. Podaci za prosječne površine sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti dupina druge skupine nedostaju zbog nemogućnosti točnog mjerenja.



**Slika 44.** Prosječna površina sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti dobrog dupina

Broj lamela u primarnim osteonima prosječno je 5,7 u nadlaktičnoj kosti, a u rebru 6. U sekundarnom osteonu nadlaktične kosti prosječno ima 9 lamela, a u sekundarnom osteonu rebra 8,9 lamela. Razlika u broju lamela u primarnim i sekundarnim osteonima nije statistički značajna (tablica 14.).

**Tablica 14.** Broj lamela u primarnom i sekundarnom osteonu u nadlaktičnoj kosti i rebru dobrog dupina

		Nadlaktična kost		Rebro		p
		n	SV ± SD	n	SV ± SD	
Broj lamela	Primarni osteon	26	5,74±1,19	59	6,03±1,30	0,31
	Sekundarni osteon	54	9±1,10	79	8,92±1,01	0,68

SV – srednja vrijednost, SD – Standardna devijacija

Prosječni porast dobi ženki dupina za jednu dobnu skupinu vodi k prosječno manjem broju lamela u primarnom osteonu rebra za 0,04. Blaga, statistički značajna linearna povezanost povećanja broja lamela u primarnom osteonu nadlaktične kosti s dobi dupina zamijećena je u mužjaka ( $p=0,06$ ) (tablica 15.).

**Tablica 15.** Linearni odnos broja lamela u primarnom osteonu s dobi i spolom dobrog dupina

spol	n	kost	Koeficijent regresije	p
Ž	39	H	0,03	0,66
M	42	H	0,12	0,06
Ž	43	R	-0,05	0,01
M	48	R	-0,04	0,29

H-Nadlaktična kost, R-Rebro

Smanjenje broja lamela u sekundarnom osteonu nadlaktične kosti ženki dupina s povećanjem dobi je statistički značajno. Prosječni porast dobi za jednu dobnu skupinu dovodi do prosječnog smanjenja broja lamela za 0,1 (tablica 16.).

**Tablica 16.** Linearni odnos broja lamela u sekundarnom osteonu s dobi i spolom dobrog dupina

spol	n	kost	Koeficijent regresije	p
Ž	13	H	-0,11	0,00
M	14	H	0,03	0,50
Ž	34	R	0,02	0,23
M	28	R	0,03	0,24

H-Nadlaktična kost, R-Rebro

Gustoća primarnih osteona u nadlaktičnoj kosti dupina je 8,1, a u rebru je gotovo dvostruko veća i iznosi 15,7. Ova razlika u broju osteona po jedinici površine je nešto manja za sekundarne osteone kojih je u nadlaktičnoj kosti 12,5, dok ih u rebru ima 16,1. Gustoća osteona u pregradnji u nadlaktičnoj kosti iznosi 7,9 dok je u rebru taj broj 9,7. Opažene razlike u gustoći primarnih osteona i osteona u pregradnji po jedinici površine

između nadlaktične kosti i rebra dupina statistički su značajne. Veća gustoća primarnih osteona, sekundarnih osteona i osteona u pregradnji u rebru nego u nadlaktičnoj kosti nije statistički značajan (tablica 17.). Razlika u broju osteona između rebra i nadlaktične kosti statistički je značajna za primarne osteone i osteone u pregradnji.

**Tablica 17.** Gustoća osteona u nadlaktičnoj kosti i rebru dobrog dupina

		Nadlaktična kost		Rebro		p
		n	SV ± SD	n	SV ± SD	
Broj osteona /mm <sup>2</sup>	Primarni osteoni	81	8,05±10,7	91	15,67±18,82	0,01
	Sekundarni osteoni	81	12,45±10,83	91	16,13±14,02	0,36
	Osteoni u pregradnji	81	7,9±4,8	91	9,73±4,78	0,01

SV – srednja vrijednost, SD – standardna devijacija

S porastom dobi dobrog dupina dolazi do smanjenja gustoće primarnih osteona. Ovo smanjenje gustoće primarnih osteona uočeno je u oba spola i u nadlaktičnoj kosti i u rebru i statistički je značajno (tablica 18.).

**Tablica 18.** Linearni odnos gustoće primarnih osteona s dobi i spolom dobrog dupina

spol	n	kost	Koeficijent regresije	p
Ž	13	H	-0,59	0,00
M	14	H	-0,6	0,00
Ž	34	R	-0,98	0,00
M	28	R	-1,42	0,00

H-Nadlaktična kost, R-Rebro

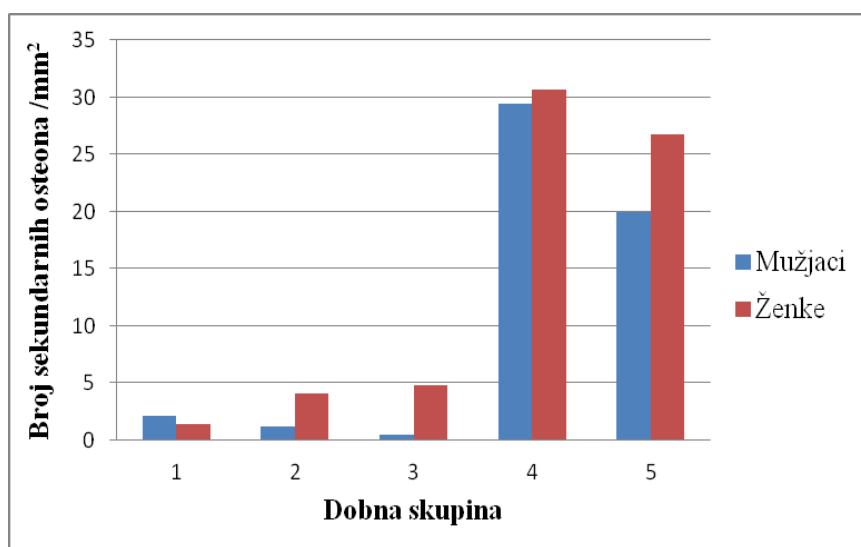
Suprotno od gustoće primarnih osteona, gustoća sekundarnih osteona raste s dobi. Povećanje gustoće sekundarnih osteona s porastom dobi dobrih dupina u nadlaktičnoj kosti i rebru oba spola statistički je značajno (tablica 19.).

**Tablica 19.** Linearni odnos gustoće sekundarnih osteona s dobi i spolom dobrog dupina

spol	n	kost	Koeficijent regresije	p
Ž	42	H	0,60	0,00
M	39	H	0,44	0,00
Ž	43	R	0,69	0,00
M	48	R	0,82	0,00

H-Nadlaktična kost, R-Rebro

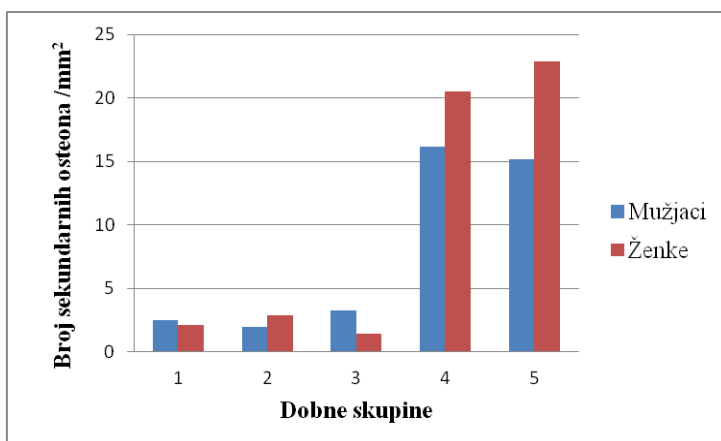
Prosječna gustoća sekundarnih osteona u rebru dobrog dupina u najmlađih dobnih skupina pada u mužjaka, a u ženki raste do 4. dobnje skupine. Značajan rast broja sekundarnih osteona pojavljuje se u mužjaka i ženki u 4. dobnjoj skupini (u mužjaka 29,4; u ženki 30,7), da bi se u 5. dobnjoj skupini gustoća sekundarnih osteona opet se smanjila i iznosila 19,9 u mužjaka i 26,8 u ženki dupina (slika 45.).



**Slika 45.** Prosječna gustoća sekundarnih osteona u rebru dobrog dupina

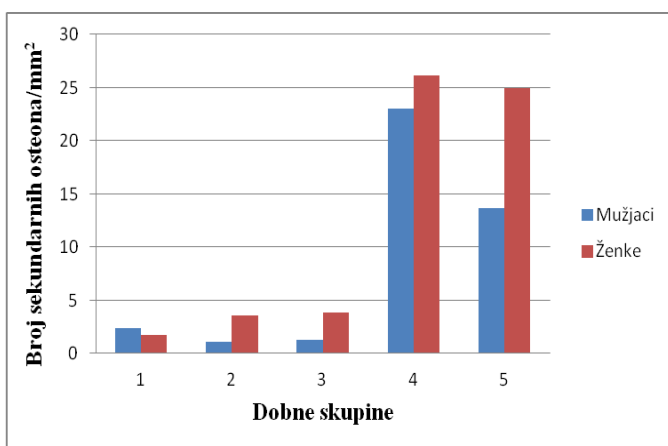
Gustoća sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti u prve tri dobnje skupine dupina u oba spola je ujednačena i kreće se oko 4 sekundarna osteona/ mm<sup>2</sup>. U 4. dobnjoj skupini broj sekundarnih osteona raste u oba spola (u mužjaka 16,13; u ženki 20,51), da bi u 5.

dobnoj skupini dosegao prosječnu vrijednost u ženki od 22,9, a u mušjaka 15,2 sekundarna osteona na  $\text{mm}^2$  (slika 46.).



**Slika 46.** Gustoća sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti dobrog dupina

Ako se uzmu u obzir rezultati gustoće sekundarnih osteona u obje kosti, dobiva se da je gustoća sekundarnih osteona u ženki dobrog dupina općenito veća od one u mušjaka i to u svim starosnim skupinama. Izuzetak je prva dobna skupina gdje je u mušjaka nešto veća gustoća sekundarnih osteona (mušjaci  $2,3/\text{mm}^2$ ; ženke  $1,7/\text{mm}^2$ ). U petoj starosnoj skupini gustoća sekundarnih osteona u ženki dobrog dupina je značajno veća nego u mušjaka (ženke  $25,0/\text{mm}^2$ ; mušjaci  $13,6/\text{mm}^2$ ) (slika 47.).



**Slika 47.** Gustoća sekundarnih osteona u rebru i nadlaktičnoj kosti dobrog dupina

Gustoća osteona u pregradnji raste s dobi dobrog dupina, a taj porast je statistički značajan u nadlaktičnoj kosti obaju spolova te u rebru ženki. U rebru mušjaka gustoća



osteona u pregradnji s dobi se smanjuje, ali to smanjenje nije statistički značajno (tablica 20.).

**Tablica 20.** Linearni odnos gustoće osteona u pregradnji s dobi i spolom dobrog dupina

spol	n	kost	Koeficijent regresije	p
Ž	39	H	0,28	0,00
M	42	H	0,13	0,00
Ž	48	R	0,24	0,00
M	43	R	-0,02	0,72

H-Nadlaktična kost, R-Rebro

Opažene razlike u vrijednostima površine primarnih osteona, broja lamela u primarnim i sekundarnim osteonima te gustoći primarnih i sekundarnih osteona i osteona u pregradnji između pojedinih dobnih skupina izrazito su statistički značajne, osim površine sekundarnih osteona koja se neznatno razlikuje između dobnih skupina ( $p=0,07$ ). Kostí sa starošću imaju više sekundarnih osteona i osteona u pregradnji. Površina primarnih osteona se smanjuje, a sekundarnih osteona se povećava. Broj lamela u primarnim osteonima smanjuje se sa povećanjem dobne skupine, a u sekundarnim osteonima broj lamela se povećava (tablica 21.).

**Tablica 21.** Površine osteona, broja lamela i gustoća osteona po dobnim skupinama dobrog dupina

Varijabla	Dobna skupina dupina					
	1	2	3	4	5	p
Površina primarnih osteona x 10 <sup>4</sup> μm <sup>2</sup> (SV, SD, n,)	0,83±0,19 (9)	0,32±0,44 (11)	0,56±0,17 (10)	0,51±0,10 (12)	0,67±0,25 (47)	0,00*
Površina sekundarnih osteona x 10 <sup>4</sup> μm <sup>2</sup> (SV, SD, n)	1,21±0,70 (11)	0,90±0,52 (4)	1,38±0,32 (22)	1,40±0,35 (40)	1,32±0,26 (60)	0,08*
Broj lamela u primarnom osteoni (SV, SD, n)	6,22±0,44 (9)	7,9±0,9 (10)	5,11±0,60 (9)	4,56±0,53 (9)	5,90±1,01 (48)	0,00*
Broj lamela u sekundarnom osteonu (SV, SD, n)	7,5±1,20 (8)	7,75±0,5 (4)	8,95±0,90 (22)	9,77±1,01 (39)	8,7±0,65 (60)	0,00*
Broj primarnih osteona (medijan, min.-mks., n) / mm <sup>2</sup>	28,3 0 – 67 (23)	24,7 7,3 – 52 (22)	26 9 - 47 (25)	0 0 – 2,6 (41)	1 0 – 4,6 (61)	0,00**
Broj sekundarnih osteona (medijan, min.-maks., n) / mm <sup>2</sup>	1,3 0-6 (23)	1,2 0-14,7 (22)	0,6 0-15,3 (25)	23,3 3-45,7 (41)	33 0-53 (61)	0,00**
Broj osteona u pregradnji (SV, SD, n) / mm <sup>2</sup>	1,49±1,59 (23)	4,45±1,56 (22)	5,05±2,12 (25)	6,05±1,90 (41)	6,70±3,16 (61)	0,00*

\*analiza varijance; \*\*Kruskal-Wallis

SV – srednja vrijednost, SD – standardna devijacija

### 5.2.3 Opisi lakuna i rezultati mjerenja

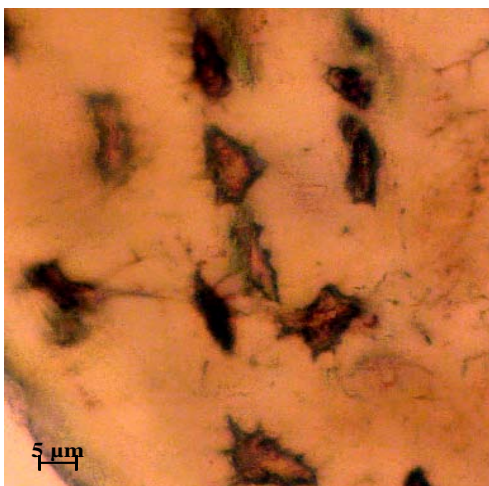
U promatranim fragmentima kostiju dobrog dupina uočeni su različiti oblici lakuna: zvjezdaste, elipsoidne i izduženo elipsoidne (slike 48, 49 i 50.). Na fragmetima kostiju dobrog dupina prevladavaju elipsoidne lakune s dobro vidljivim dugačkim kanalikulima koji se radijalno šire iz lakune (slike 48, 49 i 50.). Kanalikuli nisu gusto raspoređeni. Dužina lakuna kreće se od 3,4 do 30,9  $\mu\text{m}$  sa srednjom vrijednošću od 13,64  $\mu\text{m}$ , a širina 1,3 do 14,2  $\mu\text{m}$  sa srednjim vrijednošću od 6,2  $\mu\text{m}$  (tablica 22.). Lakune su u koštanom fragmentu rijetko raspoređene.

**Tablica 22.** Veličine lakuna ukupno

	Dužina/ $\mu\text{m}$	Širina/ $\mu\text{m}$
Srednja vrijednost	13,64	6,18
Standardna devijacija	6,74	2,99
Medijan	13,29	6
Min.	3,40	1,29
Maks.	30,94	14,18



**Slika 48.** Koštane lakune različitih oblika dobrog dupina (fragment kosti dupina 198)

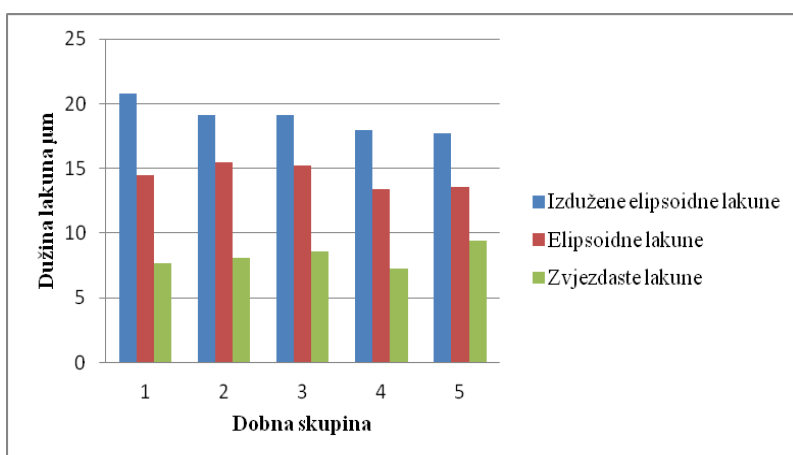


**Slika 49.** Koštane lakune različitih oblika dobrog dupina (fragment kosti dupina 17)



**Slika 50.** Koštane lakune različitih oblika dobrog dupina (fragment kosti dupina 108)

Dužina pojedinog tipa lakune ne mjenja se statistički značajno s dobi dupina (slika 45.).



**Slika 51.** Dužine pojedinih tipova lakuna po dobnim skupinama dupina

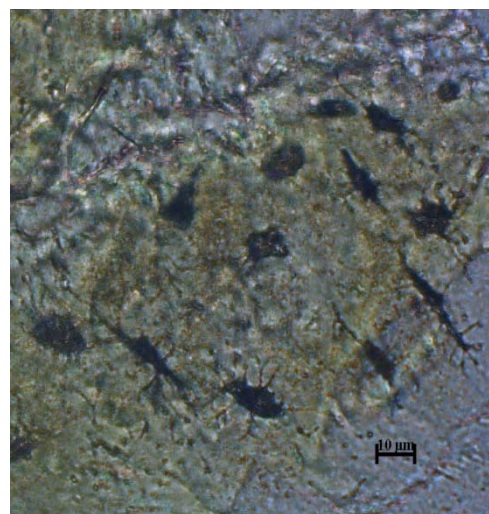
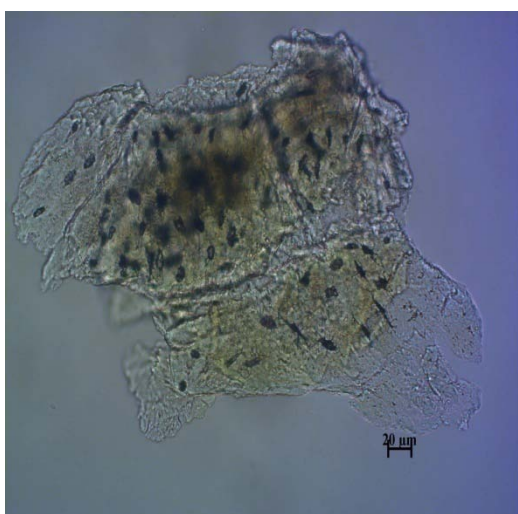
Svi tipovi koštanih lakuna duži su u ženki, ali te spolne razlike nisu statistički značajne (tablica 23.).

**Tablica 23.** Prosječne dužine pojedinih tipova lakuna

Tip lakune / spol	Izdužene elipsoidne/ $\mu\text{m}$ (n=9)	Elipsoidne/ $\mu\text{m}$ (n=10)	Zvezdaste/ $\mu\text{m}$ (n=10)
M (SV, SD)	17,17 $\pm$ 4,39	14,14 $\pm$ 3,01	7,92 $\pm$ 1,76
Ž (SV, SD)	20,30 $\pm$ 4,42	14,75 $\pm$ 2,2	8,46 $\pm$ 0,84
p	0,15	0,61	0,39

SV – srednja vrijednost, SD – standardna devijacija

Na slici 52. prikazan je fragment kosti dobrog dupina na kojem se vidi rijetka gustoća lakuna.



**Slika 52.** Fragment kosti dupina

## **6. RASPRAVA**

## 6.1. Odnos kompakte i spongioze u nadlaktičnoj kosti i rebru

Različite vrste životinja na različite su se načine prilagođavale uvjetima života i dobavljanja hrane. Koštano tkivo je pri tome doživjelo velike promjene jer je ono nositelj cijelog organizma. Kopneni sisavci imaju kosti udova cilindrične građe s debelim slojem kompakte periferno i velikom šupljinom koštane srži centralno. Takva cjevasta građa dugih kostiju čini ih tvrdima i otpornima na savijanje (CURREY, 2003.). Da bi lakše letjele, ptice imaju kosti s tankom kompaktom, međutim, spongioza im je izrazito čvrsta i ispunjena zrakom (de MARGERIE, 2002.). Za razliku od ptica i kopnenih sisavaca, morski sisavci ovisno o načinu hranjenja imaju s jedne strane, vrlo voluminozne i masivne kosti bez medularne šupljine (morske krave) (de BUFFRÉNIL i sur., 2008.), ili pak s druge strane, porozne kosti u kojima se jedva raspoznaje kompakta od spongioze (dupini) (LAURIN i sur., 2007.). Gmazovi su prema građi kostiju između morskih krava i dupina (de RICQLES i de BUFFRÉNIL, 2001.). Relativna masa kostura današnjih kitova, znatno je manja od relativne mase kostiju kopnenih sisavaca iste veličine u odnosu na njihovu ukupnu tjelesnu masu (de BUFFRÉNIL i sur., 1985.). Osteoporotične kosti ekstremiteta i rebara kitova karakterizira smanjenje debljine kopakte i proširena medularna šupljina koja je ispunjena spongioznim koštanim tkivom (de RICQLES i de BUFFRÉNIL, 2001.).

U objavljenim istraživanjima rebro dupina opisano je samo u jednom od stadija tjelesnog razvoja. Prema dostupnoj literaturi dosada nije promatran rast i razvoj rebra dupina i promjene koje se pritom dešavaju u građi kosti. De RICQLES i de BUFFRÉNIL (2001.) histološki opisuju rebro običnog dupina *Delphinus delphis* kao osteosklerotično. Međutim, rebro dupina tako ne izgleda cijeli životni vijek. Nakon rođenja, većinu presjeka rebra dupina čini kompakta, koja ravnomjerno okružuje spongiozu. U ovoj dobi udio površine kompakte iznosi 73%, a spongioze 27% ukupne površine presjeka rebra. Starenjem, (3. dobna skupina proučavanih dobrih dupina) udio spongioze se povećava na uštrb kompakte, a kompakta zauzima lateralni i medijalni dio rebra, dok je kranijalno i kaudalno kompakta izrazito stanjena (količnik kopakte i spongioze u ovoj dobi iznosi 0,75). Isti opis presjeka rebra u Archaeocetesa (preci dupina) objavili su de BUFFRÉNIL i sur. (1990.b), u dobnoj skupini koja odgovara 3. dobnoj skupini izučavanih dobrih dupina. U dobi od 7 godina udio površine kompakte u površini presjeka rebra iznosi 41%, a spongioze 59%, dok u adultnih jedinki (iznad 14

godina) udio površine kopakte iznosi 76%, a spongioze 24%. Znači li to da starenjem dupina kosti rebara postaju pahioosteosklerotične kao kod predaka *Basilosaurus* i *Zygorhiza* (de BUFFRÉNIL i sur., 1990.b)? Jedina „nepravilnost“ u tezi osteoporotičnih kostiju predaka dupina opisana je u *Cretaceous plesiosauria* u kojih su u mladim jedinki rebra opisana kao pahioosteosklerotična, dok su u adultnih jedinki rebra osteoporotična. WIFFEN i sur. (1995.) objašnjavaju tu promjenu zbog načina pronalaska hrane. Mlađe jedinke posjeduju pahioosteosklerotična rebra i hrane se u plitkim vodama, kao što to čine današnje morske krave (DOMNING i de BUFFRÉNIL, 1991.), vodozemci i semiakvatični sisavci (npr. vidre, polarni medvjedi) (FISH i STEIN, 1991.; HOUSSAYE, 2009.). Za razliku od njih, adultne jedinke *Cretaceous plesiosauria* imaju osteoporotična rebra, a love u otvorenim, dubokim vodama (kao današnji dupini).

Dupini prilikom ronjenja kompresijom zraka u plućima smanjuju volumen bez redukcije mase, te zbog toga trebaju savladati manji uzgon (SCROVAN i sur., 1999.). Za redukciju volumena zraka u plućima na većim dubinama (više od 20 m), prema KRILOFFu i sur. (2008.) potrebna je veća kompaktnost kostiju gudne šupljine. Može se pretpostaviti da se u KRILOFFovom objašnjenju krije odgovor rasta površine kompakte rebara odraslih jedinki dupina. Zašto onda uopće dolazi do smanjenja površine kompakte i povećanje površine spongioze u rebru dupina nakon rođenja, kad dupini nemaju fazu razvoja u plitkim vodama? Kao možebitni razlog je da se majke s mladunčadi zadržavaju u plićacima, a tek kasnije kreću s njima u lov u dubine. Može se također pretpostaviti da mužjaci love na većim dubinama od ženki, jer se kod njih kompakta statistički značajno povećava s dobi (16,4 puta). Ronjenje u dubinu upućuje na povećanje kompaktnosti kostiju te mogućnosti da jedinke zbog povećanja volumena i mase lakše dolaze do površine po zrak.

Ove pretpostavke su teoretski zaključci donešeni na temelju rezultata ovog istraživanja i ukazuju na nedostatak podataka kojima bi trebalo upotpuniti znanje o biologiji dupina.

U čovjeka se općenito kompakta nakon rođenja najprije povećava, da bi kod starih ljudi došlo do smanjenja debljine kompakte (KERLEY, 1965.; GOLDMAN i sur., 2009.). Za razliku od čovjeka u izumrlag predka sisavaca semiakvatičnog *Lystrosaurus murrayi* (Therapsida, Dicynodontia), kompakta rebara cijelog života se povećava, što vrijedi za sve semiakvatične životinje, kao i životinje koje žive i hrane se u vodenim plićacima (RAY i sur., 2005.).



Dok je u ovom istraživanju obrađen odnos površine kompakte i spongioze u rebru, de BUFFRÉNIL i SCHOEVAERT (1988.) proučavali su odnos kompakte i spongioze u nadlaktičnoj kosti običnog dupina (*Delphinus delphis*) također ovisno o dobi. Oni su utvrdili da se udio kompakte u nadlaktičnoj kosti smanjuje porastom dobi dupina. U novorođenčadi dupina udio kompakte u nadlaktičnoj kosti je 52,23%, dok je u dupina u dobi od 22 godine taj postotak kompakte 37,42%. U nadlaktičnoj kosti nisu uočili povećanje kompakte u kasnijoj dobi, kao što je uočeno u rebru tijekom ovog istraživanja. Ovaj podatak mogao bi biti potpora KRILOFFovoj tvrdnji da je za duboka ronjenja potrebna kompaktnija struktura onih kostiju, koja služe za zaštitu vitalnih organa, kao što su rebra organima grudne šupljine. S obzirom da dupini prednje udove koriste samo za balansiranje, osteoporotične nadlaktične kosti koje su gubljenjem kompakte rijeđe, sudjeluju u smanjenju ukupne tjelesne mase. I ostala mnogobrojna istraživanja provedena u svrhu proučavanja građe kostiju i načina života u vodi i uz vodu ukazuju na izrazitu osteoporozi kostiju vrsta koje aktivno love u dubinama. Međutim, ta istraživanja su provedena uglavnom na kostima prednjih udova te se pri tome nisu proučavale promjene koje nastaju rastom i razvojem (WALL, 1983.; de BUFFRÉNIL i MAZIN, 1990.; WIFFEN i sur. 1995.; LAURIN i sur. 2007.; LAURIN i sur. 2011.).

## **6.2. Površine osteon, broj osteona, broj lamela u osteonima**

Koštano tkivo podliježe promjenama kroz cijeli životni vijek. Nakon rođenja u svih vrsta sisavaca prevladava fibrozno, valovito koštano tkivo s brojnim podužnim koštanim kanalima (LOCKE, 2004.). Kako životinje stare, kanali u fibroznom tkivu okružuju se lamelama te na taj način nastaju primarni osteoni. U svinja, preživača (MORI i sur. 2005.) i konja (MORI i sur. 2003.) tijekom odrastanja u dugim kostima dolazi do formiranja laminarnog koštanog tkiva. U koštanom tkivu rebara jelena, psa i svinje ne dolazi do formiranja laminarnog koštanog tkiva (MORRIS, 2007). U koštanom tkivu dupina ne nalazi se laminarno koštano tkivo u ni jednoj dobnoj skupini ni u nadlaktičnoj kosti ni u rebru. Kao i u ostalih vrsta sisavaca tako i u dupina daljnjim

povećanjem dobi lamelarno koštano tkivo sve više zamjenjuje fibrozno. Primarni osteoni procesom remodeliranja prelaze u sekundarne osteone, da bi se u adultnih, starijih jedinki u lamelarnom koštanom tkivu između sekundarnih osteona zamjetile međulamele zaostale od pregradnje prijašnjih osteona te mnoštvo osteona u pregradnji. Proučavajući mikroskopsku građu kompakte rebra i nadlaktične kosti dupina nisu nađeni karakteristični „markeri rasta“, vidljiva obilježja u kompakti kostiju prema kojima se mogu odrediti faze rasta i faze stagniranja. Marker rasta u kompakti uočavaju se kao godovi ili ako se koriste bojila kao koncentrična područja različitih intenziteta obojenja, ovisno o intenzitetu mineralizacije kostiju prema kojima bi se mogla odrediti dob kao što je to moguće u morskih krava i kornjača (de BUFFRÉNIL i sur., 2008.; GREN, 2010.). GREN (2010.) nedostatak „markera rasta“ u dupina i njegovih predaka (*Ichthyosaurus*) objašnjava time što njihove kosti prelaze vrlo brze pregradnje zbog povećanog metabolizma, te se stoga „markeri rasta“, iako su možda i formirani, vrlo brzo resorbiraju. U provedenom istraživanju nisu se koristila bojila kojima bi se mogla detektirati smanjena područja mineralizacije kostiju prisutna u gravidnih ženki, ženki u laktaciji, te u životinja koje su prošle periode gladovanja. Iako je ovo istraživanje uključivalo gravidne životinje, morfološki oblici koji bi upućivali na gravidnost i laktaciju u proučavanim kostima nisu nađeni.

Prateći pojavnost vrsta osteona s povećanjem dobi u većine životinjskih vrsta i čovjeka, broj primarnih osteona pada, broj sekundarnih osteona raste te se promjer sekundarnih osteona smanjuje (KERLEY, 1965.; HILLIER i BELL, 2007.). Iste promjene dešavaju se i u koštanom tkivu dupina, osim što se površina sekundarnih osteona u rebru povećava s dobi. Točni podaci o broju i površini primarnih osteona ne postoje ni za životinjske vrste niti za čovjeka. Ovim istraživanjem po prvi puta je određena površina primarnih osteona koja u nadlaktičnoj kosti dupina iznosi  $0,66 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ , a u rebru  $0,76 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ . Površina primarnih osteona s dobi se smanjuje u oba spola u obje izučavane kosti dupina, osim u nadlaktičnoj kosti ženki gdje se površina primarnih osteona povećava. Ujedno je po prvi puta određena gustoća primarnih osteona na  $\text{mm}^2$  u nadlaktičnoj kosti dupina koja iznosi 8,05, a u rebru 15,67. U tablici 24. uspoređene su vrijednosti površine sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti i rebru u nekih vrsta životinja i čovjeka, te vrijednosti dobivene ovim istraživanjem.

**Tablica 24.** Površina i gustoća sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti i rebru u nekih vrsta životinja i čovjeka te dobrog dupina

VRSTA	NADLAKTIČNA KOST		REBRO	
	Površina sekundarnih osteona ( $\mu\text{m}^2$ )	Gustoća sekundarnih osteona/ $\text{mm}^2$	Površina sekundarnih osteona( $\mu\text{m}^2$ )	Gustoća sekundarnih osteona/ $\text{mm}^2$
Jelen*	$1,47 \times 10^4$	3,3	$1,13 \times 10^4$	15,54
Pas*	$1,49 \times 10^4$	15,5	$1,03 \times 10^4$	28,33
Svinja*	$2,51 \times 10^4$	3,0	$1,13 \times 10^4$	19,43
Čovjek	$4,88 \times 10^4$ <sup>•</sup>		$3,58 \times 10^4$ <sup>‡</sup>	10,27 <sup>‡</sup>
Čimpanza <sup>√</sup>	$3,3 \times 10^4$	4,72		
Dupin	$1,36 \times 10^4$	12,5	$1,31 \times 10^4$	16,1

\*MORRIS, 2007.

‡MULHERN, 2000.

• HORNI, 2002.

√ MULHERN i UBELAKER, 2009.

Uspoređujući vrijednosti površina sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti između pojedinih vrsta životinja, čovjeka i dobrog dupina vidi se da su dobivene vrijednosti za sekundarne osteone nadlaktične kosti dupina najmanje ( $1,36 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ ) između uspoređivanih vrsta, npr. u čovjeka je površina sekundarnih osteona najveća i iznosi  $4,88 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ . Očekivano, gustoća osteona od  $4,72/\text{mm}^2$  kod čimpanze (za čovjeka nisu nađeni podaci u proučavanoj literaturi) je najmanja zbog velike površine osteona ( $3,3 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ ), dok je gustoća sekundarnih osteona dupina od  $12,5/\text{mm}^2$  među većima između kompariranih vrsta. Pas ima veću gustoću sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti ( $15,5/\text{mm}^2$ ) od dupina ( $12,5/\text{mm}^2$ ), mada su osteoni kod psa površinom nešto veći ( $1,49 \times 10^4 \mu\text{m}^2$  pas;  $1,36 \times 10^4 \mu\text{m}^2$  dupin).

Usporedba površina sekundarnih osteona u nadlaktičnoj kosti i rebru, ukazuje na površinom manje osteone u rebru. Najveću površinu sekundarnih osteona u rebru ima čovjek ( $3,58 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ ), a najmanju pas ( $1,03 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ ). Površina sekundarnih osteona u rebru dupina ( $1,31 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ ) može se okarakterizirati kao srednje velika, jer sekundarni osteoni jelena i svinje imaju površinu od  $1,13 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ .

Promjene u veličini sekundarnih osteona i njihovoj gustoći ovisno o spolu i dobi proučavani su samo u čovjeka (MULHERN, 2000.; PFEIFFER i sur., 2006.) (Tablica

25.) i to u rebru, dok su u majmuna proučavani broj i površine sekundarnih osteona u ovisnosti o dobi (PRZYBECK, 1985.). Podacima iz literature dodani su podaci i iz provedenog istraživanja na dobrim dupinima.

**Tablica 25.** Gustoća i površina sekundarnih osteona u rebru čovjeka, majmuna i dobrog dupina

				Gustoća sekundarnih osteona u rebru/mm <sup>2</sup>		Površina sekundarnih osteona u rebru (x10 <sup>4</sup> μm <sup>2</sup> )	
	Dob/godine	Spol	N	Srednja vrijednost	SD	Srednja vrijednost	SD
MULHERN (2000.)  Čovjek	15-19	Ž	7	4,72	0,35	3,5	0,49
	20-29	Ž	8	10,04	0,61	3,3	0,07
	30-39	Ž	12	12,87	0,29	3,8	0,09
	40-49	Ž	11	13,14	0,16	3,7	0,06
	50+	Ž	7	12,92	0,56	3,2	0,08
	15-19	M	3	5,71	0,39	3,9	0,02
	20-29	M	7	9,04	0,3	4,3	0,02
	30-39	M	10	11,55	0,38	3,6	0,01
	40-49	M	14	11,94	0,26	3,3	0,01
	50+	M	1	10,81		3,2	n/a
PRZYBECK (1985.)  Majmun	4		3	7,42	1,63	2,8	0,7
	8		3	13,41	5,82	2,3	0,2
	13		3	16,33	2,2	2,3	0,4
	24		3	22,3	0,29	2,1	0,2
	31		3	12,42	1,46	2,0	0,1
Dobri dupin	<1	Ž	6	1,33	0,7	(N*=5) 1.3	0,08
	1-3	Ž	5	4,06	6,01	(N*=3) 0.7	0,02
	4-7	Ž	7	4,8	6,45	(N*=7) 1.2	0,03
	8-14	Ž	11	30,7	6,85	(N*=11) 1.4	0,04
	>14	Ž	19	26,78	7,55	(N*=19) 1.4	0,02
	<1	M	5	2,13	2,33	(N*=3) 0.8	0,08
	1-3	M	6	0,17	2,78	(N*=1) 1.6	0,16
	4-7	M	10	0,5	0,95	(N*=10) 1.4	0,27
	8-14	M	11	29,4	6,9	(N*=11) 1.4	0,32
	>14	M	11	19,92	8,92	(N*=10) 1.3	0,26

\* –broj osteona

MULHERN (2000.) je promatrao promjene u broju i gustoći osteona u ljudi u dobi od 15 do 50 i više godina. PFEIFFER i suradnici (2006.) promatrali su rebra ljudi prosječne dobi od 30 do 50 i više godina, s time da ova skupina autora nije određivala gustoću sekundarnih osteona u rebru, već samo površinu. Prema MULHERNu (2000.) u žena dobi od 15-19 godina površina sekundarnih osteona prosječno iznosi  $3,5 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ , zatim se površina povećava do dobi od 30-39 godina ( $3,8 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ ) da bi se tada počela smanjivati i u dobi od 50 i više godina iznosi  $3,2 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ . Gustoća sekundarnih osteona iznosi u žena dobi od 15-19 godina  $4,71/\text{mm}^2$ , te naraste do  $12,92/\text{mm}^2$  u dobi od 50 godina. Površina sekundarnih osteona u rebru muškaraca svoj maksimum doseže u dobi od 20-29 godina i iznosi  $4,3 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ , a nakon te dobi ta vrijednost pada i iznosi  $3,2 \times 10^4 \mu\text{m}^2$  kod pedestogodišnjaka. Pri tome, gustoća osteona prosječno iznosi  $5,71$  u dobne skupine muškaraca od 15-19 godina, a u pedestogodišnjaka je gotovo dvostruko veći i iznosi  $10,8/\text{mm}^2$ . Gustoća sekundarnih osteona u rebru žene je veća nego u rebru muškaraca, dok je površina sekundarnih osteona u rebru muškaraca u prosjeku veća nego u žena. PFEIFFER i suradnici (2006.), nisu proveli tako opsežno istraživanje s obzirom na raspon dobi i gustoću sekundarnih osteona u rebru ljudi. Njihova zapažanja jednaka su zapažanjima MULHERNa (2000.) s obzirom na izučavanu skupinu ljudi u dobi od 30-50 godina.

Sekundarni osteoni majmuna najveći su u mladim kategorija (sa 4 godine površina sekundarnih osteona je prosječno  $2,8 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ ), dok se sa starošću njihova površina smanjuje pa u dobi od 31 godine ona prosječno iznosi  $2,0 \times 10^4 \mu\text{m}^2$  (PRZYBECK, 1985.). Isto kao i u čovjeka gustoća sekundarnih osteona u majmuna najprije raste do adultne dobi, a u starijih jedinki se smanjuje. U svom istraživanju PRZYBECK (1985.) nije odvojeno pokazao vrijednosti sekundarnih osteona u rebru majmuna za mužjake i ženke, tako da se ne može ništa zaključiti o promjenama osteona u ovisnosti o spolu.

U ženki dupina površina sekundarnih osteona rebra je u ranoj dobi nešto veća nego u mužjaka. Ženke mlađe od 1 godine imaju površinu sekundarnih osteona  $1,3 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ , dok je u mužjaka iste dobi ta površina  $0,8 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ . Starenjem, površina sekundarnih osteona u rebru dupina se izjednačava te je u dupina oba spola starijih od 14 godina prosječna površina sekundarnih osteona  $1,4 \times 10^4 \mu\text{m}^2$ . Gustoća sekundarnih osteona u ženki dupina od rođenja pa do najstarije dobi je veća nego u mužjaka. U dupina ne

dolazi do smanjenja gustoće sekundarnih osteona u starijoj dobi kako je to uočeno u čovjeka i majmuna.

U ženki dupina broj sekundarnih osteona u rebru raste s porastom dobi za jednu dobnu kategoriju za 0.478 ( $p=0.000$ ). Porast broja sekundarnih osteona zapaža se i u rebru muških jedinki, ali on nije statistički značajan. U nadlaktičnoj kosti dupina s porastom dobi statistički značajno raste i broj sekundarnih osteona u oba spola ( $r_z=0.561$ ;  $r_m=0.406$ ). Površina sekundarnih osteona u oba spola u nadlaktičnoj kosti se smanjuje s porastom dobi, ali ovo smanjenje nije statistički značajno. Površina sekundarnih osteona u rebru oba spola dupina se povećava, ali ovo povećanje nije statistički značajno.

Osteoni u pregradnji zapažaju se u manjem broju u koštanom tkivu mlađih životinja i čovjeka (ENLOW i BROWN, 1958.), dok njihov broj raste sa starošću (KERLEY 1965.; ORTNER 1974.; MULHERN i UBELAKER, 2003.). U literaturi ne postoje apsolutni brojevi za gustoću osteona u pregradnji, kao ni podaci o njihovom kretanju ovisno o spolu. U dupina također se zapažaju osteoni u pregradnji u mladih životinja, a kako dupini stare u koštanom tkivu ima ih sve više i više. Prva dobna skupina dupina ima 1,5/0,6 mm<sup>2</sup> osteona u pregradnji, peta dobna ih ima 3,2/0,6 mm<sup>2</sup>. Broj osteona u pregradnji statistički značajno raste s dobi u nadlaktičnoj kosti u oba spola dupina. U rebru ženki broj osteona u pregradnji statistički značajno raste dok u rebru mužjaka broj osteona u pregradnji se smanjuje, ali ne statistički značajno.

Osim u veličini i gustoći osteoni se razlikuju i prema obliku i broju lamela koje okružuju Haversov kanal. MARTIN (1998.) opisuje osteone čovjeka kao ovalne i cilindrične sa 16 do 20 lamela. Rakun ima ujednačene osteone s 3 do 5 lamela, a jazavac cilindrične i ovalne s 5 do 8 lamela (HIDAKA i sur., 1997.). Osteoni goveda su također cilindričnog do ovalnog oblika s 12 do 15 lamela, osteoni svinja imaju 10 do 12 lamela, osteoni nepravilnog oblika u ovce imaju 14 do 16 lamela, dok se u malih osteona peradi nalaze se 4 do 6 lamele (CASTROGIOVANNI i sur., 2011.). Ovi podaci odnose se na sekundarne osteone. Osteoni dobrog dupina također variraju u obliku i broju lamela. U koštanom tkivu nalazimo ih u cilindričnom obliku, ali i u ovalnom. Broj lamela u primarnim osteonima kreće se od 5,1 do 7,9, dok se u sekundarnim osteonima opaža veći broj lamela i to od 7,5 do 9,7 lamela te su stoga sekundarni osteoni po broju lamela najviše slični onima u jazavca. Broj lamela u primarnom osteonu raste u nadlaktičnoj

kosti dobrog dupina u oba spola s porastom dobi, dok u rebru broj lamela pada s porastom dobi pogotovo u ženki gdje je taj pad statistički značajan.

U dostupnoj literaturi nisu nađeni podaci o veličini primarnih i sekundarnih osteona u rebru i nadlaktičnoj kosti, gustoći primarnih osteona, sekundarnih osteona i osteona u pregradnji, te broju lamela u primarnim i sekundarnim osteonima za ni jednog morskog sisavca te su stoga ovo prvi podaci za kitove i doprinose boljem poznavanju građe kostiju dupina, ali i općenito morskih sisavaca.

### **6.3. Lakune**

Cilj ovog dijela istraživanja je opisati lakune u koštanim fragmentima dupina, kao modela morskih sisavaca. Pri tome se željelo utvrditi da li postoje lako vidljive specifičnosti u obliku i veličini lakuna na fragmentima kostiju dupina, kako bi se lako raspoznale između kostiju kopnenih sisavaca, peradi i riba. Mogućnost razlikovanja kostiju kopnenih sisavaca i peradi od kostiju riba pokazala se vrlo korisnom pri kontroli pojavnosti spongiformne encefalopatije kod farmski držanih životinja. Naime, kada se dokazalo da je uzrok govede spongiformne encefalopatije hranjenje životinja (prvenstveno preživača) mesno koštanim brašnom koje je sadržavalo dijelove farmskih životinja i peradi (BUDKA i sur., 2008.), uveden je „feed ban“, zabrana hranjenja farmskih životinja mesnim koštanim brašnom (EUROPEAN COUNCIL 999/2001.). Kao posljedica ove mjere pojavnost bolesti smanjila se 50 puta u deset godina (DG SANCO, 2011.). Mesno koštano brašno proizvodi se termičkom obradom lešina životinja ili njihovih djelova, nakon čega se lešine ili njihovi djelovi melju na veličinu čestica u promjeru od najviše 0,5 mm. Mesno koštano brašno najčešće se dobiva od klanoničkog otpada i lešina s farmi životinja, što znači da su zastupljene vrste u mesno koštano brašnu porijeklom od svinja, peradi, goveda i riba (SAKAČ i FILIPOVIĆ, 2004.). Krmne smjese kojima se hrane farmske životinje kontroliraju se na prisutnost mesno koštanog brašna tako da se mikroskopski pregledava njihov sastav (van RAAMSDONK i sur., 2004.) te se u slučaju pronalaska animalnih djelova takva hrana neškodljivo uklanja. Međutim, pojedine vrste i kategorije životinja mogu se hraniti

krmnim smjesama koje sadrže riblje brašno. Upravo zbog toga vrlo je važno poznavati razliku u izgledu fragmenata kostiju riba, kopnenih sisavaca i peradi.

Patvoreno riblje brašno sadrži osim ribe i djelove drugih životinjskih vrsta, pa tako i morskih sisavaca (WDCS 2010.; BONCHEVA, 2011.). S obzirom da brašno morskih sisavaca nije nigdje navedeno kao nepoželjno u hrani za životinje, postavlja se pitanje: mogu li se fragmenti kostiju morskih sisavaca lako determinirati među koštanim fragmentima porijeklom od peradi, svinja i preživača (koji su nepoželjni u hrani za farmske životinje) u ribljem brašnu?

S obzirom na činjenicu da mesno koštano brašno sadrži sve kosti kostura, za provedeno istraživanje također se nasumice izabrane kosti najčešće zastupljenih vrsta životinja u mesno koštanom brašnu i kosti dupina.

Na fragmetima kostiju dupina (slika 52.) prevladavaju elipsoidne lakune s dobro vidljivim dugačkim kanalikulima koji se radijalno šire iz lakune. Između fragmenata kostiju dupina, fragmenti riba (slika 2.) lako se raspoznaju jer kosti riba (npr. haringa) imaju izrazito izdužene, vretanaste lakune sa dugačkim, razgranatim kanalikulima (GIZZI i sur., 2003.). Još je veća razlika između lakuna dupina i nestaničnih kostiju riba (npr. sardele), gdje su lakune vrlo izdužene, a kanalikuli su nezamjetni (slika 3.). Kanalikuli lakuna dupina nisu gusto raspoređeni, za razliku od kanalikula koji izlaze iz lakuna kostiju peradi (slika 4.) (DOMENIS i sur., 2009.) ili svinja (slika 5.) koji su kratki i gusto izlaze iz lakuna. Lakune dupina eliptičnog su oblika za razliku od lakuna peradi i svinje koje su više okrugle, tj. zvjezdaste (slike 4. i 5.). Raspored lakuna na fragmentima kostiju peradi i svinja vrlo je gust te se ponekad stječe dojam da fragmenti njihovih kostiju imaju crne površine (slike 4. i 5.). Dužina i gustoća kanalikula lakuna dupina više je nalik lakunama goveda i ovce (ARIES, 2004.), koji su dulji i manje gušći (slike 6. i 7.) nego u peradi svinja. Lakune dupina su vrlo nalik lakunama goveda i ovce koje su eliptičnog oblika. Na fragmentima kostiju goveda, ovce i dupina lakune su lijepo, pojedinačno raspoređene po fragmetu kosti (slike 6., 7. i 52.).

U tablici 26. prikazani su rasponi zbirne vrijednosti dužine i širine svih tipova lakuna za pojedine vrste životinja. Podaci za ribe, perad i kopnene sisavce porijeklom su iz softvera ARIES koji se upotrebljava kao pomoć u identifikaciji koštanih fragmenata pri rutinskoj mikroskopskoj pretrazi krmiva i krmnih smjesa. Podacima iz ARIESA dodane su vrijednosti dužina i širina lakuna dobrog dupina iz ovog istraživanja.



**Tablica 26.** Duljina i širina lakuna (\*ARIES, 2004; \*\* ovo istraživanje)

	Širina lakune/ $\mu\text{m}$	Dužina lakune/ $\mu\text{m}$
Riba*	1-3	10-30
Perad*	8-15	10-15
Kopneni sisavci*	5-12	10-20
Dupin **	1-14, medijan 6,2	3-30, medijan 13,6

Uspoređujući vrijednosti iz tablice, vidljivo je da su dužine lakuna dupina gotovo iste dužine kao i lakune kopnenih sisavaca (10-20  $\mu\text{m}$ ) i peradi (10-15  $\mu\text{m}$ ) te da se i širina lakuna dupina podudara sa istima (perad 8-15  $\mu\text{m}$ ; kopneni sisavci 5-12  $\mu\text{m}$ ). Jedina vidljiva razlika postoji između peradi, kopnenih sisavaca, dobrog dupina i riba, jer je širina riblje lakune puno manja od one u peradi i sisavaca i iznosi samo 1-3  $\mu\text{m}$ . Dobivene mjere dužina i širina lakuna na fragmenatima kostiju dobrog dupina ukazuju da su veličinom vrlo nalik lakunama goveda i malih preživača. Promatranjem i uspoređivanjem slika i mjera postoji mala, ali ne zanemariva razlika u obliku, veličini i gustoći lakuna te raspreda kanalikula na fragmentima kostiju dobrog dupina te peradi i svinja. Nabolje se mogu raspoznati fragmenti kostiju riba, bili oni sa staničnom ili nestaničnom strukturom, od fragmenta kostiju dobrog dupina.

U dostupnoj literaturi nisu nađeni podaci koji bi ukazivali na povezanosti veličine lakuna s dobi i spolom ni u čovjeka niti u životinja. U ovom istraživanju provedena je kategorizacija uzoraka kostiju dobrog dupina prema spolu i dobi. Unutar svake kategorije mjerene su dimenzije lakuna uzimajući u obzir njihovu širini i dužinu. Usporedbom dobivenih mjera utvrđeno je da se veličina lakuna statistički značajno ne mijenja s obzirom na spol i dob u dobrog dupina.

Ovim istraživanjem se pokazalo da se razlike u obliku i veličini lakuna na fragmentu kosti između dobrog dupina, kao modela morskog sisavca, i peradi, svinja te preživača mogu razlikovati, ali za to je potrebno veliko iskustvo u mikroskopiranju i vrlo dobra moć zapažanja malih razlika, što u rutinskom radu zahtjeva mnogo vremena i stoga nije prihvatljivo. Iz tog razloga potrebno je razvijati neke druge manje zahtjevne metode za operatora, a to su imunoenzimne ili molekularne metode (FUMIERE i sur., 2009.).

## **7. ZAKLJUČCI**

1. Građa rebra kroz životni vijek dobrog dupina prolazi dinamične promjene. Nakon rođenja rebro dobrog dupina uglavnom gradi kompakta, koja ravnomjerno okružuje spongiozu (udio kompakte u površini presjeka rebra iznosi 73%, a spongioze 27%). U dobi od 7 godina udio spongioze se povećava na uštrb kompakte (kompakta zauzima 41%, a spongioza 59% ukupne površine presjeka rebra). To je ujedno dob intenzivnog tjelesnog rasta i svladavanja raznih tehnika plivanja i vještina lova u dobrog dupina. U adultnih jedinki, koje rone i love na velikim dubinama udio površine kompakte iznosi 76%, a spongioze 24%. Ovakva građa rebra kod adultnih jedinki upućuje na zaštitnu funkciju rebra za vitalne organe prsne šupljine prilikom dubokih zarona.
2. Veći broj sekundarnih osteona u rebru ( $20,73/\text{mm}^2$ ) nego u nadlaktičnoj kosti dobrog dupina ( $13,3/\text{mm}^2$ ) upućuje na kompaktnije koštano tkivo rebra u odnosu na nadlaktičnu kost. Ovi podaci idu u prilog pretpostavci da rebra imaju zaštitnu funkciju za organe prsne šupljine prilikom dubokih zarona. Kompakta nadlaktične kosti manje je gustoće što potvrđuje pretpostavku da nadlaktične kosti, koje su dio modificiranih prsnih udova, tj. peraja, služe samo za balansiranje tijekom kretanja. Na ovaj način sudjeluju u smanjenju ukupne tjelesne mase. Na manju kompaktnost koštanog tkiva nadlaktične kosti dupina od koštanog tkiva rebra ukazuje i veća gustoća osteona u pregradnji u nadlaktičnoj kosti.
3. Uspoređujući dostupne podatke o veličini sekundarnih osteona drugih životinjskih vrsta i dobrog dupina, u nadlaktičnoj kosti i rebru, sekundarni osteoni u nadlaktičnoj kosti dobrog dupina pripadaju manjim sekundarnim osteonima, a sekundarni osteoni u rebru dobrog dupina pripadaju srednje velikim sekundarnim osteonima.
4. U kostima dobrog dupina ne dolazi do smanjenja gustoće sekundarnih osteona u starijoj dobi kao što je uočeno kod čovjeka i majmuna.
5. Fragmenti kostiju dupina sadrže ravnomjerno raspoređene elipsoidne lakune i dobro vidljive dugačke kanalikule koji se radijalno šire iz lakune. Ove fragmente moguće je razlikovati od fragmenata kostiju ptica i svinja, jer oni imaju gusto raspoređene lakune s kratkim i gustim kanalikulima. Lakune dobrog dupina

najsličnije su lakunama preživača i ne mogu se od njih razlikovati na nativnim mikroskopskim preparatima.

## **8. POPIS LITERATURE**

ANONIMNO (2013):

[http://www.ufrgs.br/imunovet/molecular\\_immunology/muscles.html](http://www.ufrgs.br/imunovet/molecular_immunology/muscles.html). Pristupljeno 02.07.2013.

ARDIZZONI, A. (2001): Osteocyte lacunar size – lamellar thickness relationships in human secondary osteons. *Bone* 28, 215-219.

ARIES (2004): Animal remains identification and evaluation system, Version 1.0. U STRATFEED (Strategies and methods in detect and quantify mammalian tissues in feedinfstuffs) Consortium, RIKILT. Wageningen, The Netherlands.

BAIRD, R. W., E. L. WALTERS, P. J. STACY (1993): Status of the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, with special reference to Canada. *Can. Field-Nat.* 107, 466-480.

BEARZI, G., G. NOTARBARTOLO DI SCIARA, E. POLITI, G. LAURIANO (1993): Social ecology and behavior of bottlenose dolphins in the waters adjacent to the island of Lošinj (Croatia). Poster presented at the 10th Biennial Conference of the Society for Marine Mammalogy. Galveston, TX, November 12-15, 1993.

BEARZI, G., E. POLITI, C. M. FORTUNA, L. MEL, G. NOTARBARTOLO DI SCIARA (2000): An overview of cetacean sighting data from the Northern Adriatic Sea: 1987-1999. *European Research on Cetaceans* 14, 356-361.

BEARZI, M (2005): Aspects of the ecology and behavior of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Santa Monica Bay, California. *J. Cetacean Res. Manage.* 7, 75-83.

BIANCO, C., O. SALOMON, J. A. RAGA (2001): Diet of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) in the western Mediterranean Sea. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 81, 1053-1058.

BILANDŽIĆ, N., M. SEDAK, M. ĐOKIĆ, M. ĐURAS GOMERČIĆ, T. GOMERČIĆ, M. ZADRAVEC, M. BENIĆ, A. PREVENDAR CRNIĆ (2012): Toxic element concentrations in the bottlenose (*Tursiops truncatus*), striped (*Stenella coeruleoalba*)

- and Risso's (*Grampus griseus*) dolphins stranded in Eastern Adriatic Sea. B. Environ. Conta. Tox. 89, 467-473.
- BLOOM, W., D. W. FAWCETT (1975): A Textbook of Histology. 10<sup>th</sup> ed. W. B. Saunders Company. Philadelphia
- BONCHEVA, S. A. (2011): Whales as natural resources. Magistarski rad. Aarhus School of Business. University of Aarhus. Aarhus.
- BRUSINA, S. (1889): Sisavci Jadranskog mora. Preštampano iz XCV. knjige Rada Jugoslavenske akademije znanosti i umjetnosti. Dionička tiskara, Zagreb.
- BUDKA, H., B. GOOSSENS, G. RU (2008): BSE and TSEs: Past, present and future. Trends Food Sci. Tech 19, 34-39.
- CADENA, A. E., M. H. SCHWEITZER (2012): Variation in osteocytes morphology vs bone type in turtle shell and their exceptional preservation from the Jurassic to the present. Bone 51, 614-620.
- CAO, L., T. MORIISHI, T. MIYAZAKI, T. IIMURA, M. HAMAGAKI, A. NAKANE, Y. TAMAMURA, T. KOMORI, A. YAMAGUCHI (2011): Comparative morphology of the osteocyte lacunocanalicular system in various vertebrates. J. Bone. Miner. Metab. 29, 662-670.
- CANE, V., G. MAROTTI, G. VOLPI, D. ZAFFE, S. PALAZZINI, F. REMAGGI, M.A. MUGLIA (1982): Size and density of osteocyte lacunae in different regions of long bones. Calcif. Tissue. Int. 34, 558-563.
- CASTROGIOVANNI, P., R. IMBESI, M. FISICHELLA, V. MAZZONE (2011): Osteonic organization of limb bones in mammals, including humans, and birds: a preliminary study. Ital. J. Anat. Embryol. 116, 30-37.
- COCKCROFT, V. G., G. J. B. ROSS (1990): Age, growth and reproduction of bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* from the East coast of Southern Africa. Fish. B-Noaa 88, 289-302.

- COHEN, J., W. H. HARRIS (1958): The three-dimensional anatomy of Haversian system. *J. Bone Joint. Surg. Am.* 40, 419-434.
- CONNOR, C. C., J. MANN, P. L. TYACK, H. WHITEHEAD (1998): Social evolution in toothed whales. *Reviews* 13, 228-232.
- CULIK, B. M. (2004): Review of small Cetaceans. Distribution, behaviour, migration and threats. (Stempel, R. ur), UNEP/CMS.
- CURREY, J. D. (2003): The many adaptation of bone. *J. Biomech.* 36, 1487-1495.
- de BUFFRÉNIL, V., A. COLLET, M. PASCAL (1985): Ontogenetic development of skeletal weight in small delphind. *Delphinus delphis* (Cetacea, Odontoceti). *Zoomorphology* 105, 336-344.
- de BUFFRÉNIL, V., D. SCHOEVAERT (1988): On how the periosteal bone of the delphinid humerus becomes cancellous: ontogeny of a histological specialization. *J. Morphol.* 198, 149-164.
- de BUFFRÉNIL, V., J. M. MAZIN (1990): Bone histology of the ichthyosaurus: comparative data and functional interpretation. *Paleobiology* 16, 435-447.
- de BUFFRÉNIL, V., A. de RICQLES, C.E. RAY, D.P. DOMING (1990.b): Bone histology of the ribs of the Archaeocetes (Mammalia: Cetacea). *J. Vertebr. Paleontol.* 10, 455-466.
- de BUFFRÉNIL, V., W. DABIN, L. ZYLBERBERG (2004): Histology and growth of the cetacean petro-tympanic bone complex. *J. Zool.* 262, 371-381.
- de BUFFRÉNIL, V., H. ASTIBIA, X.P. SUBERBIOLA, A. BERRETEAGA, N. BARDET (2008): Variation in bone histology of middle Eocene sirenias from western Europe. *Geodiversitas* 30, 425-432.
- de MARGERIE, M. (2002): Laminar bone as an adaption to torsal loads in flapping flight. *J. Anat.* 201, 521-526.



de RICQLES, A., V. de BUFFRENIL (2001): Bone histology, heterochronies and the return of Tetrapods to life in water: where are we? Proceedings of the international meeting Poitiers, 1996. Secondary adaptation of Tetrapods to life in water. (Mazin, J. M, V. de Buffrenil, ur) pp. 289-310.

DELLMAN, H. D. (2006): Textbook of Veterinary Histology. 6<sup>th</sup> ed. (Eurell, J. A. i B. L. Frappire, ur.). Blackwell Publishing, Iowa, SAD.

DG SANCO, DIRECTORATE-GENERAL FOR HEALTH AND COSUMERS, EUROPEAN COMMISSION (2011): Report on the monitoring and testing of ruminants and the presence of Transmissible spongiform encephalopathy (TSE) in the EU in 2010.

DOMENIS, L., S. SQUADRONE, D. MARCHIS, M. C. ABETE (2009): Osteocyte lacunae features in different chicken bones. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 13, 29-32.

DOMNING, D., V. de BUFFRÉNIL (1991): Hydrostasis in the Sirenia: quantitative data and functional interpretations. Mar. Mammal. Sci. 7, 331-368.

ĐURAS GOMERČIĆ, M., T. GOMERČIĆ, H. LUCIĆ, H. GOMERČIĆ, D. ŠKRTIĆ, S. ĆURKOVIĆ, S. VUKOVIĆ (2003): Prisutnost i rasprostranjenost vrsta iz reda kitova (Cetacea) u zadarskom akvatoriju. Abundance and distribution of whale species (Order: Cetacea) in the area of Zadar. U: Zbornik sažetaka Osmog hrvatskog biološkog kongresa - Proceedings of Abstracts of Eighth Croatian Biological Congress (V. Besendorfer i N. Kopjar, ur.). Hrvatsko biološko društvo 1885. Zagreb. 254-255.

ĐURAS GOMERČIĆ, M. (2006): Rast, spolni dimorfizam i morfometrijske značajke dobrog dupina (*Tursiops truncatus* Montagu, 1821) iz Jadranskoga mora. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb.

ELLIS, R. (1996): Dolphins and porpoises. Alfred A. Knopf. New York

ENLOW D. H., S. O. BROWN (1958): A comparative histological study of fossil and recent bone tissue, part III. Tex. J. Sci. 10, 187-230.

- ENLOW, D. H. (1962): Functions of the Haversian System. *Am. J. Anat.* 110, 269-305.
- ENLOW, D. H. (1963): Principles of bone remodeling. Charles C. Thomas Publisher. Illionas.
- EUROPEAN COUNCIL (2001): Regulation (EC) 999/2001 laying down rules for the prevention, control and eradication of certain transmissible spongiform encephalopathies. *OJ L* 14, 31.5.2001.
- FISH, F. E., B. R. STEIN (1991): Functional correlates of differences in bone density among terrestrial and aquatic genera in the family Mustelidae (Mammalia). *Zoology* 110, 339-345.
- FUMIERE, O., P. VEYS, A. BOIX, C. von HOLST, V. BAETEN, G. BERBEN (2009): Methods of detection, species identification and quantification of processed animal proteins in feedingstuffs. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 13, 59-70.
- GIZZI, G., L. V. D. van RAAMSDONK, V. BAETEN, I. MURRAY, G. BERBEN, G. BRAMBILLA, C. van HOLST (2003): An overview of tests for animal tissues in feeds applied in response to public health concerns regarding bovine spongiform encephalopathy. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 22, 311-331.
- GOLDMAN, H. M., S. C. McFARLIN, D. M. L. COOPER, C. D. L. THOMAS, J. G. CLEMENT (2009): Ontogenetic patterning of cortical bone microstructure and geometry at the human mid-shaft femur. *Anat. Rec.* 292, 48-64.
- GOMERČIĆ, H., Đ. HUBER (1989): Istraživanja i zaštita morskih sisavaca Jadrana. U: Četvrta konferencija o zaštiti Jadrana. Plenarni referati i izvodi saopštenja. (P. Grgić, urednik). Neum, 19. i 20. oktobar 1989. Program rada, 19.
- GOMERČIĆ, H., Đ. HUBER, A. GOMERČIĆ, T. GOMERČIĆ (1998a): Geographical and historical distribution of the cetaceans in Croatian part of the Adriatic Sea. Rapport du 35e Congrès de la CIESM. 35<sup>th</sup> CIESM Congress Proceedings. Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la mer Méditerranée 35, 440-441.

- GOMERČIĆ, H., Đ. HUBER, T. GOMERČIĆ, H. LUCIĆ, D. MIHELIĆ, M. ĐURAS (1998b): Estimation of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) population in the Croatian part of the Adriatic Sea. Report conducted for the Regional Activity Centre for Specially Protected Areas. (UNEP- Mediterranean Action Plan) and The Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb. Zagreb. <http://mavef.vef.hr/~gomerctic/dolphin/>. Pristupljeno 27.07.2012.
- GRAY, N., K. KAINEC, S. MADOR, L. TOMKO, S. WOLFE (2007): Sink or swim? Bone density as a mechanism for buoyancy control in early cetaceans. *Anat. Rec.* 290, 638-635.
- GREN, J (2010): Osteo-hystology of Mesozoic marine tetrapods – implications for longevity, growth strategies and growth rates. Studenski rad. Department of earth and ecosystem sciences. Lunds universitet, Lund.
- GREEN, R. F. (1972): Observation on the anatomy of some cetaceans and pinnipeds. U: *Mammals of the Sea-Biology and Medicine* (S. H. Ridgway, ur.). Charles C. Thomas Publisher. Springfield 247-274.
- GREENLEE, D. M., R. C. DUNNELL (2010): Identification of fragmentary bone from the Pacific. *J. Archaeol. Sci.* 37, 957-970.
- HENRIKSON, R. C., G. I. KAYE, J. E. MAZURKIEWICZ (1997): *Histology*. Lippincott Williams &Wilkins.
- HIDAKA, S., M. MATSUMOTO, S.OHSAKO, Y. TOYOSHIMA, H. NISHINAKAGAWA (1997): A histometrical study on the long bones of racoon dogs, *Nictereutes procyonoides* and badgers, *Meles meles*. *J. Vet. Med. Sci.* 60, 323-326.
- HILLIER, M. L., L. S. BELL (2007): Differentiating human bone from animal bone: a review of histological methods. *J. Forensic Sci.* 52, 249-263.
- HOHN, A. A., M. D. SCOTT, R. S. WELLS, J. C. SWEENEY, B. IRVINE (1989.): Growth layers in teeth from known-age, free-ranging bottlenose dolphins. *Mar. Mammal Sci.* 5, 315-342

- HORNI, H. B. A. (2002): The forensic application of comparative mammalian bone histology. Magistarski rad. Texas Tech University.
- HORTON, J. M., A. P. SUMMERS (2009): The material properties of acellular bone in a teleost fish. *J. Exp. Bio.* 212, 1413-1420.
- HOUSSAYE, A (2009): „Pachyostosis“ in aquatic amniotes: a review. *Integrative Zoology* 4, 325-340.
- JEE, W. S. S. (1983): The skeletal tissue. U: *Histology: cell and tissue biology*. 5<sup>th</sup> ed. (Weiss, L., ur.). Elsevier Biomedical. New York. 206-254.
- JEFFERSON, T. A., S. LEATHERWOOD, M. A. WEBBER (1993): *FAO species identification guide: Marine mammals of the world*. United Nations Environment Programme Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- KERLEY, E. R. (1965): The microscopic determination of age in human bones. *Am. J. Phys. Antrop.* 23, 149-164.
- KLEVEZAL, G. A. (1996): *Recording structures of mammals: Determination of age and reconstruction of life history*. A. A. Balkema. Rotterdam.
- KOZARIĆ, Z. (1997): *Veterinarska histologija*. Naklada Karolina. Zagreb.
- KÖNIG, H. E., H.-G. LIEBICH (2009): *Anatomija domaćih sisavaca*, Naklada Slap, Jastrebarsko.
- KRILOFF, A., D. GERMAIN, A. CANOVILLE, P. VINCENT, M. SACHE, M. LAURIN (2008): Evolution of bone microanatomy of the tetrapod tibia and its use in paleobiological inference. *J. Evol. Biol.* 21, 807-826.
- LAHVIS, G. P., R. S. WELLS, D. W. KUEHL, J. L. STEWART, H. L. RHINEHART, C. S. VIA (1995): Decreased lymphocyte response in free-ranging bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) are associated with increased concentrations of PCBs and DDT in peripheral blood. *Environ. Health Perspect.* 103, 67-72.

- LAURIN, M., F. J. MEUNIER, D. GERMAIN, M. LEMOINE (2007): A microanatomical and histological study of the paired fin skeleton of the Devonian sarcopterygian *Eusthenopteron foordi*. *J. Paleont.* 81, 143-153.
- LAURIN, M., A.CANOVILLE, D. GERMAIN (2011): Bone microanatomy and lifestyle: A descriptive approach. *Comptes. Rendus. Palevol.* 10, 381-402.
- LEATHERWOOD, S., R. R. REEVES (1983): *The Sierra Club handbook of whales and dolphins*. Sierra Club Books, San Francisco.
- LEATHERWOOD, S., R. R. REEVES, W. F. PERRIN, W., E. EVANS (1988): *Whales, dolphins and porpoises of the Eastern North Pacific and adjacent Arctic waters*. Dover Publications, Inc., New York.
- LOCKE, M. (2004): Structure of long bones in mammals. *J. Morphol.* 262, 546-565.
- LUCIĆ, H (2006): Dobne i spolne razlike u mineralnoj gustoći nadlaktične kosti i podlaktičnih kostiju dobrog dupina (*Tursiops truncatus*) i plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*) iz Jadranskog mora. Disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb
- MARTIN, R. B. (1998): *Skeletal biology*. U: *Skeletal tissue mechanics*. (Martin, R. B, D. B. Burr, N. A. Sharkey, ur.). New York Springer. 29-77.
- MARTINIAKOVA, M., B. GROSSKOPF, K. OMELKA, M. VONDRAKOVA, M. BAUEROVA (2006a): Differences among species in compact bone tissue microstructure of mammalian skeleton: use of a discriminant function analysis for species identification. *J. Forensic Sci.* 51, 1235-1239.
- MARTINAKOVA, M., B. GROSSKOPF, M. VONDRAKOVA, R. OMELKA, M. FABIS (2006b): Differences in femoral compact bone tissue microscopic structure between adult cows (*Bos taurus*) and pigs (*Sus scrota domestica*). *Anat. Histol. Embryol.* 35, 167-170.
- MARTINIAKOVA, M., B. GROSSKOPF, R. OMELKA, K. DAMMERIS, M. VONDRAKOVA, M. BAUEROVA (2007): Histological study of compact bone

- tissue in some mammals: A method for species determination. *Inat. J. Osteoarhaeol.* 17, 82-90.
- MASS, M. (2002): Histology of bones and teeth. U: *Marine mammals encyclopedia* (Perrin, W. F., B. Würsig, J. G. M. Thewissen, ur.). Academic Press. San Diego. 116 - 122.
- MEĐUNARODNI UGOVORI (2000): Zakon o potvrđivanju sporazuma o zaštiti kitova (Cetacea) u Crnom moru, Sredozemnom moru i susjednom atlantskom području. 6/2000.
- MORI, R., T. KODAKA, T. SANO, N. YAMAGISHI, M. ASARI, Y. NAITO (2003): Comparative histology of the laminar bone between young calves and foals. *Cell Tissues. Org.* 175, 43-50.
- MORI, R., T. KODAKA, S. SOETA, J. SATO, J. KAKINO, S. HAMATO, H. TAKAKI, Y. NAITO (2005): Preliminary study of hystological comparation on the growth patterns of long-bone cortex in young calf, pig and sheep. *J. Vet. Med. Sci.* 67, 1223-1229.
- MORRIS, Z. H. (2007): Quantitative and spatial analysis of the microscopic bone structures of deer (*Odocoileus virginianus*), dog (*Canis familiaris*) and pig (*Sus scrofa domestica*). Magistarski rad. University of Toronto.
- MULHERN, D. M. (2000): Rib remodeling dynamics in a sceletal population from Kulubnarti, Nubia. *Am. J. Phys. Antropol.* 111, 519-530.
- MULHERN, D. M., D. H. UBELAKER (2003): Histologic examination of bone development in juvenile chimpanzees. *Am. J. Phys. Antropol.* 122, 127-133.
- MULHERN, D. M., D. H. UBELAKER (2009): Bone microstructure in juvenile chimpanzees. *Am. J. Phys. Antropol.* 140, 368-375.
- MYRICK, A. C., L. H. CORNELL (1990): Calibrating dental layers in captive bottlenose dolphins from serial tetracycline labels and tooth extractions. U: *The*

- bottlenose dolphin (Leatherwood, S. i R. R. Reeves, ur.). Academic Press, New York. 587-608.
- NARODNE NOVINE (1995): Pravilnik o zaštiti pojedinih vrsta sisavaca (Mammalia). Narodne novine 31/1995.
- NARODNE NOVINE (2005): Zakon o zaštiti prirode. Narodne novine 70/2005.
- NARODNE NOVINE (2008): Zakon o izmjenama i dopunama Zakona o zaštiti prirode. Narodne novine 139/2008.
- NARODNE NOVINE (2009): Pravilnik o proglašavanju divljih svojti zaštićenim i dobro zaštićenim. Narodne novine 99/2009.
- NARODNE NOVINE (2011): Zakon o izmjenama i dopunama Zakona o zaštiti prirode. Narodne novine 57/2011.
- NISHIWAKI, M. (1972): General biology. U: Mammals of the Sea. Biology and Medicine (Ridgway, S. H, ur.). C. C. Thomas Publisher. Springfield, USA.
- NOTARBARTOLO DI SCIARA, G., G. BEARZI (1992.): Cetaceans in the Northern Adriatic Sea: past, present and future. Rapport du 33e Congrès de la CIESM. 33<sup>th</sup> CIESM Congress Proceedings. Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la mer Méditerranée 33, 303.
- ORTNER, D. J. (1974): Aging effects on osteon remodeling. *Calcif. Tiss. Res.* 18, 27-36.
- PAWLICKI, R. (1985): Metabolic pathways of the fossil dinosaur bones. Morphological differentiation of osteocyte lacunae and bone canaliculi and their significance in the system of extracellular communication. *Fol. Histochem. Cyto.* 23, 165-174.
- PERRIN, W. F. (1975): Variation on spotted and spinner porpoise (gen.: *Stenella*) in the Eastern tropical pacific and Hawaii. University of California Press. Berkeley, Los Angeles, London.

- PFEIFFER, S., C. CROWDER, L. HARRINGTON, M. BROWN (2006): Secondary osteon and Haversian canal dimensions as behavioral indicators. *Am. J. Phys. Antropol.* 131, 460-468.
- PITMAN, R. L. (2002): Mesoplodont whales. U: *Marine Mammals Encyclopedia* (W. F. Perrin, B. Würsig, J. G. M. Thewissen, ur.). Academic Press, San Diego. 738 - 742.
- PRZYBECK, T. R. (1985): Histomorphology of the rib: bone mass and cortical remodeling. U: *Behavior and pathology in aging rhesus monkeys*. (Davis, R.T., C.W. Leathers, ur.). Allan R. Liss, New York.
- QUEROUIL, S., M. A. SILVA, L. FREITAS, R. PRIETO, S. MAGALHAES, A. DINIS, F. ALVES, J. A. MATOS, D. MONDONCA, P. S. HAMMOND, R. S. SANTOS (2007): High gene flow in oceanic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) of the North Atlantic. *Conserv. Genet.* 8, 1405-1419.
- RAY, S., A. CHINSAMY, S. BANDYOPADHYAY (2005): *Lystrosaurus murrayi* (Terapsida, Dicynodontia): bone histology, growth and lifestyle adaptations. *Paleontology* 48, 1169-1185.
- REEVES, R. R., B. S. STEWART, P. J. CLAPHAM, J. A. POWELL (2002): *Guide to marine mammals of the world*. National Audubon Society, New York.
- RHO, J., L. KUHN-SPEARING, P. ZIOUPOS (1998): Mechanical properties and hierarchical structure of bone. *Med. Engin. Physics* 20, 92-102.
- RICE, D. W. (1998): *Marine mammals of the world. Systematics and distribution*. Special publication number 4. The Society for Marine Mammalogy.
- ROSENBERGER, J. M., M. WATABE (2000.): Fine structure of bone in dinosaurs, birds and mammals. *Nature* 206, 619-622.
- SAKAČ, M., S. FILIPOVIĆ (2004): Tehnološki postupci proizvodnje mesno-koštanog brašna i zakonske regulative u Evropi. *Tehnologija mesa* 45, 62-69.



- SELETKOVIĆ, M., K. ŠLOGAR, M. ĐURAS GOMERČIĆ, T. GOMERČIĆ (2012): Procjena broja dobrog dupina (*Tursiops truncatus*) u Šibensko – kninskoj županiji. Veterinar 50, 11-21.
- SKEDROS, J. G., G. C. CLARK, S. M. SORENSON, K. T. TAYLOR, S. QIU (2011): Analysis of the effect of osteon diameter on the potential relationship of osteocyte lacuna density and osteon wall thickness. Anat. Rec. 294, 1472-1485.
- SCROVAN, R. C., T. M. WILLIAMS, P. S. BERRY, P. W. MOORE, R. W. DAVIS (1999): The diving physiology of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). II Biomechanics and changes in buoyancy at depth. J. Exp. Biol. 202, 2749-2761.
- SLOOTEN, E. (1991): Age, growth, and reproduction in Hector's dolphins. Can. J. Zool. 69, 1689-1700.
- UHEN, M. D. (2007): Evolution of marine mammals: Back to the sea after 300 million years. Anat Rec. 290, 514-522.
- URIAN, K. W., D. A. DUFFIELD, A. J. READ, R. S. WELLS, E. D. SHELL (1996): Seasonality of reproduction in bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. J. Mammal. 77; 394-403.
- van RAAMSDONK, L., J. van CUSTEM, J. ZEGERS, G. FRICK, J. S. JORGENSEN, V. PINCKAERS, J. BOSCH, I. PARDADIES SEVERIN (2004): The microscopic detection of animal proteins in feed. J. Aoac Int. 87, 1334-1341.
- WALL, W. P. (1983): The correlation between high limb-bone density and aquatic habits in recent mammals. J. Paleontol. 57, 197-207.
- WDCS, WHILE AND DOPLPHIN CONSERVATION SOCIETY (2010): A report by WDCS. Reinventing the whale. The whaling industry's development of new applications for whale oil and other productsin pharmaceuticals, health supplements and animal feed. [http://www.wdcs.org/submissions bin/trade report 201006.pdf](http://www.wdcs.org/submissions_bin/trade_report_201006.pdf). Pristupljeno 03.06.2013.

WIFFEN, J., V. de BUFFRÉNIL, A. de RICQLÉS, J. M. MAZIN (1995): Ontogenetic evolution of bone structure in Late Cretaceous Plesiosauria from New Zeland. *Geobios* 28, 625-640.

ZYLBERBERG, L., W. TRAUB, V. de BUFFRÉNIL, F. ALLIZARD, T. ARAD, S. WEINER (1998): Rostrum of the toothed whale: ultrastructural study of a very dense bone. *Bone* 23, 241-247.

**9. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM  
OBJAVLJENIH ZNANSTVENIH  
RADOVA**

Manuela Zadavec, dr.med.vet., rođena je 8. srpnja 1973. godine u Zagrebu, gdje je završila osnovnu školu i Srednju veterinarsku školu. 1992. godine upisuje Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu na kojem diplomira 1999. godine. 2001. godine zapošljava se kao tehnički suradnik u Hrvatskom veterinarskom institutu u Laboratoriju za mikrobiologiju hrane za životinje. Od 2005. godine u istom laboratoriju radi kao stručni suradnik na području mikrobiologije hrane za životinje i mikroskopske analize hrane za životinje. Sudjelovala je na brojnim edukacijama i radionicama u zemlji i inozemstvu gdje je usavršavala znanje i vještine iz mikroskopske metode pretrage i mikrobiologije. Članica je EFMO-a (European Feed Microbiology Organization) i IAG-a (International Association of Feedingstuff Analysis).

Manuela Zadavec je udata i majka dvoje djece.

# POPIS OBJAVLJENIH ZNANSTVENIH RADOVA

## Izvorni znanstveni i pregledni radovi u CC časopisima

BILANDŽIĆ, N.; M. SEDAK, M. ĐOKIĆ, M. ĐURAS GOMERČIĆ, T. GOMERČIĆ, **M. ZADRAVEC**, M. BENIĆ, A. PREVENDAR CRNIĆ (2012): Toxic element concentrations in the bottlenose (*Tursiops truncatus*), striped (*Stenella coeruleoalba*) and Risso's (*Grampus griseus*) dolphins stranded in Eastern Adriatic Sea. B. Environ. Conta. Tox. 89, 467-473.

PLEADIN, J., N. PERŠI, M. MITAK, **M. ZADRAVEC**, M. SOKOLOVIĆ, A. VULIĆ, V. JAKI, M. BRSTILO (2012): The natural occurrence of T-2 toxin and fumonisins in maize samples in Croatia. B. Environ. Conta. Tox. 88, 863-866.

PLEADIN, J., N. PERŠI, **M. ZADRAVEC**, M. SOKOLOVIĆ, A. VULIĆ, V. JAKI, M. MITAK (2012): Correlation of deoxynivalenol and fumonisin concentration determined in maize by ELISA methods. J. Immunoassay Immunochem. 33, 414-421.

PLEADIN, J., M. SOKOLOVIĆ, N. PERŠI, **M. ZADRAVEC**, V. JAKI, A. VULIĆ (2012): Contamination of maize with deoxynivalenol and zearalenone in Croatia. Food Control 28, 94-98.

PLEADIN, J., A. VULIĆ, R. STOJKOVIĆ, N. PERŠI, M. MITAK, **M. ZADRAVEC** (2010): A Fast Immunoassay for Determination of  $\beta$ -Agonist Residues in plasma. Rev. Anal. Chem. 29, 39-50.

## Znanstveni radovi u drugim časopisima

PLEADIN, J., N. PERŠI, A. VULIĆ, **M. ZADRAVEC** (2012): Survey of mycotoxin feed contamination in Croatia. Biotechnology in Animal Husbandry 28, 167-177.

PLEADIN, J., **M. ZADRAVEC**, N. PERŠI, A. VULIĆ, V. JAKI, M. MITAK (2012): Mould and mycotoxin contamination of pig feed in northwest Croatia. Mycotoxin research 28, 157-162.

MITAK, M., J. PLEADIN, N. PERŠI, A. VULIĆ, **M. ZADRAVEC** (2011): Mikotoksini u krmnim sirovinama i smjesama tijekom 2009. i 2010. godine. Veterinarska stanica 42, 139-145.

PERŠI, N., J. PLEADIN, A. VULIĆ, **M. ZADRAVEC**, M. MITAK (2011): Mikotoksini u žitaricama i hrani životinjskog podrijetla. Veterinarska stanica 42, 335-345.

**ZADRAVEC, M.**, M. MITAK, V. JAKI (2010): Analiza krmnih smjesa na prisustvo animalnih proteina. Veterinarska stanica 41, 297-301.

MITAK, M., **M. ZADRAVEC**, V. KARAČIĆ (2003): Prirodna kontaminacija deoksinivalenolom (vomitoksinom) kukuruza roda 1999. godine. Krmiva. 45, 77-79.

#### **Ostali radovi u drugim časopisima**

**ZADRAVEC, M.** (2012): Morske krave i kitovi: kosti za plutanje i kosti za plivanje. Priroda 1011, 52-53.

**ZADRAVEC, M.**, M. MITAK (2011): Mesno koštano brašno u hrani za životinje-prošlost ili budućnost?. Krmiva 4, 167-172.

**ZADRAVEC, M.**, V. JAKI, M. MITAK, D. MAJNARIĆ (2009): Mikroskopska identifikacija životinjskih tkiva u krmivima i krmnim smjesama. Krmiva 51, 179-185.

MITAK, M., **M. ZADRAVEC**, T. GOJMERAC, Ž. CVETNIĆ (2005): Kontaminacija zearalenonom kukuruza roda 2004. Veterinarska stanica 36, 95-100.

MITAK, M., **M. ZADRAVEC**, V. AUSLENDER-UJEVIĆ, Ž. CVETNIĆ, S. ŠPIČIĆ (2004): Nalaz proteina podrijetlom od preživača u uzorcima krmiva. Veterinarska stanica 35, 215-219.

#### **Kongresno priopćenje (sažeci) u ostalim časopisima**

JAKI TKALEC, V., D. MAJNARIĆ, **M. ZADRAVEC**, M. DVOJKOVIĆ (2012): Nalaz

bakterijske vrste *Listeria monocytogenes* iz silaže za hranidbu mliječnih krava. Zbornik sažetaka, 40. Simpozij mljekarskih stručnjaka. Lovran, Hrvatska, pp 74-75.

SEDAK, M., M. ZADRAVEC, M. ĐOKIĆ, N. BILANDŽIĆ (2012): Analiza krmnih smjesa za muzne krave na prisutnost teških metala. Zbornik sažetaka, 40. Simpozij mljekarskih stručnjaka. Lovran, Hrvatska, pp 84-85.

ZADRAVEC, M., M MITAK (2012): Mesno koštano brašno u hrani za životinje - prošlost ili budućnost?. XIX međunarodno savjetovanje Krmiva 2012, Zbornik sažetaka. Opatija, Hrvatska., pp 2-2.

ZADRAVEC, M., J. PLEADIN, V. JAKI, M. MITAK (2012): Mikrobiološki status i odnos organskih kiselina silaže 2011./2012. Zbornik sažetaka, 40. Simpozij mljekarskih stručnjaka. Lovran, Hrvatska, pp 92-93.

MITAK, M., M. ZADRAVEC, V. KARAIĆIĆ (2002): Prirodna kontaminacija deoksinivalenolom (vomitoksinom) kukuruza roda 1999. godine. IX međunarodno savjetovanje Krmiva 2002., Zbornik sažetaka. Opatija, Hrvatska, pp 130-133.

#### **Znanstveni radovi u zbornicima skupova s međunarodnom recenzijom.**

CAPAK, D., D. VNUK, M. ZADRAVEC, A. BRKIĆ, J KOS, I. HARAPIN, T. BABIĆ, B. RADIŠIĆ (2003): Report of ruminotomy in the cattle at surgery clinic of Veterinary faculty in Zagreb from 1983 to 1998. Proceedings of the IV Central European Buiatric Congress, Zagreb, Croatia, pp 229-230.

#### **Drugi radovi u zbornicima skupova s recenzijom**

PLEADIN, J., M. ZADRAVEC, M. SOKOLOVIĆ, N. PERŠI, A. VULIĆ (2013): Kontaminacija hrane za perad mikotoksinima tijekom petogodišnjeg razdoblja u Hrvatskoj. Peradarski dani 2013. Zbornik. Šibenik, Hrvatska. pp 105-111.

**ZADRAVEC, M., M. MITAK, V. JAKI TKALEC, D. MAJNARIĆ** (2013): Nalaz prerađenih animalnih proteina u hrani za perad. Peradarski dani 2013. Zbornik. Šibenik, Hrvatska. pp 132-134.

**ZADRAVEC, M., J. PLEADIN, V. JAKI TKALEC, D. MAJNARIĆ, M. MITAK** (2013): Analiza sojine sačme na sadržaj sirovih bjelančevina te kontaminaciju bakterijama roda Salmonella u 2012. godini. Peradarski dani 2013. Zbornik. Šibenik, Hrvatska. pp 129-131.

**ZADRAVEC, M., V. JAKI, M. MITAK, D. MAJNARIĆ** (2011): Higijenska kategorizacija smjesa za perad prema VDLUFA–metodi. IX. simpozij Peradarski dani 2011 s međunarodnim sudjelovanjem. Zbornik. Šibenik, Hrvatska. pp 171-173.

**JAKI, V., D. MAJNARIĆ, M. ZADRAVEC** (2009): Nalaz ostataka antimikrobnih tvari u hrani za životinje i sirovinama za njihovu pripremu uporabom screening testa. VII Simpozij "Peradarski dani 2009" s međunarodnim sudjelovanjem, Zbornik radova. Poreč, Hrvatska. pp 110-113.

#### **Sažeci u zbornicima skupova**

**MIKULIĆ, M., M. ZADRAVEC, A. HUMSKI, M. MITAK** (2011): Određivanje kvasaca i plijesni u proizvodima životinjskog podrijetla. Book of Abstracts, The International Congress "Veterinary Science and Profession" Zagreb, Hrvatska. pp 91-91.

**ZADRAVEC, M., V. JAKI, M. MITAK, D. MAJNARIĆ** (2010): Higijenska kategorizacija smjesa za muzne krave prema VDLUFA–metodi. 39. hrvatski simpozij mljekarskih stručnjaka s međunarodnim sudjelovanjem :, Zbornik sažetaka. Opatija, Hrvatska. pp 86-86.

**ZADRAVEC, M., V. JAKI, D. MAJNARIĆ, M. MITAK** (2009): Mikroskopska identifikacija životinjskih tkiva u krmivima i krmnim smjesama. XVI međunarodno savjetovanje Krmiva 2009, Zbornik sažetaka. Opatija, Hrvatska. pp 46-46.



**ZADRAVEC, M., M. MITAK, V. JAKI (2009):** Analiza krmnih smjesa na prisutnost animalnih proteina. Znanstveno stručni sastanak Veterinarska znanost i struka, Zbornik radova. Zagreb, Hrvatska. pp 60-61.

**MITAK, M., M. ZADRAVEC (2001):** Kontaminacija krmnih sirovina i krmnih smjesa salmonelama. Croatian and Slovenian Symposium on Microbiology and Infections Diseases "Zoonoses today and tomorrow". Abstracts. Ljubljana, Slovenija. pp 39-39.