

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET**

**Vjekoslav Posavac**

**PRIMJENA DEXA OSTEODENZITOMETRIJSKE  
METODE ZA MALE ŽIVOTINJE U MJERENJU  
MINERALNE GUSTOĆE NADLAKTIČNE KOSTI  
DOBROG DUPINA (*Tursiops truncatus*).**

**Diplomski rad**

**Zagreb, 2008.**

**Zavod za anatomiju, histologiju i embriologiju  
Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu**

**Predstojnik zavoda:**

Prof. dr. sc. Damir Mihelić

**Voditelji diplomskog rada:**

Prof. dr. sc. Snježana Vuković  
Dr. sc. Hrvoje Lucić

**Povjerenstvo za obranu diplomskog rada:**

Dr. sc. Martina Đuras-Gomerčić  
Prof. dr. sc. Snježana Vuković  
Dr. sc. Hrvoje Lucić  
Prof. dr. sc. Hrvoje Gomerčić (zamjena)

Rad je izrađen na Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, u sastavu znanstveno-istraživačkog projekta «Zdravstvene i ostale biološke osobitosti sisavaca Jadranskoga mora», Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske, uz potporu Društva za spas dupina (Gesellschaft zur Rettung der Delphine) iz Münchena.

Zahvaljujem mentorima Prof. dr. sc. Snježani Vuković i Dr. sc. Hrvoju Luciću na vođenju i pomoći u izradi ovog diplomskog rada. Također zahvaljujem svim djelatnicima Zavoda za anatomiju, histologiju i embriologiju koji su na bilo koji način pomogli u izradi rada, a posebno suradnicima gore navedenog znanstveno-istraživačkog projekta pod vodstvom Prof. dr. sc. Hrvoja Gomerčića.

Zahvaljujem svojoj obitelji, posebno majci i sestri na velikoj potpori koju su mi pružile i beskrajnom strpljenju koje su za mene imale tijekom cijelog studija.

## SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA	2
2.1. Biologija dobrog dupina	7
2.2. Značajke građe kostiju u sisavaca	2
2.3. Građa kostiju udova u kitova	4
2.4. Mineralna gustoća kosti	5
2.5. Mjerenje mineralne gustoće kosti na životinjama	8
3. MATERIJAL I METODE	10
3.1. Životinje	10
3.1.1. Mužjaci dobrih dupina	10
3.1.2. Ženke dobrih dupina	11
3.2. Uzimanje uzoraka i metode obrade	12
3.3. Mjerenje mineralne gustoće kosti	13
4. REZULTATI	15
4.1. Ukupna dužina tijela istraženih životinja	15
4.2. Dob istraženih dupina	17
4.3. Mineralna gustoća nadlaktične kosti dupina	18
4.4. Statistička obrada podataka	21
4.4.1. Osnovne statističke vrijednosti prema spolu dupina	21
4.4.2. Linearna korelacijska analiza	23
5. RAZMATRANJE	27
6. ZAKLJUČCI	31
7. POPIS LITERATURE	32
8. SAŽETAK	37
9. SUMMARY	38
10. ŽIVOTOPIS	39

## 1. UVOD

Mineralna gustoća kosti kao klinički test, danas je u širokoj upotrebi u dijagnostici patologije koštanog sustava čovjeka. Na životinjama se koristi većinom u eksperimentalne svrhe pri istraživanjima osteoporoze ljudi na modelima laboratorijskih životinja. Na dupinima je do sada obavljeno nekoliko istraživanja mineralne gustoće kostiju s ciljem utvrđivanja njenih promjena tijekom života jedinke i razvijanja alternativnih metoda za određivanje dobi životinje na temelju spomenutih promjena (GUGLIELMINI i sur. 2002.; LUCIĆ, 2006.; BUTTI i sur., 2006.). Sva dosadašnja istraživanja mineralne gustoće kostiju dupina su opisana samo na temelju rezultata dobivenih primjenom DEXA (od engl. *dual energy x-ray absorptiometry*) metode za mjerenje slabinske kralježnice čovjeka, a pokušaja mjerenja drugim metodama do sada nije bilo.

Dobri dupin (*Tursiops truncatus*, Montagu 1821.) danas predstavlja jedinu vrstu morskih sisavaca koja stalno obitava u Jadranskom moru (GOMERČIĆ i sur., 1998.). Brojnost populacije dobrih dupina u Jadranu procijenjena je na 220 jedinki te je ta vrsta najstrože zakonski zaštićena u Republici Hrvatskoj. S ciljem što bolje zaštite ovih životinja kako u Jadranu, tako i u svijetu općenito, danas su brojna znanstvena istraživanja usmjerena na upoznavanje njihovih bioloških osobina. Mineralna gustoća kosti kao svojstvo koštanog sustava kod tih životinja se može povezivati s različitim dijelovima morfologije i fiziologije, patologije, dijagnostike i liječenja, te s nizom bioloških svojstava kao što su dob i spol životinje.

Osnovni cilj ovog istraživanja je utvrđivanje mogućnosti primjene DEXA osteodenzitometrijske metoda za mjerenje i analizu mineralne gustoće kosti malih životinja, tijekom mjerenja mineralne gustoće kosti u dupina. Za potrebe istraživanja korištene su nadlaktične kosti dupina uginulih u prirodi, a uređaj s kojim je mjerenje obavljeno pruža mogućnost izbora RWB računalnog programa standardiziranog za mjerenje i analizu mineralne gustoće kostiju malih životinja (RWB, od engl. *rat whole body*). Obzirom da postoje brojne metode i različito konstruirani uređaji za takva mjerenja, ovdje opisano istraživanje može prikazati koje se razlike u primjeni različitih metoda mjerenja mineralne gustoće kosti mogu očekivati.

## **02. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA**

### **2.1. Biologija dobrog dupina**

Dobri dupin, *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821.), je robusnijeg izgleda tijela usporedivši ga s drugim vrstama dupina. Takva mu je i glava, obično s kratkim i nešto debljim kljunom. Dobri dupin je hrvatski naziv koji dolazi od uvjerenja ribara da im ne trga mreže, nego čak štoviše tjera ribe u njih (BRUSINA, 1889.). Jedinke unutar vrste pokazuju morfološke razlike (PERRIN, 1984.). Pod tim se podrazumijevaju dvije varijante, manji obalni dupin i veći koji živi u otvorenom moru. (CARWARDINE, 1995.). Prosječna masa dobrog dupina je 275 kg i dužina tijela od 1,9 do 3,9 m, a ženke su u pravilu nešto manje i lakše. Laktacija u dobrog dupina traje od 18 mjeseci do dvije godine (COCKROFT i ROSS, 1989.). Životni vijek im se procjenjuje na 40 godina (COCKROFT i ROSS, 1989.). Razmnožavaju se tijekom cijele godine, ali u određenim životnim uvjetima može postojati eventualna sezonalnost u reprodukciji (URIAN i sur., 1996.). Obalne populacije način prehrane često prilagođavaju čovjeku hraneći se ribom odbačenom s brodova ili vadeći ribu iz mreža (LEATHERWOOD i sur., 1983.). Žive u manjim ili većim skupinama, a u otvorenim morima su opisane i skupine od stotinu jedinki (NISHIWAKI, 1972.; LEATHERWOOD i sur., 1983.). U Jadranskom moru su opisane skupine od 6 do 35 jedinki (BEARZI i sur., 1994.; GOMERČIĆ i sur., 1998.). Dobri dupin je najčešća vrsta dupina u zatočeništvu gdje se čak i razmnožava, a to je prvi puta opisano 1938. godine (ROBECK i sur., 1994.). Nastanjuju gotovo sva svjetska mora i oceane, a ulaze i u ušća rijeka po nekoliko kilometara uzvodno. Znatno stradavaju privučeni aktivnostima čovjeka. Danas u svijetu postoje zone njihovog ekonomskog iskorištavanja kao što su Zapadna Afrika, Indija, obale Šri Lanke i Venezuele (LEATHERWOOD i sur., 1983.). Stanje populacije u Jadranskom moru se procjenjuje na oko 220 jedinki (GOMERČIĆ i sur., 1998.).

### **2.2. Značajke građe kostiju u sisavaca**

Koštani sustav daje čvrsti potporanj svim ostalim tkivima, organima i sustavima, zaštićuje osjetljive organe središnjeg živčanog sustava i organe grudne šupljine, omogućuje prihvaćanje mišića i ligamenata kojima se ostvaruje lokomocija tijela. Zaštićuje krvotvorno tkivo

u šupljini kostiju te utječe na ionsku homeostazu minerala u organizmu, prvenstveno kalcija u tkivima i ekstracelularnim tekućinama. Prema makrostrukтури razlikuje se kompaktno i spongiozno koštano tkivo. Mikrostrukтури mu čine osteoni, sustav Haversovih i Volkmanovih kanalića i lamela građenih od kolagena, minerala i nekolagenskih organskih proteina (RHO i sur., 1998.). Kompaktno koštano tkivo sadrži slobodne prostore vidljive samo mikroskopski, a spongiozno koštano tkivo organizirano je u koštane gređice koje zatvaraju komorice ispunjene koštanom srži. S vanjske strane kosti nalazi se tanki sloj kompakte koji okružuju spongiozu smještenu s unutrašnje strane. Raspored pojedinog oblika koštanog tkiva ovisi o vrsti kosti te izloženosti silama tlaka i vlaka (DELLMAN, 1993.; BLOOM i FAWCET, 1994.). Ti odnosi su posebno izraženi na dugim cjevastim kostima udova većine sisavaca. Epifize dugih kostiju građene su uglavnom od spongioze koju izvana pokriva tanki sloj kompakte. Središnji dio kosti je dijafiza koja je uglavnom građena od kompakte, formira cijev čija je šupljina prostrana i ispunjena koštanom srži. Većina kostiju prekrivena je s pokosnicom, koja je specijalizirano vezivno tkivo sa osteogeničkim potencijalom. Spongiozna kost finije je strukture, podložnija vanjskim i unutrašnjim utjecajima pa je metabolički aktivnija od kompaktne kosti (RHO i sur., 1998.). Kost je građena od koštanih stanica i izvanstaničnog koštanog matriksa u koji se talože anorganske soli. Snopovi mineraliziranih kolagenih vlakana oblikuju pločaste tvorbe koje se nazivaju lamele. Lamele su koncentrično položene oko središnjeg vaskularnog kanala oblikujući tvorbu osteona ili Haversova kanala. U sustavu lamela ravnomjerno su raspoređene malene šupljine, koje nazivamo lakunama u kojima se nalaze koštane stanice, osteociti. Od lakuna se prostiru kanalići kojima su lakune međusobno povezane. Ti kanalići omogućuju komunikaciju između osteocita i promet tvari među njima (BLOOM i FAWCET, 1994.). Izvanstanični matriks grade anorganske soli (65%) i organski matriks (35%). Odnos između anorganskog i organskog dijela kosti uglavnom je stalan. Izuzetak je rostrum nekih vrsta kitova iz porodice Ziihidae kod kojih je utvrđen visok udio minerala (87%), što kosti daje iznimnu tvrdocu (ZYLBERBEG i sur., 1998.). Okostavanje u organizmu odvija se na dva načina: intramembransko i enhondralno. Intramembranskim okoštavanjem nastaju pločaste i neke kratke kosti, a taj proces važan je i za rast dugih kostiju u širinu (JUNQUEIRA i sur. 1995.). Intramembransko okoštavanje je izravna mineralizacija matriksa kojeg su izlučili osteoblasti. Enhondralno okoštavanje se odvija odlaganjem koštanog matriksa na mjestu prethodnog hrskavičnog modela. Tako okoštavaju duge i neke kratke kosti. Na oba načina prvo nastaje primarno ili nezrelo koštano tkivo koje

nadomješta sekundarno ili lamelarno koštano tkivo. Kost je tkivo koje ima sposobnost regeneracije ad integrum nakon traume jer je proces zaraštanja kosti indentičan procesu okoštavanja. Izgradnja i razgradnja kosti se neprestano odvija pa prema tome kost predstavlja izrazito dinamičko tkivo. Ravnoteža u sintezi i resorpciji predstavlja proces remodeliranja nakon kojeg kost zadržava nepromjenjiv oblik. Sama pregradnja kosti pobuđuje se utjecajem promjena u samim kostima, mehaničkim utjecajem izvana kao i djelovanjem hormona (LUCIĆ, 2006).

### **2.3. Građa kostiju udova u kitova**

Prsni ud kitova predstavlja prsna peraja koja ima istu koštanu podiobu kao i prsni ud u kopnenih sisavaca. Oblik i veličina prsne peraje ovise o načinu života pojedinih vrsta. Kod južnoameričkog riječnog dupina koji se sporije kreću, ona je duga i široka, a u dupina koji žive u otvorenom moru kraća i uža (SEDMERA i sur., 1997.). Lopatica je mišićima vezana uz osovinski kostur jer ključna kost nije prisutna. Nadlaktična kost se uzglobljava s distalnim dijelom lopatice formirajući vrlo gibljiv zglob. Distalni dio nadlaktice je povezan s podlaktičnim kostima, ali bez zglobnog gibanja. Olekranon je slabo izražen. Podlaktične kosti međusobno nisu sraštene iako ulaze u sastav nepokretnog dijela prsne peraje. Autopodij kitova uključuje zapešće, kosti pesti i članke prstiju. Kod velikog broja vrsta morskih sisavaca prsni ud grade duge kosti koje su vrlo kratke i izduženi članci prstiju. Dobri dupin ima devet članaka prstiju. Zdjelični ud prisutan je samo u obliku rudimentiranog ostatka u obliku izduljene kosti (BEJDER i HALL, 2002.).

Poput ostalih kralježnjaka, koštano tkivo i zubi kitova građeni su od organskog i mineralnog dijela. Svako od tih tkiva se razlikuje po svojoj makroskopskoj i mikroskopskoj građi. Tkivo kostiju po svojoj mikrostrukturnoj građi odgovara onoj u kopnenih sisavaca, ali postoje i neke tipične značajke (MAAS, 2002.). Kitovi koji zaranjaju do velikih dubina imaju manju gustoću koštanog tkiva od kopnenih sisavaca. To je svojstvo kostiju povezano s aktivnim plućnim kolapsom pri zaranjanju životinja na veću dubinu dok pri manjoj dubini životinja lakše pluta. Karakteristike takvih kostiju su zamjena kompaktnog koštanog tkiva sa spongioznim koštanim tkivom koje ispunjava i medularnu šupljinu kosti. Periodična odlaganja periostnih slojeva mogu se upotrijebiti u procjeni starosti u sisavaca, a limitirajući faktor predstavlja



činjenica da se kosti remodeliraju čitavog života. Na koštanom tkivu grane mandibule u obalnog dupina (*Phocoena phocoena*) histološkom metodom su utvrđivani godišnji slojevi kompaktne koštane mase, a njihov broj je uspoređivan s brojem slojeva dentina zuba. (GOLDIN, 2003.).

Dobri dupin ima kratku nadlaktičnu kost s kuglasto zaobljenim okrajcima kosti koja je u svim svojim dijelovima slične debljine. Kost prednjeg uda kitova imaju spongioznu građu s kortikalnim slojem kompakte, a nemaju središnju šupljinu kosti. Tijekom embrionalnog razvoja, prvobitno nastaje kompaktna kost, ubrzo zatim slijedi intenzivna erozija i kompaktno koštano tkivo se pregrađuje u spongiozno koštano tkivo. Ta erozija i promjena koštanog tkiva započinje ubrzo nakon rođenja i nastavlja se tijekom života pri čemu se kompaktnost vanjskog dijela kosti smanjuje na cijeloj nadlaktičnoj kosti bez obzira na razlike u debljini kompakte u pojedinim dijelovima kosti. Kost grudnog uda kopnenih sisavaca imaju funkciju nošenja tereta tijela, pa se prema tome i razvijaju, rastu i poprimaju svoju unutrašnju građu. Prsna peraja kitova prilagođena je ulozi poprečnog stabilizatora i održavanju njegove statičke ravnoteže nasuprot otporu vode. Ima ulogu i u određivanju pravca kretanja tijela životinje. Distalno od nadlaktičnog područja prsna peraja nema važnijeg mišićja, slobodno se giba jedino rameni zglobov, a distalne veze među kostima prsne peraje su hrskavične, ligamentozne ili su građene od gustog vezivnog tkiva. Distalni dio podlaktice i autopodij predstavljaju slobodni dio prsne peraje u dupina. Cijela nadlaktična kost je spongiozna s područjima gušćeg koštanog tkiva, pri čemu je središnji dio kosti manje gustoće nego rubni dijelovi. Čak i u područjima najveće koštane gustoće makroskopski je vidljiva poroznost. Nadlaktične kosti kitova posjeduju relativno nisku ukupnu gustoću koštanog tkiva, a sve su to svojstva kosti koja nema ulogu u nošenju tereta tjelesne mase životinje (FELTS i SPURELL, 1965.).

#### **2.4. Mineralna gustoća kosti**

Mineralna gustoća kosti (BMD, od engl. bone mineral density) predstavlja kliničku metodu kojim se mjeri razina minerala u različitim dijelovima kosti. Minerali se neprestano odlažu u kost i iz nje se izvlače. Kada se minerali iz kosti izvlače, više nego se odlažu, kosti postaju manje gustoće, porozne te postaju osjetljivije i podložnije lomovima. Takvi procesi se događaju i prirodno starenjem jedinke kada je općenito, razgradnja tkiva dominantnija od

izgradnje. Zbog praćenja i dijagnostike osteoporoze kod ljudi razvijene su različite kliničke metode mjerenja mineralne gustoće. Osim toga, metode mjerenja mineralne gustoće kosti koriste se još i u znanstvene i eksperimentalne svrhe (LUCIĆ, 2006.).

Gotovo sve tehnike mjerenja mineralne gustoće kosti razvijene i razrađene su za čovjeka. Svim metodama utvrđeno je smanjivanje mase i gustoće kosti tijekom starenja kako u žena tako i u muškaraca, ali je taj proces u žena svih dobnih kategorija brži i intenzivniji nego u muškaraca. Spongiozno koštano tkivo ispunjeno je obilno prokrvljenom, crvenom koštanom srži i ima intenzivniji proces pregradnje nego kortikalno tkivo kosti te je podložnije svim unutarnjim čimbenicima metabolizma kosti. Zbog toga je gubitak mase i gustoće kosti u spongioznom dijelu izraženiji i najbolje se može pratiti na takvim kostima ili dijelovima kostiju, pogotovo ako se mjeri DEXA uređajem (FATAYERJI i sur.1999.). Istraživanja na životinjama obavljaju se gotovo isključivo sa svrhom razvijanja životinjskih modela za praćenje promjena koštane mase i gustoće primjenjivih na ljude. GUGLIELMINI i sur.(2002.) su prvi obavili istraživanje na 15 plavobijelih dupina utvrđujući razlike u mineralnoj gustoći kosti kod te vrste životinja. Tijekom rasta povećava se tjelesna masa što je u visokoj korelaciji s rastom mineralne gustoće kosti kako kod ljudi, tako i kod životinja (BLAKE i sur., 2000.). Svakako postoje brojni čimbenici koji utječu na promjene mineralne gustoće kosti čovjeka i životinja tijekom njihovog života.

Utjecajem naslijeđa na koštanu masu i njene promjene tijekom starenja bave se brojni znanstvenici, ali jos nije razješnjeno koliki je taj utjecaj i na kojoj se razini zbiva. Tjelesna aktivnost u bilo kojoj dobnj skupini odgovorna je za povećanje koštane mase kod ljudi, a obujam mineralnog odlaganja u kost ovisit će tipu i svojstvima te aktivnosti. Plivanje i hodanje podrazumijevaju poboljšanje kondicije mišića i zglobova, ali nemaju statistički značajan utjecaj na povećanje koštane mase. Intenzivne tjelesne aktivnosti koje jačaju i povećavaju mišićnu masu, a posebno one koje opterećuju i koštani sustav kao što je nošenje tereta, znatno povećavaju koštanu masu, a time i mineralnu gustoću kosti. Kod žena koje se bave intenzivnim sportom ipak dolazi do smanjenja koštane mase zbog hormonalnog utjecaja (FELSENBERG i GOWIN, 1998.). Mineralna gustoća kosti direktan je pokazatelj pregradnje koštanog tkiva tijekom života jedinke, a posljednjih godina spoznati su brojni čimbenici iz samog organizma koji reguliraju ili mogu sudjelovati u tom procesu kao sto su i brojni čimbenici rasta (DACQUIN i sur., 2004.).

Do danas je standardizirano i u upotrebi je šest metoda mjerenja mineralne gustoće kosti u ljudi (ALMEIDA i SCHEMITSCH, 2002.). Zasnovane su na različitim fizikalnim principima, a najviše se primjenjuje metoda apsorpcije dvostrukih rendgenskih zraka, tzv DEXA metoda (od engl. *dual energy x-ray absorptiometry*). Osnovni parametar DEXA metode mjerenja je sadržaj minerala (BMC, od engl. *bone mineral content*) u zadanom području kosti koji se izražava u gramima hidroksiapatita ili nekog drugog mineralnog ekvivalenta kosti. Mineralna gustoća kosti (BMD) se izražava kao površinska gustoća u g/cm<sup>2</sup>, a predstavlja sadržaj minerala (BMC) u jedinici mase (g) na zadanom području kosti (BA, od engl. *bone area*), izražena u jedinici površine (cm<sup>2</sup>) (THOMAKOS i LIAKATOS, 2000). Metoda se zasniva na dvostrukim rendgenskim zrakama različitih energija koje se apsorbiraju u tkivima različite gustoće, mekim tkivima i kosti. To je metoda kvantitativne radiologije kostura, odnosno objektivne, kvantitativne analize rentgenske slike (ŠEHIĆ, 2000). Osim DEXA metode koriste se još i metode temeljene na perifernoj apsorpciji dvostrukih rendgenskih zraka, tzv. P-DEXA (od engl. *peripheral dual energy x-ray absorptiometry*), dvostrukoj apsorpciji fotona (DPA, od engl. *dual photon absorptiometry*), ultrazvuk (US, od engl. *ultrasound*), kvantitativna kompjutorska tomografija (QCT, od engl. *quantitative computed tomography*) i radiografska apsorpcija (RA, od engl. *radiographic absorptiometry*). Kako bi mjerenje mineralne gustoće kosti bilo uspješno, važno je dobro poznavanje građe i metabolizma kosti, razumijevanje fizike rendgenskih zraka, posebno njihove apsorpcije, sposobnost kvalitetne analize denzitometrijske slike u smislu ispravnog položaja pacijenta ili objekta, obilježavanja područja interesa, artefakata ili anatomskih abnormalnosti, te poznavanje zaštite od zračenja. Različiti položaji kosti mogu utjecati na izmjerenu vrijednost mineralne gustoće zbog razlika u konfiguraciji i građi pojedinih dijelova kosti koja se izlaže zračenju. Kada se obavljaju mjerenja više uzoraka u nizu, strogo se preporučuje upotreba istog instrumenta, poštivanje iste procedure mjerenja te obavljanje cijelog postupka od strane iste osobe (KHAN i sur., 2002.).

## 2.5. Mjerenje mineralne gustoće kosti životinja

Mjerenje mineralne gustoće kosti u životinja većinom je eksperimentalno i koristi se kao životinjski model za istraživanje metaboličkih bolesti koštanog tkiva ljudi, kod istraživanja procesa cijeljenja oštećene kosti, ugradnje implantata, učinka lijekova na metabolizam kosti. Pri tome se najčešće koristi DEXA metoda. Obzirom da se koriste humani osteodenzitometri, svaka metoda zahtijeva određene prilagodbe prema vrsti životinje na kojoj se primjenjuje. Osnovne smjernice mjerenja mineralne gustoće kosti kod životinja dali su GRIER i TURNER (1996.) i TURNER (2001.). Anatomska građa životinjskih kostiju razlikuje se od ljudskih i zbog toga je ključni element metode ispravan položaj tijela životinje prema izvoru zračenja te pravilan odabir područja pretrage (ROI, od engl. *region of interest*). Za denzitometriju malih životinja razvijeni su posebne metode tijekom kojih se regulira jačina zračenja i smjer rendgenskih zraka, te odgovarajući računalni program tzv. program visoke rezolucije (engl., *ultrahigh resolution*) primjenjiv na štakoru, kuniću, mački, a korišten je i kod pasa te nekih gmazova. Većina osteodenzitometara konstruirana je prema čovjeku, pa zbog toga kod njihove primjene na malim životinjama daju manju razlučivost rubova kosti. To je ujedno jedan od razloga zbog kojeg DEXA metoda nije pouzdana za mjerenje mineralne gustoće kosti u životinja manjih od 50 g . Za mjerenje mineralne gustoće kosti u većih životinja uspješno se primjenjuju protokoli mjerenja za čovjeka. Metoda mjerenja je potpuno neinvazivna za životinje, a u pripremi protokola najvažnije je određivanje pravilnog položaja životinje prema poznavanju anatomske konfiguracije kostiju te pravilno određivanje područja pretrage (GRIER i TURNER , 1996.). Pravilan položaj objekta mjerenja važan je zbog toga DEXA osteodenzitometar trodimenzionalnu strukturu prevodi u dvodimenzionalnu sliku (MARKEL i sur., 1994.). Razlike u vrijednostima mineralne gustoće dugih kostiju lijevog i desnog uda ne pokazuju značajne razlike te se takvo mjerenje može koristiti kao kontrolno. U velikih životinja mjerenje mineralne gustoće kosti obavlja se samo u eksperimentalne ili dijagnostičke svrhe, ali na dijelovima tijela uginulih životinja. Za kliničku upotrebu osteodenzitometrije u tih životinja bilo bi potrebno konstruirati poseban uređaj prilagođen veličini i položajima tijela. Na živim životinjama bila bi moguća mjerenja samo na distalnim dijelovima udova (GRIER i TURNER , 1996.). DEXA metoda koristi se kod konja na kostima metapodija u svrhu utvrđivanja utjecaja prehrane, lijekova i hormona na pregradnju koštanog tkiva i promjene mineralne gustoće kosti , te procjene spomenutih utjecaja kao činitelja rizika od prijeloma kosti (McCLURE i sur.2001.).

Osim plavobijelih dupina (GUGLIELMINI i sur., 2002.), mineralna gustoća kosti istraživana je i na dobrim dupinima (LUCIĆ, 2006; BUTTI i sur. 2007.) upotrebom DEXA metode za denzitometriju kralježnice čovjeka. Mjerenje je provedeno na nadlaktičnoj kosti i podlaktičnim kostima životinja. Opisane su dobne i spolne razlike u mineralnoj gustoći istraženih kostiju dupina. Spomenuta istraživanja provedena su s ciljem utvrđivanja promjena u mineralnoj gustoći kosti kao mogućeg pokazatelja dobi životinje, a time i utvrđivanja pomoćne metode za određivanje dobi dupina u slučajevima kada to nije moguće odrediti standardnim metodama.

## **03. MATERIJAL I METODE**

### **3.1. Životinje**

Za potrebe ovog istraživanja korišteni su podaci uzeti od ukupno 24 dobra dupina (*Tursiops truncatus*) koja su pronađena uginula na hrvatskoj obali Jadranskog mora u rasponu od 1997. do 2002. godine. Dobri dupin je vrsta životinja koja je najstrože zaštićena prema Pravilniku o zaštiti pojedinih vrsta sisavaca (Mammalia) Zakona o zaštiti prirode Republike Hrvatske, donesenom 17. svibnja 1995. godine. Od ukupnog broja istraženih dupina 11 je muških i 13 je ženskih životinja.

#### **3.1.1. Mužjaci dobrih dupina**

D019 je mužjak dobrog dupina, star oko 7 godina, ukupne tjelesne dužine od 240 cm. Pronađen je 16. kolovoza 1997. godine na obali otočića Barbarin u blizini Poreča kao vrlo stara lešina.

D022 je mladi mužjak dobrog dupina, star oko 3 godine. Ukupna tjelesna dužina iznosila je 234 cm. Pronađen je 17. ožujka 1998. godine, utopljen u ribarskoj mreži u moru uz otočić Melevrin kod mjesta Kanica.

D023 je mužjak dobrog dupina starosti oko 11 godina, ukupne tjelesne dužine od 291 cm, a pronađen je 12. siječnja 1999. godine na obali u staroj gradskoj luci u Dubrovniku.

D028 je mužjak dobrog dupina starosti oko 16 godina i ukupne tjelesne dužine oko 312 cm.

D032 je mužjak dobrog dupina starosti oko 3 godine, ukupne tjelesne dužine od 208 cm i mase 128 kg. Pronađen je 1. studenog 1999. godine na obali u blizini Rovinja.

D036 je mužjak dobrog dupina, star oko 10 godina, ukupne tjelesne dužine od 282 cm i mase 156 kg. Pronađen je 1. prosinca 1999. godine u uvali Veli Porat na otoku Šćedro.

D040 je mužjak dobrog dupina starosti oko 13 godina, ukupne tjelesne dužine od 288 cm i mase 288 kg. Pronađen je 17. ožujka 2000. godine u moru Kornatskog otočja.

D062 je mužjak dobrog dupina starosti oko 14 godina, ukupne tjelesne dužine od 290 cm i mase 155 kg. Pronađen je 19. srpnja 2001. godine u moru ispred mjesta Vrboska na otoku Hvaru.

D064 je mužjak dobrog dupina starosti oko 17 godina, ukupne tjelesne dužine od 312 cm i mase 305 kg. Pronađen je 9. listopada 2001. godine u uvali Karpinjan pokraj Novigrada Istarskog.

D072 je mužjak dobrog dupina starosti oko 17 godina, ukupne tjelesne dužine od 294 cm i mase 324 kg. Pronađen je 18. listopada 2002. godine u moru uz Virski most kod Nina.

D080 je mužjak dobrog dupina starosti oko 17 godina, ukupne tjelesne dužine od 294 cm i mase 324 kg. Pronađen je 1. ožujka 2002. godine u Kukljici na otoku Ugljanu.

### **3.1.2. Ženke dobrih dupina**

D016 je ženka dobrog dupina starosti oko 7 godina, ukupne tjelesne dužine 275 cm, a pronađena je na dnu mora pokraj luke u Martinščici na otoku Cresu.

D017 je ženka dobrog dupina stara oko 13 godina, ukupne tjelesne dužine 274 cm, a pronađena je 30. srpnja 1997. godine na otoku Unije.

D020 je ženka dobrog dupina u dobi od oko 21 godine s izmjerenom ukupnom dužinom tijela od 288 cm.

D025 je ženka dobrog dupina stara oko 12 godina, ukupne tjelesne dužine 278 cm i mase 228 kg. Pronađena je 27. veljače 1999. godine u moru pokraj Nina.

D035 je ženka dobrog dupina stara oko 14 godina, ukupne tjelesne dužine 258 cm i mase 163 kg. Pronađena je 24. studenog 1999. godine na obali između Vrboske i Jelse na otoku Hvaru.

D038 je ženka dobrog dupina stara oko 21 godine, ukupne tjelesne dužine 286 cm i mase 261 kg. Pronađena je 12. siječnja 2000. godine u rijeci Zrmanji nizvodno od Obrovca.

D039 je ženka dobrog dupina stara oko 17 godina, ukupne tjelesne dužine 276 cm i mase 192 kg. Pronađena je 2. ožujka 2000. godine južno od ušća Neretve, nedaleko od Slivnog.

D041 je ženka dobrog dupina stara oko 12 godina, ukupne tjelesne dužine 261 cm i mase 224 kg. Pronađena je 27. travnja 2000. godine na obali u mjestu Milna na otoku Hvaru.

D051 je ženka dobrog dupina stara oko 21 godine, ukupne tjelesne dužine od 275 cm. Pronađena je 15. veljače 2001. godine na obali u Ugljanu na otoku Ugljanu.

D054 je ženka dobrog dupina stara oko 17 godina, ukupne tjelesne dužine od 281 cm i mase 236 kg. Pronađena je 18. ožujka 2001. godine u moru kanala između otoka Plavnika i Cresa.

D057 je ženka dobrog dupina stara oko 7 godina, ukupne tjelesne dužine od 246 cm. Pronađena je na obali između Novigrada i Podgradine.

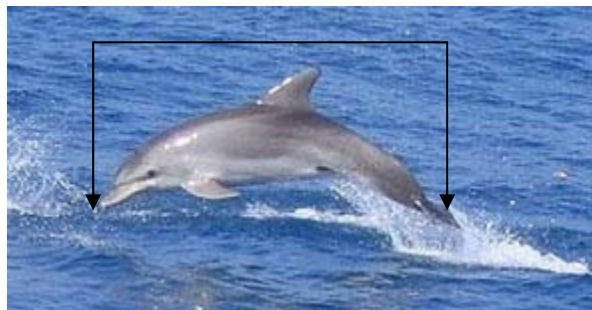
D063 je ženka dobrog dupina stara oko 2 godine, ukupne tjelesne dužine od 200 cm, a pronađena je na obali kod mjesta Kaštel Štafilić.

D066 je ženka dobrog dupina stara oko 11 godina, ukupne tjelesne dužine od 283 cm i mase 199 kg. Pronađena je 25. travnja 2002. godine u uvali Viševica u blizini Zatona.

### 3.2. Uzimanje uzoraka i metode obrade

Za potrebe ovog istraživanja korišteni su koštani preparati desne prsne peraje svakog istraženog dupina. Osim koštanih preparata na kojima je mjerena mineralna gustoća nadlaktične kosti, korišteni su podaci izmjerene ukupne dužine tijela i mase svake istražene životinje te podaci o starosti životinja dobiveni određivanjem dobi dupina na histološkom uzorku zuba. Uzorci tkiva i organa dupina kao i detaljni podaci o svakoj životinji čuvaju se u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, u sastavu znanstveno-istraživačkog projekta «Zdravstvene i ostale biološke osobitosti sisavaca Jadranskog mora» (voditelj: Prof. dr. sc. Hrvoje Gomerčić), Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa republike Hrvatske.

Prilikom obrade svakog uginulog dupina određivane su ukupno 22 vanjske tjelesne mjere prema PERRINU (1975.) od čega je za potrebe ovog istraživanja uzeta mjera ukupne tjelesne dužine koja se mjeri između vrha gornje čeljusti i dna medijane usjekline repne peraje (slika 1).



**Slika 1.** Dobri dupin u prirodi (preuzeto, [www.bottlenosed-dolphin.tripod.com](http://www.bottlenosed-dolphin.tripod.com)). Strelica označava ukupnu dužinu tijela.

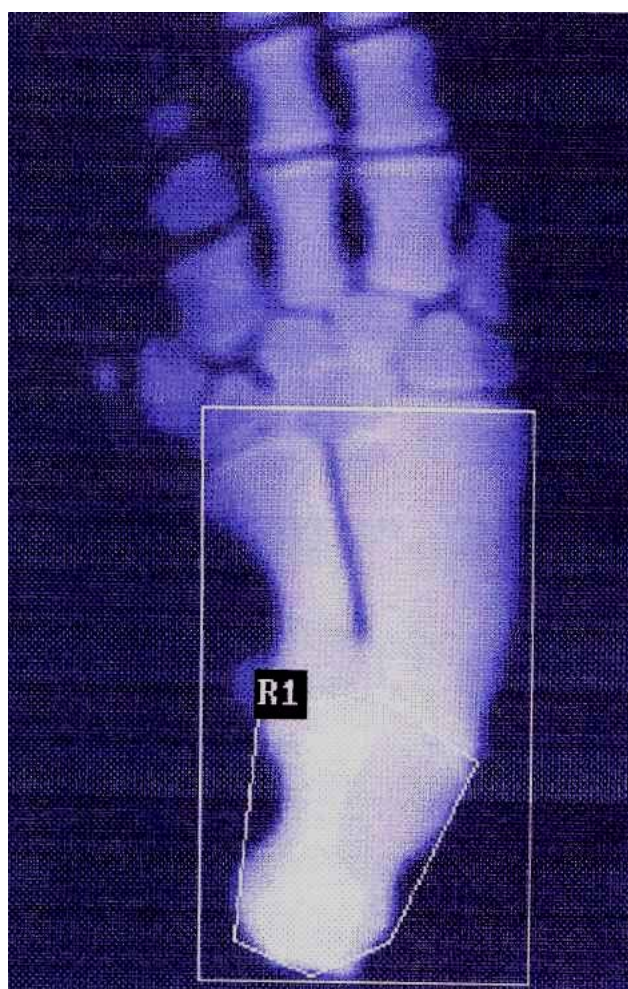


Dob dupina je određivana je standardnom metodom brojanja godišnjih zona prirasta zubnog dentina (GLG metoda, prema engl. *growth layer group*) prema MYRICKU (1988.). Nakon vađenja iz zubnice, zub je prvo mehanički očišćen te je zatim dekalificiran u 5 %-tnoj dušičnoj kiselini. Tako obrađen zub rezan je na odsječke debljine 20 – 30  $\mu\text{m}$  i obojan Harrisovim hematoksilinom. Nakon ispiranja, odsječci su uklopljeni u glicerol želatinu te su dobiveni trajni histološki preparati zuba dupina koji su promatrani svjetlosnim mikroskopom (Nikon Microphot FXA) pod povećanjem 40 – 100x. Godišnje zone prirasta zuba neovisno su brojale tri istraživača, a usporedbom rezultata utvrđena je starost životinje kao najčešće dobiveni broj ili srednja vrijednost.

### **3.3. Mjerenje mineralne gustoće kosti dupina**

Mineralna gustoća kosti je mjerena denzitometrijskom metodom (DEXA, od engl. *dual energy X-ray absorptiometry*), a nadlaktičnoj kosti desne prsne peraju od ukupno 22 dupina. Mjerenje je obavljeno na koštanim preparatima prsne peraje dobivenim uklanjanjem kože i mekih tkiva, pranjem, kuhanjem i sušenjem peraje dupina. Takav preparat je izložen X-zrakama denzitometrijskog uređaja za mjerenje mineralne gustoće kosti (DXA-uređaj ili DEXA-uređaj, od engl. *dual-energy X-ray absorptiometer*). Korišten je Hologic QDR-4000 osteodenzitometar (S/N 55428; Hologic Inc., Waltham, MA, USA) smješten u Zavodu za anatomiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Uređaj proizvodi X-zrake koje imaju energiju od 70 keV i 140 keV, pri jakosti od 2,0 mA i frekvenciji 50Hz. Taj osteodenzitometar je opremljen računalnim programima koji omogućuju mjerenje gustoće kostiju slabinske kralježnice, bedrene kosti, ramena čovjeka, cijele kralježnice djeteta, femoralnih proteza i kostiju malih životinja. Prema unaprijed odabranom računalnom programu mjerenja uređaj automatski usmjerava snop X-zraka prema objektu pri čemu regulira smjer i intenzitet zračenja ovisno o području tijela ili kostima na koje se odnosi odabrani program. Uređaj omogućuje denzitometriju kostiju malih životinja pomoću računalnog programa «*Rat Whole Body*®» (Hologic Inc., Waltham, MA, USA) koji radi na principu visoke rezolucije zahvaljujući usmjerivaču snopa X-zraka što je korišteno za potrebe ovog istraživanja. Meka tkiva prsne peraje simulirana su upotrebom posebno konstruirane ploče izrađene od čistog akrilika koja ima apsorpciju X-zraka jednaku onoj u mekim tkivima i koja se naziva lexan-ploča (*Acrylic Scan Platform*, Hologic Inc., Waltham, MA, USA).

Neposredno prije mjerenja koštani preparat desne prsne peraje dupina u dorzopalmarnom položaju, postavljen je na lexan-ploču. Mjerenje jednog uzorka, ovisno o njegovoj veličini, trajao je prosječno oko 10 minuta. Na osteodenzitometrijskoj slici svake peraje preko računalnog sustava određeno je područje mjerenja koje odgovara nadlaktičnoj kosti i označeno je kao ROI (od engl., *region of interest*), slike 2 i 3. Osim mineralne gustoće kosti BMD (od engl., *bone mineral density*), uređaj mjeri i sadržaj minerala u odabranom području kao BMC (od engl., *bone mineral content*). Dobiveni podaci obrađeni su upotrebom standardnog statističkog programa «Statistica for Windows 7.1».



**Slika 2.** Osteodenzitometrijska slika dijela prsne peraje dobrog dupina. R1 označava područje nadlaktične kosti.



**Slika 3.** Koštani preparat dijela prsne peraje dobrog dupina. Crtama je ograničena nadlaktična kost.

## 04. REZULTATI

### 4.1. Ukupna dužina tijela istraženih životinja

Od vanjskih tjelesnih mjera, za potrebe ovog istraživanja uzeti su podaci ukupne dužine tijela od 24 dobra dupina i to 11 mužjaka i 13 ženki. Potrebni podaci uzeti su iz istraživačkih protokola svake životinje u koje su upisani svi poznati podaci o pojedinom dupinu.

Izmjerene vrijednosti ukupne dužine tijela prikazane su u tablicama. Tablica 1 prikazuje izmjerene vrijednosti u mužjaka, a tablica 2 prikazuje vrijednosti u ženki dobrih dupina.

Redni broj	Oznaka dupina	Ukupna dužina tijela / cm
1.	D032	208
2.	D022	234
3.	D072	235
4.	D019	240
5.	D036	282
6.	D040	288
7.	D062	290
8.	D023	291
9.	D080	294
10.	D028	312
11.	D064	312

**Tablica 1.** Ukupna dužina tijela mužjaka dobrih dupina.

Ukupno je obrađeno 11 mužjaka dobrog dupina, a izmjerena dužina kreće se u rasponu od najmanje 208 cm (D032) do najviše 312 cm (D064). Od ukupnog broja dupina čak ih je 7 duže od 250 cm.

U tablici 2 su prikazane izmjerene ukupne dužine tijela u ženki dobrih dupina koje su obuhvaćene ovim istraživanjem.

<b>Redni broj</b>	<b>Oznaka dupina</b>	<b>Ukupna dužina tijela / cm</b>
1.	D063	200
2.	D057	246
3.	D035	258
4.	D041	261
5.	D016	275
6.	D051	275
7.	D039	276
8.	D025	278
9.	D017	279
10.	D054	281
11.	D066	283
12.	D038	286
13.	D020	288

**Tablica 2.** Ukupna dužina tijela u ženki dobrih dupina.

Ukupno je izmjereno 13 ženki dobrih dupina. Sve izmjerene vrijednosti nalaze se u rasponu od 200 cm (D063) do 288 cm (D020). Od ukupnog broja ženki samo su dvije kraće od 250 cm, a sve ostale životinje koje su obuhvaćene ovim istraživanjem duže su od 250 cm.

#### 4.2. Dob istraženih dupina

Podaci o dobi istraženih životinja dobiveni su histološkom metodom brojanja godišnjih zona prirasta zuba. Dob dupina obuhvaćenih ovim istraživanjem prikazana je u sljedećim tablicama.

Redni broj	Oznaka dupina	Dob /godina
1.	D032	3
2.	D022	3
3.	D019	7
4.	D072	10
5.	D036	10
6.	D023	11
7.	D040	13
8.	D062	14
9.	D028	16
10.	D080	17
11.	D064	17

**Tablica 3.** Dob istraženih mužjaka dobrih dupina.

Svi mužjaci dobrih dupina koji su obuhvaćeni ovim istraživanjem nalaze se u rasponu dobi od tri do 17 godina. Tri životinje su mlađe od deset godina, dvije životinje su u dobi od deset godina, a šest životinja je starije od deset godina kako prikazuje tablica 3.

Ukupno 13 ženki dobrih dupina koje su obuhvaćene ovim istraživanjem nalaze se u rasponu dobi od dvije do 21 godine. Tri životinje su mlađe od deset godina, a svih preostalih deset životinja su starije od deset godina, a tri životinje su starije i od 20 godina.

Procijenjena dob ženki dobrih dupina prikazana je u tablici 4 u rastućem nizu složenom prema dobi dupina.

Redni broj	Oznaka dupina	Dob / godina
1.	63	2
2.	57	7
3.	16	7
4.	66	11
5.	41	12
6.	25	12
7.	35	14
8.	17	16
9.	39	17
10.	54	17
11.	51	21
12.	38	21
13.	20	21

**Tablica 4.** Procijenjena dob u ženki dobrih dupina.

#### **4.3. Mineralna gustoća nadlaktične kosti dobrih dupina**

Mineralna gustoća kosti u ovom istraživanju dobivena je DEXA metodom pri čemu je mjerena količina minerala na zadanoj površini desne prsne peraje dupina. Kost je izložena X-zrakama dvostruke energije, a mjerenje i analiza uzoraka obavljena je računalnim programom za male životinje. Izmjeren je i prikazan sadržaj minerala, BMC (od engl. *bone mineral content*) i mineralna gustoća nadlaktične kosti, BMD (od engl. *bone mineral density*).

Dobiveni podaci razdijeljeni su u skupine prema spolu dupina te prikazani u tablicama.

U tablici 5 su prikazane vrijednosti sadržaja minerala u nadlaktičnoj kosti i mineralne gustoće nadlaktične kosti u mužjaka dobrih dupina.

Redni broj	Oznaka dupina	BMC / g	BMD / g/cm <sup>2</sup>
1.	D022	18,49	0,801
2.	D032	16,77	0,812
3.	D072	21,81	0,912
4.	D019	24,01	0,938
5.	D040	34,99	0,985
6.	D023	34,21	0,999
7.	D064	36,45	1,049
8.	D080	37,00	1,081
9.	D036	35,61	1,117
10.	D062	42,13	1,140
11.	D028	41,92	1,173

**Tablica 5.** Osteodenzitometrijske vrijednosti u nadlaktičnoj kosti mužjaka dobrih dupina (BMC, sadržaj minerala u nadlaktičnoj kosti; BMD, mineralna gustoća nadlaktične kosti).

Izmjerene vrijednosti sadržaja minerala i mineralne gustoće nadlaktične kosti mužjaka (tablica 5) i ženki (tablica 6) dobrih dupina prikazane su u rastućem nizu od životinje s najnižom izmjerenom vrijednošću (D022) do životinje s najvišom izmjerenom vrijednošću (D028) mineralne gustoće kosti. U ženki dobrih dupina najniža izmjerena mineralna gustoća nadlaktične kosti izmjerena je u životinje s oznakom D016, a najviša vrijednost mineralne gustoće nadlaktične kosti izmjerena je u životinje D017.

U tablici 6 su prikazane vrijednosti sadržaja minerala u nadlaktičnoj kosti i mineralne gustoće nadlaktične kosti u ženki dobrih dupina.

Redni broj	Oznaka dupina	BMC / g	BMD / g/cm <sup>2</sup>
1.	D016	16,45	0,649
2.	D063	11,94	0,679
3.	D057	21,47	0,883
4.	D054	27,07	0,893
5.	D035	25,05	0,918
6.	D051	24,46	0,919
7.	D020	30,97	0,939
8.	D038	28,72	0,981
9.	D041	27,03	1,003
10.	D066	33,45	1,043
11.	D039	33,74	1,085
12.	D025	34,35	1,093
13.	D017	31,50	1,153

**Tablica 6.** Osteodenzitometrijske vrijednosti u nadlaktičnoj kosti ženki dobrih dupina (BMC, sadržaj minerala u nadlaktičnoj kosti; BMD, mineralna gustoća nadlaktične kosti).

U skupini ženki dobrih dupina prevladavaju vrijednosti mineralne gustoći kosti (BMD) veće od 0,9 g/cm<sup>2</sup> što je izmjereno u devet od ukupno 13 životinja, a samo četiri ženke imaju manju BMD vrijednost.




#### 4.4. Statistička obrada podataka

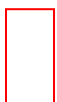
Izmjerene vrijednosti na uzorku dobrih dupina testirane su osnovnim metodama deskriptivne statistike. Kao statističke varijable uzet je spol životinja, dob, ukupna tjelesna dužina, te izmjereni parametri mineralne gustoće kosti, a to su sadržaj minerala nadlaktične kosti (BMC, od engl. *bone mineral content*) i mineralna gustoća nadlaktične kosti (BMD, od engl. *bone mineral density*).


Od osnovnih statističkih analiza odabrane su one koje su korištene u drugim metodama obrade parametara mineralne gustoće kosti dupina koje su opisane u dostupnoj literaturi. U tom smislu, statistička obrada podataka odnosi se na usporedbu spola i dobi dupina kao osnovnih bioloških parametara, s parametrima mineralne gustoće nadlaktične kosti dupina kako bi se utvrdio njihov odnos.

##### 4.4.1. Osnovne statističke vrijednosti prema spolu dupina

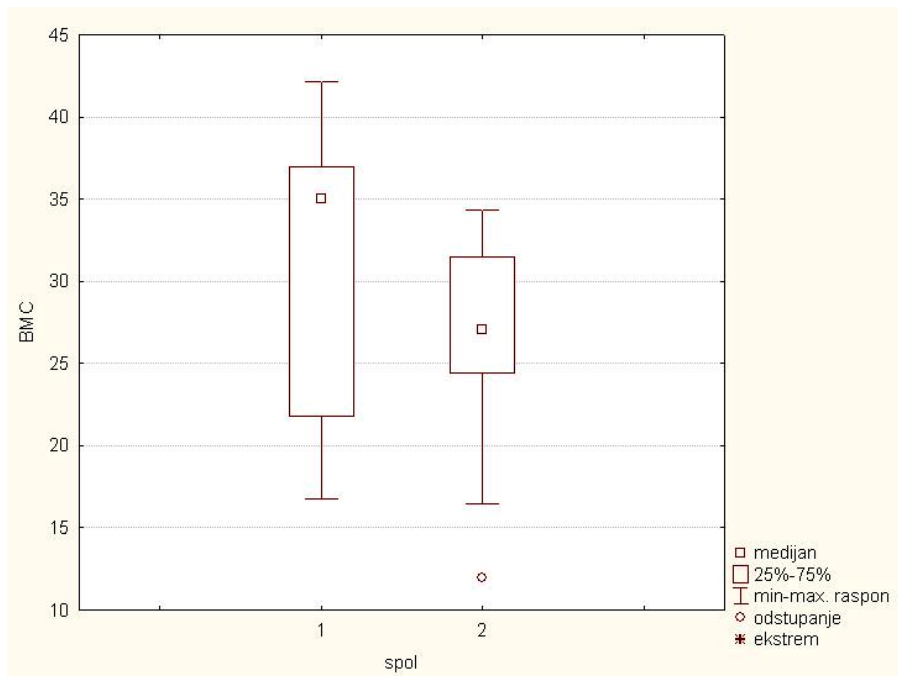
Osnovne razlike u vrijednostima sadržaja minerala i mineralne gustoće nadlaktične kosti dobrih dupina testirane su t-testom i prikazane grafikonomima u kojima su označeni medijan, interaktivni raspon, 50% uzoraka (25% do 75%), te najniža i najviša vrijednost u uzorku.

 - medijan

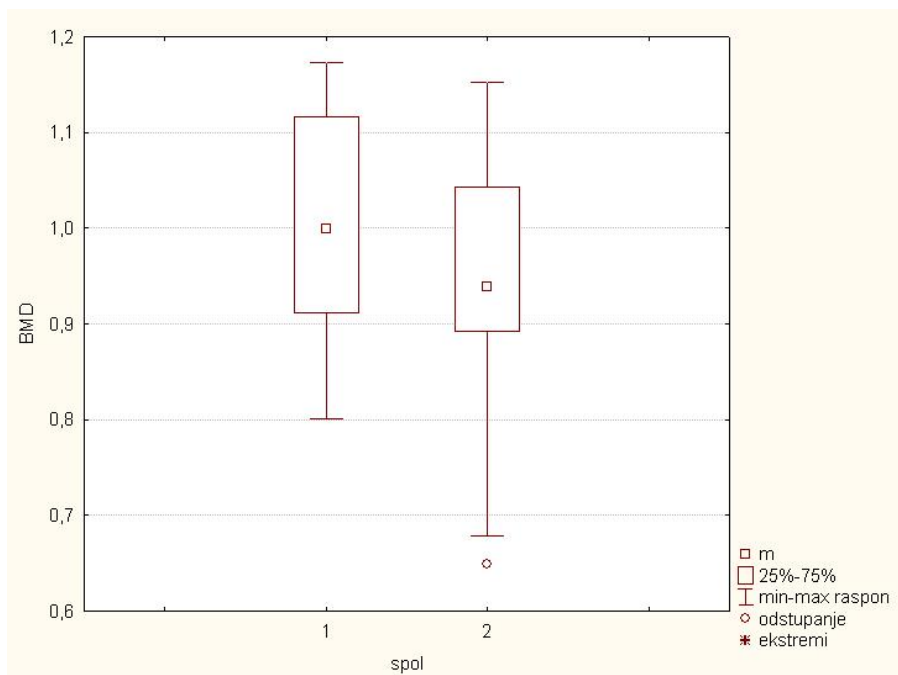
 - interaktivni raspon (50% uzoraka)

 - raspon najniže i najviše vrijednosti

Na sljedećim slikama (4 i 5) su grafički prikazi osnovnih statističkih vrijednosti parametara mineralne gustoće nadlaktične kosti i njihove razlike između mužjaka i ženki dobrih dupina.



**Slika 4.** Grafički prikaz sadržaja minerala nadlaktične kosti (BMC) mušjaka (1) i ženki(2) dobrih dupina.

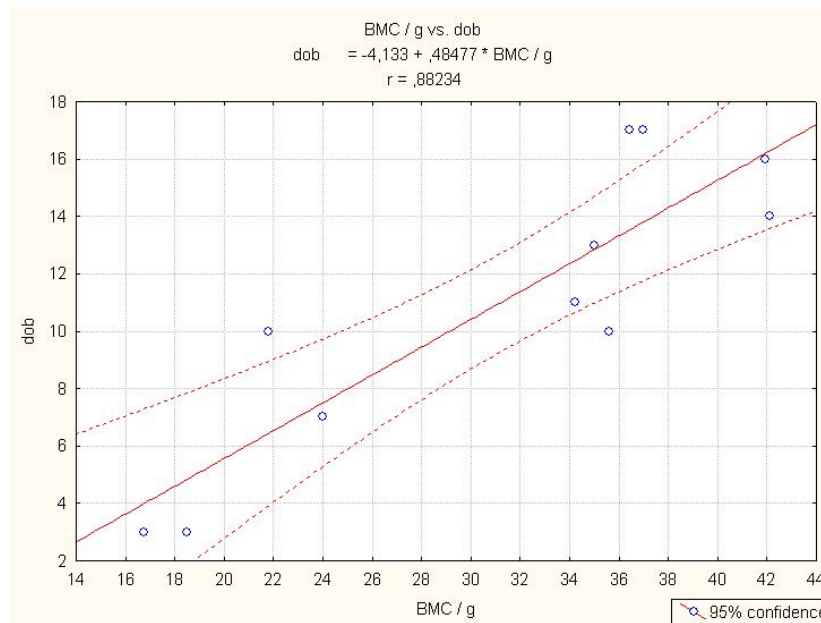


**Slika 5.** Grafički prikaz mineralne gustoće nadlaktične kosti (BMD) mušjaka (1) i ženki(2) dobrih dupina.

#### 4.4.2. Linearna korelacijska analiza

Korelacijskom statističkom analizom testirane su odvojeno skupina mužjaka, ukupno 11 životinja i skupina ženki dobrih dupina, ukupno 13 životinja. Analiza je provedena zbog utvrđivanja povezanosti dobi i ukupne tjelesne dužine životinje s parametrima mineralne gustoće kosti, sadržajem minerala nadlaktične kosti (BMC) i mineralne gustoće nadlaktične kosti (BMD) dobrih dupina.

Korelacijski odnosi spomenutih parametar prikazani su na sljedećim slikama.

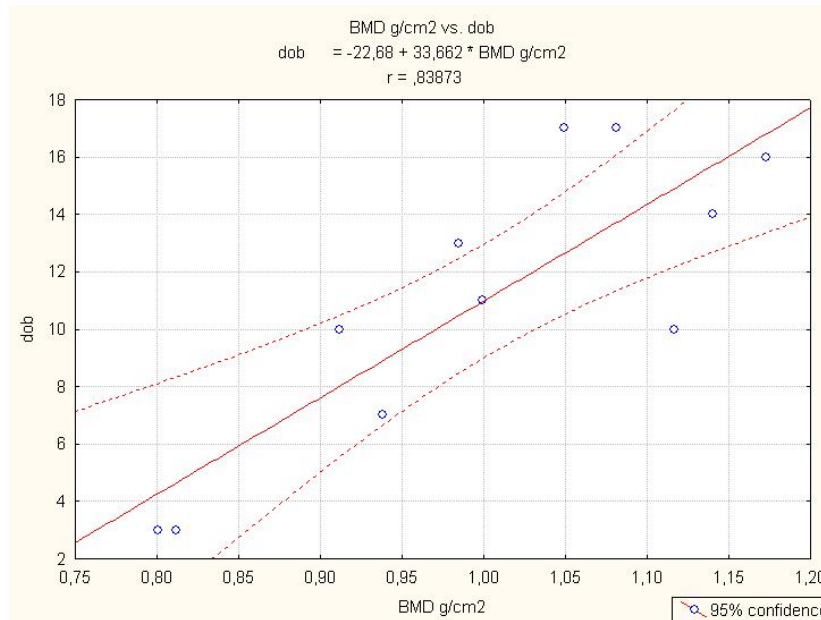


**Slika 6.** Korelacija sadržaja minerala nadlaktične kosti (BMC) i dobi mužjaka dobrih dupina.

U skupini mužjaka dobrih dupina dob životinja je u dobrom korelacijskom odnosu sa sadržajem minerala nadlaktične kosti (BMC) što prikazuje slika 6. Povezanost ova dva svojstva izražena je koeficijentom korelacije ( $r$ ),  $r = 0,88$ .

Povezanost sadržaja minerala nadlaktične kosti u skupini mužjaka dobrih dupina sa ukupnom dužinom tijela također je izražena vrlo dobrim koeficijentom korelacije koji iznosi približno  $r = 0,95$ .

U skupini mužjaka dobrih dupina testirana je i korelacija vrijednosti mineralne gustoće nadlaktične kosti s dobi životinja i s ukupnom dužinom tijela.

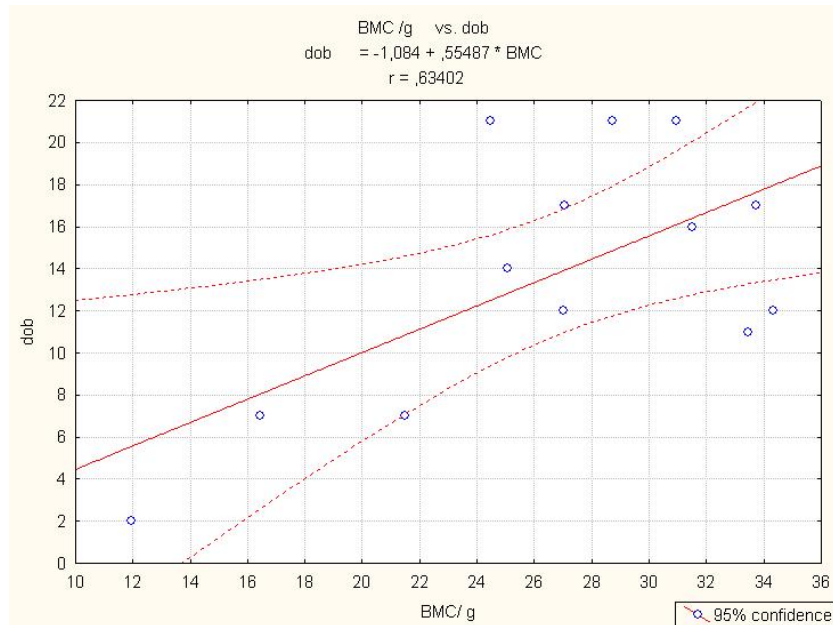


**Slika 7.** Korelacija mineralne gustoće nadlaktične kosti (BMD) i dobi mužjaka dobrih dupina.

Mineralna gustoća nadlaktične kosti mužjaka dobrih dupina u dobroj je korelaciji s dobi dupina. Dobra povezanost ovih parametara prikazana je na slici 7 i izražena je koeficijentom korelacije koji je iznosi približno  $r = 0,84$ .

Mineralna gustoća nadlaktične kosti u mužjaka dobrih dupina također je dobro korelirana s ukupnom dužinom tijela životinja. Povezanost ovih svojstava izražena je koeficijentom korelacije koji iznosi približno  $r = 0,87$ .

U skupini ženki dobrih dupini na isti način kao i kod mužjaka su testirani korelacijski odnosi sadržaja minerala i mineralne gustoće nadlaktične kosti i dobi i ukupne dužine tijela životinja.

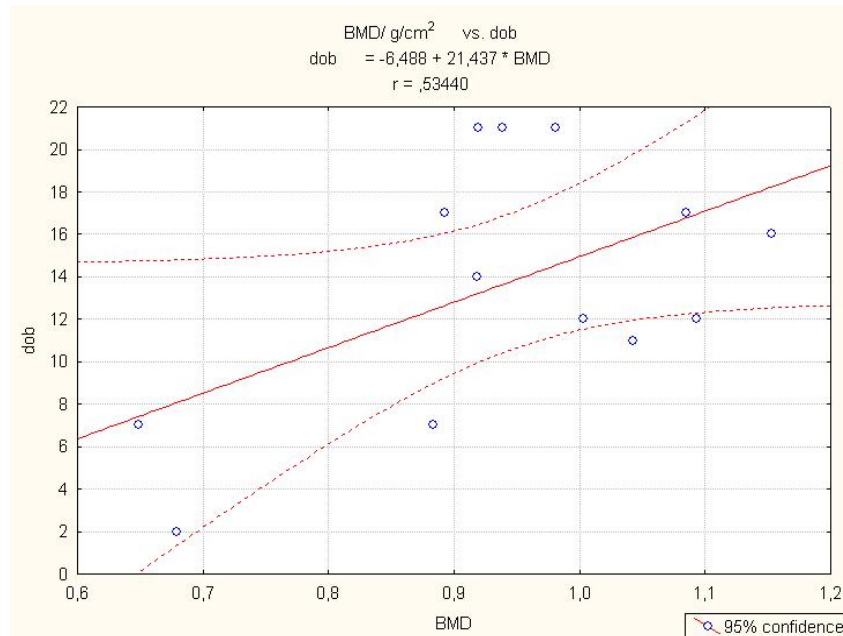


**Slika 8.** Korelacija sadržaja minerala nadlaktične kosti (BMC) i dobi u ženki dobrih dupina.

Povezanost sadržaja minerala nadlaktične kosti u ženki dobrih dupina (BMC) i dobi životinja prikazana je na slici 8. Koeficijent korelacije ova dva svojstva niži je nego u skupini mužjaka i iznosi  $r = 0,63$ .

U skupini ženki dobrih dupina testiran je i korelacijski odnos sadržaja minerala nadlaktične kosti s ukupnom dužinom tijela i povezanost ova dva svojstva izražena je koeficijentom korelacije koje iznosi  $r = 0,75$ .

Korelacijski odnos mineralne gustoće nadlaktične kosti u ženki dobrih dupina (BMD) i dobi životinja prikazan je na slici 9. Povezanost spomenutih svojstava izražena je koeficijentom korelacije koji iznosi  $r = 0,54$ .



**Slika 9.** Korelacija mineralne gustoće nadlaktične kosti (BMD) i dobi u ženki dobrih dupina.

Mineralna gustoća nadlaktičnih kostiju u skupini ženki dobrih dupina (BMD) korelirana je s ukupnom dužinom tijela, a povezanost ovih svojstava izražena je koeficijentom korelacije koji iznosi  $r = 0,55$ .

## 05. RAZMATRANJE

Mjerenje mineralne gustoće nadlaktične kosti dupina u ovom istraživanju je obavljeno primjenom humanog osteodenzitometra koji ima mogućnost mjerenja mineralne gustoće kostiju malih životinja. Pri tome se podrazumijevaju laboratorijske životinje, te psi i mačke (GRIER i TURNER, 1996.). Metoda osteodenzitometrije malih životinja razrađena je zbog toga što je primjenom metoda mjerenja za čovjeka zabilježena slabija razlučivost kostiju male gustoće kakve su kosti malih životinja. Pri tome je slaba razlučivost najizraženija u rubnim dijelovima kostiju jer je razlika gustoće kosti i okolnih mekih tkiva u malih životinja znatno manja nego u čovjeka. U obzir treba uzeti i činjenicu da se osteodenzitometrija rutinski najviše primjenjuje kod odraslih ljudi i ljudi starije životne dobi prema čemu je razrađena osteodenzitometrija ljudi i konstruirani su svi osteodenzitometrijski uređaji. Zbog toga metoda osteodenzitometrije za male životinje uključuje manji snop X-zraka koje su posebnim uređajem, usmjerivačem, usmjerene na manje područje mjerenja. Time je postignuta veća razlučivost dobivene osteodenzitometrijske slike, ali je izmjerena vrijednost mineralne gustoće manja od one koja se na istom uzorku dobije metodom mjerenja za čovjeka (GALA PANIAGUA i sur., 1998.). Za razliku od ljudi kod kojih se osteodenzitometrija rutinski provodi u populaciji određene životne dobi, kod dupina je mjerenje mineralne gustoće obavljano na životinjama različitih dobnih kategorija od vrlo mladih do vrlo starih životinja te je raspon gustoće kosti u populaciji vrlo velik.

Prilagodba protokola za mjerenje mineralne gustoće kosti u dupina nije potrebna u odnosu na osteodenzitometrijsku metodu za čovjeka, ranije primjenjenu na dupinima. Tehnika osteodenzitometra je ista za obje metode i za dupine podrazumijeva isključivo eksperimentalnu primjenu na koštanim preparatima jer mjerenje na živom dupinu upotrebom klasičnog DEXA uređaja nije moguće. Takvi uređaji konstruirani su za čovjeka i prilagođeni kliničkim uvjetima. Osim koštanog preparata prsne peraje, korištena je simulacija mekog tkiva lexan-pločom jednako kao i kod osteodenzitometrije metodama za čovjeka (LUCIĆ, 2006).

Nadlaktična kost dupina je relativno mala kost, većinom spongiozne građe te je kao takva vrlo pogodna za osteodenzitometriju. Nadalje, prsna peraja dupina je dorzopalmarno spljoštena te se može lagano postaviti u položaj za mjerenje, a time su nepravilnosti u postavljanju uzorka gotovo potpuno izbjegnute. Kod čovjeka i kopnenih životinja to predstavlja problem jer položaj dijela tijela koji se mjeri može znatno varirati što kasnije dovodi do nerealne izmjerene

vrijednosti. Mjerenje mineralne gustoće kosti metodom za male životinje zbog manjeg snopa X-zraka, vremenski traje nešto duže u odnosu na metode za čovjeka, ako se radi o većem području tijela. Obzirom na veličinu nadlaktične kosti dupina spomenuta vremenska razlika je također zanemariva.

Vrijednosti parametara mjerenja mineralne gustoće kosti (sadržaj minerala i mineralna gustoća kosti) su relativne i ovise o vrsti osteodenzitometrijske metode koja je primjenjena na kostima dupina. Ne ulazeći u druge osteodenzitometrijske metode koje se zasnivaju na različitim fizikalnim principima (ultrazvuk, apsorpcija fotona, kompjutorska tomografija i dr.) kod različitih DEXA metoda zasnovanih na dvostrukim X-zrakama različitih energija zračenja, konačne izmjerene vrijednosti ovise o fizikalnim osobinama X-zraka. Te vrijednosti izražene u  $g$  (gram, za sadržaj minerala) i  $g/cm^2$  (gram na jedinici površine, za mineralnu gustoću kosti) su niže nakon mjerenja metodom za male životinje od vrijednosti koje se dobiju prilikom primjene metoda za čovjeka jer je različita količina X-zraka koje se usmjeravaju prema objektu kao i veličina njihova snopa (GRIER i TURNER, 1996). Na taj način se može zaključiti kako svaka metoda ima svoj raspon mjerenja unutar kojega su izmjerene vrijednosti pojedinačnih uzoraka pravilno distribuirane. Također se može pretpostaviti da se ta distribucija podataka događa na sličan način kod svih metoda koje se mogu primjeniti u mjerenju mineralne gustoće kosti nekog uzorka populacije pa je zato nužna statistička analiza takvog uzorka. Statističke razlike između pojedinih uzoraka su usporedive bez obzira o kojoj metodi mjerenja se radi (GRIER i TURNER, 1996).

Sva dosadašnja istraživanja mineralne gustoće kosti dupina (GUGLIELMINI i sur. 2002.; LUCIĆ, 2006.; BUTTI i sur., 2006.) provedena su na istim uređajima ili uređajima istih fizikalnih svojstava te se rezultati tih istraživanja nalaze u istom rasponu izmjerenih vrijednosti. Rezultati spomenutih istraživanja nedvojbeno idu u prilog primjeni osteodenzitometrije kod dupina, pogotovo u svrhu procjene dobi životinja. Rezultati ovog istraživanja usmjeravaju na činjenicu kako je za primjenu drugih metoda osteodenzitometrije potrebno razraditi postupak i formirati određenu referentnu bazu podataka dobivenu na odgovarajućem statističkom uzorku s kojom bi se mogla provoditi usporedba tijekom interpretacije izmjerenih vrijednosti. Statistička analiza odabranih uzoraka dupina u ranijim istraživanjima statistički je analizirana u smislu utvrđivanja odnosa parametara mineralne gustoće kosti s drugim biološkim svojstvima koji se mogu numerički izraziti, a to su u prvom redu dob i spol životinje te tjelesne mjere životinje.



U ovom istraživanju su statistički analizirani parametri mjerenja mineralne gustoće kosti (sadržaj minerala i mineralna gustoća kosti) na način da su uspoređivani s ukupnom dužinom tijela i s dobi životinja koja je određena standardnom metodom brojanja godišnjih zona prirasta zubnog dentina. U skupini mužjaka dobrih dupina utvrđena je visoka povezanost mineralne gustoće kosti s dobi životinja i s njihovom ukupnom dužinom tijela. Dobivene statističke vrijednosti u obliku koeficijenata korelacije između spomenutih svojstava usporedive su s podacima dobivenim na dupinama primjenom drugih metoda osteodenzitometrije. Unatoč malom uzorku mužjaka dobrih dupina od samo jedanaest životinja jasno se vidi da se mineralna gustoća nadlaktične kosti, jednako kao i sadržaj minerala u njoj, povećavaju s rastom životinje i povećanjem ukupne dužine tijela dupina. Ovakav rezultat slaže se s ranijim istraživanjima (GUGLIELMINI i sur., 2002.; LUCIĆ, 2006.), a dobivene statističke vrijednosti se podudaraju u obje metode mjerenja mineralne gustoće nadlaktične kosti dupina.

Jednako tako i metoda osteodenzitometrije korištena u ovom istraživanju pokazuje visoku statističku povezanost između mineralne gustoće kosti i dobi mužjaka dobrih dupina, unatoč malom uzorku životinja. Dobivena statistička korelacija odgovara onoj koja je opisana nakon primjene osteodenzitometrijske metode za čovjeka. Porastom dobi dupina povećava se odlaganje minerala u kosti te se povećava vrijednost sadržaja minerala i mineralne gustoće nadlaktične kosti u dobrih dupina.

Za razliku od mužjaka u skupini ženki dobrih dupina statistička analiza je pokazala manju povezanost testiranih svojstava. Povezanost mineralne gustoće kosti i ukupne dužine tijela ženki dobrih dupina slabija je nego što je u mužjaka. Na isti način prikazana je i povezanost mineralne gustoće kosti s dobi ženki dobrih dupina. Jednaka pojava statističkih razlika između mužjaka i ženki dobrih dupina opisana je i u istraživanjima ranije spomenutih autora. Ovo istraživanje je provedeno na uzorku od samo trinaest ženki dobrih dupina pa su zbog toga vjerojatno izraženiji neki drugi, spolno povezani utjecaji na statističke vrijednosti skupine ženki. Zanimljiv je podatak da je u skupini od 13 ženki dobrih dupina čak tri životinje u dobi procijenjenoj na 21 godinu. Vrijednosti sadržaja minerala i mineralne gustoće nadlaktične kosti tih životinja znatno opadaju u odnosu na izraženi trend rasta spomenutih vrijednosti u ranijim dobnim skupinama. Ukoliko se navedene tri životinje izuzmu iz uzorka te se ponovno obavi korelacijska analiza mineralne gustoće kosti s dobi životinja, dobivaju se znatno više statističke vrijednosti. Ta činjenica otvara mogućnost pojave smanjivanja mineralne gustoće kosti kakva je opisana u žena

postmenopausalne dobi te u nekih vrsta životinja. Sličan trend opisan je na većem uzorku ženki dobrih dupina primjenom osteodenzitometrijske metode za čovjeka (LUCIĆ, 2006.).

Statističke vrijednosti i njihove razlike među skupinama dobrih dupina u ovom istraživanju usporedive su s rezultatima ranijih istraživanja primjenom drugih metoda mjerenja mineralne gustoće kosti dupina. Zbog toga je moguće zaključiti kako je moguće mjerenje mineralne gustoće kosti dupina i primjenom metode opisane u ovom istraživanju. Jednako tako opisano istraživanje potvrđuje pretpostavku usporedivosti statističkih vrijednosti unutar uzorka dupina bez obzira na metodu mjerenja mineralne gustoće kosti o kojoj se radi.

## 06. ZAKLJUČCI

1. Osteodenzitometrijska metoda za male životinje može se uspješno primjenjivati za mjerenje mineralne gustoće nadlaktične kosti u dobrim dupina.
2. Protokol mjerenja mineralne gustoće kosti na koštanom preparatu prsne peraje dupina odgovara onome u metodi mjerenja mineralne gustoće kosti slabinske kralježnice čovjeka koja je ranije primjenjivana na dupinima.
3. Raspon izmjerenih vrijednosti sadržaja minerala i mineralne gustoće nadlaktične kosti dobrih dupina manji je kod mjerenja metodom opisanom u ovom istraživanju nego je to u ranije primjenjivanim metodama mjerenja mineralne gustoće kosti dobrih dupina.
4. Statističke vrijednosti dobivene ovdje opisanom metodom odgovaraju onima koje su opisane u ranijim istraživanjima drugih autora.
5. Unatoč manjem uzorku u skupini mužjaka dobrih dupina dobivene su statističke vrijednosti koje odgovaraju onima u drugim istraživanjima na većem uzorku mužjaka dobrih dupina.
6. Potvrđen je korelacijski odnos dobi dupina i mineralne gustoće nadlaktične dobi u dupina.
7. U skupini ženki dobrih dupina primjećen je trend smanjivanja mineralne gustoće kosti u starijih jedinki.

## 07. POPIS LITERATURE

ALMEIDA, J. DE, E. SCHEMITSCH (2002): Osteoporosis: An approach to diagnosis and treatment. University of Toronto Medical Journal; 80 (1): 28-33.

BEARZI, G., G. NOTOBARTOLO DI SCIARA, E. POLITI, G. LAURIANO (1994): Ecology and behavior of the bottlenosed dolphins near the islands of Lošinj and Cres (Croatia). U: Proceedings of the 5<sup>th</sup> Congress of Croatian Biologists (Urednik: H. Gomerčić) Hrvatsko biološko društvo. Zagreb, str. 401-402.

BEJDER, L., B. K. HALL (2002): Limbs in whales and limblessness in other vertebrates: mechanism of evolutionary and developmental transformation and loss. Evolution and Development; 4 (6): 445-458.

BLAKE, G. M., R. J. M. HERD, R. PATEL, I. FOGELMAN (2000): The effect of weight change on total body dual-energy X-ray absorptiometry: Results from a clinical trial. Osteoporosis Int.; 11: 832-839.

BLOOM, W., D. W. FAWCETT (1994): A Textbook of Histology. 12<sup>th</sup> ed. W. B. Saunders Company. Philadelphia.

BRUSINA, S. (1889): Sisavci Jadranskoga mora. Gradja za faunu Hrvatsku uz obzir na ostale sisavce Sredozemnoga mora. Rad JAZU 95, 76-176.

BUTTI, C., L. CORAIN, B. COZZI, M. PODESTA, A. PIRONE, M. AFFRONTI, A. ZOTTI (2006): Age estimation in the Mediterranean bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821) by bone density of the thoracic limb. J. Anat 211: 639 – 646.

CARWARDINE, M. (1995): Whales, Dolphins and Porpoises. A Dorling Kindersley Book. London, New York, Delhi, Johannesburg, Munich Sydney.

- COCKCROFT, V. G., G. J. B. ROSS (1989): Age, growth, and reproduction of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*, from the east coast of Southern Africa. Fishery Bulletin U.S. 88; 289-302.
- DACQUIN, R. R. A: DAVEY, C. LAPLACE, R. LAVASSEUR, H. A. MORRIS, S. R. GOLDRING, S. GEBRE-MEHDIN, D. L. GALSON, J. D. ZAJAC, G. KARSENTY (2004): J. Cell Biol.; 164 (4): 509-514.
- DELLMAN, H. D. (1993): Textbook of Veterinary Histology. 4<sup>th</sup> ed. Lea and Fabiger. Philadelphia.
- FELTS, W. J. L., F. A. SPURREL (1965): Structural orientation and density in cetacean humeri. Am. J. Anat.; 116: 171-204.
- FATAYERJI, D., A. M. COOPER, R. EASTELL (1999): Total bone and regional bone mineral density in men. Effect of age. Osteoporosis Int.; 10: 59-65.
- FELSENBERG, D., W. GOWINI (1998): Bone densitometry: applications in sport medicine. Eur. J. Radiol.; 28: 150-154.
- GALA PANIAGUA, J., M. DIAZ-CURIEL, C DE LA PIEDRA GORDO, C. CASTILLA REPARAZ, M. TORRABO GARCIA (1988): Bone mass assessment in rats by dual energy X-ray absorptiometry. Brit. J Radiol.; 71: 754-758.
- GOL'DIN, P. E. (2003): Bone of lower jaw of harbour porpoise (*Phocoena phocoena relicta* Abel, 1905) as a registering structure. Uchenye zapiski TNU. Series: Biology; 16 (55): 61-69.

- GOMERČIĆ, H., Đ. HUBER, D. MIHELIĆ, H. LUCIĆ, T. GOMERČIĆ, M. ĐURAS (1998): Procjena veličine populacije dobrog dupina u hrvatskom dijelu Jadrana. U: Zbornik sažetaka priopćenja 7. Hrvatskog biološkog kongresa; str. 229-230.
- GRIER, S. J., A. S. TURNER, M. R. ALVIS (1996): The use of dual energy X-ray absorptiometry in animals. *Invest. Radiol.* 31 (1); 50-62.
- GUGLIELMINI, C. A. ZOTTI, D. BERNARDINI, M. PIETRA, M. PODESTA, B. COZZI (2002): Bone density of the arm and forearm as an age indicator in specimens of stranded Striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *Anat. Rec.*; 267: 225-230.
- HOLOGIC OPERATOR MANUAL (1989). Routine, Quality Control. Hologic Inc., Waltham, MA, USA.
- JUNQUEIRA, L. C., J. CARNEIRO, R. O. KELLEY (1995): Osnove Histologije. Prema sedmom američkom izdanju, Školska knjiga, Zagreb.
- KHAN, A. A., J. BROWN, K. FAULKNER, D. KENDLER, B. LENTLE, W. LESLIE, P. D. MILLER, L. NICHOLSON, W. P. OLSZYNSKI, N. B. WATTS (2002): Standards and guidelines for performing central dual X-ray densitometry from the canadian panel of international society for clinical densitometry. *J. Clin. Densitometry*; 5 (4): 435-445.
- LEATHERWOOD, S., R. REEVES, L. FOSTER (1983): The Sierra Club Handbook of Whales and Dolphins. Sierra Club Books. San Francisco.
- 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.

- MAAS, M. (2002): Histology of bones and teeth. U: Marine Mammals Encyclopedia. Urednik: W. F. Perrin, B. Würsig, J. G. M. Thewissen. Academic Press. San Diego, California, USA.
- MARKEL, M. D., J. J. BODGANSKE (1994): Dual-energy X-ray absorptiometry of canine femurs with and without fracture fixation devices. Am. J. Vet. Res.; 55 (6): 862-866.
- McCLURE, S. R., L. T. GLICKMAN, N. W. GLICKMAN, C. M. WEAVER (1991): Evaluation of dual X-ray absorptiometry for in situ measurement of bone mineral density of equine metacarpal. Am. J. Vet. Res., 62 (5): 752-756.
- NISHIWAKI, M. (1972): General biology. U: Mammals of the Sea – Biology and Medicine (Urednik: S. H. Ridgway). Charles C. Thomas Publisher. Springfield. Str. 80-98.
- PERRIN, W. F. (1984): Patterns of geographical variation in small cetaceans. Acta Zool. Fennica 172; 137-140.
- RHO, J., L. KUHN-SPEARING, P. ZIOUPOS (1998): Mechanical properties and hierarchical structure of bone. Med. Engin. Physics; 20: 92-102.
- ROBECK, T. R., B. E. CURRY, J.F. MCBAIN, D. C. KRAEMER (1994): Reproductive biology of bottlenosed dolphin (*Tursiops truncatus*) and potential application of advanced reproductive technologies. J. Zoo. Wildlife Med. 25; 321-336.
- SEDMERA, D., I. MISEK, M. KLIMA (1997): On the development of cetacean extremities: II: Morphogenesis and histogenesis of the flippers in the Spotted dolphin (*Stenella attenuata*). Europ. J. Morphol.; 35 (2): 117-123.

- ŠEHIĆ, M. (2000): Osteoartropatije u domaćih životinja: Klinička rentgenologija. Scanner studio. Zagreb; 49-52.
- THOMAKOS, N., T. LIAKATOS (2000): Diagnostic methods in osteoporosis. Arch. Hellen. Med.; 17 (2): 146-151.
- TURNER, A. S. (2001): Animal models of osteoporosis – necessity and limitations. Eur. Cells Mat. 1; 66-81
- 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.
- ZYLBERBERG, L., W. TRAUB, V. DE BUFFRENIL, F. ALLIZARD, T. ARAD, S. WEINER (1998): Rostrum of the toothed whale: Ultrastructural study of a very dense bone. Bone; 23: 241-247.



## 08. SAŽETAK

### **Primjena DEXA osteodenzitometrijske metode za male životinje u mjerenju mineralne gustoće nadlaktične kosti dobrog dupina (*Tursiops truncatus*)**

Sva dosadašnja istraživanja mineralne gustoće kostiju dupina su opisana samo na temelju rezultata dobivenih primjenom DEXA (od engl. *dual energy x-ray absorptiometry*) metode za mjerenje slabinske kralježnice čovjeka, a pokušaja mjerenja drugim metodama do sada nije bilo. Mineralna gustoća kosti kao svojstvo koštanog sustava kod dupina se može povezivati s različitim dijelovima morfologije i fiziologije, patologije, dijagnostike i liječenja, te s nizom bioloških svojstava kao što su dob i spol životinje. Ovo istraživanje je provedeno na nadlaktičnim kostima desne prsne peraje ukupno 24 dobra dupina (11 mužjaka i 13 ženki). Koštani preparati su analizirani primjenom osteodenzitometra Hologic QDR-4000 uz primjenu metode za mjerenje i analizu mineralne gustoće kostiju malih životinja. Osnovni cilj istraživanja je utvrditi mogućnost primjene spomenute metode u mjerenju mineralne gustoće kosti dupina te opisati razlike u primjeni te metode i tumačenju dobivenih rezultata u odnosu na rezultate ranijih istraživanja. Utvrđeno je da se metoda za mjerenje mineralne gustoće malih životinja može uspješno primjenjivati na dupinima, ali je raspon izmjerenih vrijednosti sadržaja minerala i mineralne gustoće kosti nešto niži nego kod primjene humane metode. Također je utvrđeno da se protokol mjerenja između spomenutih metoda ne razlikuje te da se simulacija mekih tkiva može provesti primjenom lexan-ploče. Statistička analiza dobivenih podataka je pokazala da statističke vrijednosti dobivene linearnim korelacijama parametara mineralne gustoće nadlaktične kosti dupina i ukupne dužine tijela i dobi dupina odgovaraju statističkim vrijednostima dobivenim drugim metodama mjerenja unatoč manjem uzorku životinja koji je korišten u ovom istraživanju. U skupini ženki dobrih dupina uočen je pad vrijednosti mineralne gustoće kosti u starijih jedinki što u manjem uzorku životinja znatno utječe na statističke vrijednosti dobivene linearnim korelacijama testiranih osobina. Ovo istraživanje ide u prilog pretpostavci da se u kostima ženkih dobrih dupina tijekom starenja događaju slični procesi kakvi su opisani kod žena.

**ključne riječi:** dobri dupin, *Tursiops truncatus*, DEXA, mineralna gustoća kosti, nadlaktična kost

## 09. SUMMARY

### **Appliance of DEXA osteodensitometry method for small animals in measuring mineral density of the humerus of bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*)**

All previous research of mineral density dolphin bones are described based only on results given on example of DEXA method for measuring human vertebral column, and there were no any measuring with different methods till now. Mineral bone density as a characteristic of bone system at dolphins can be related with different parts of morphology and physiology, pathology, diagnostic and treatment, and with line of biology characteristic as an age and sex of animal. This research is applicated on humerus bone of right pectoral fin of 24 bottlenose dolphins (11 male and 13 female). Bone preparation are analysed using osteodenzitometry device Hologic QDR-4000 with method for measuring and analyze mineral density of small animals. Main goal of research is to affirm possibility of appliance above mentioned method in measuring dolphin bone mineral density, and describe differences in applying this method and interpretation of given results comparing previose researches. It is confirmed that method for measuring mineral density small animals can be seccessfully applyed on dolphins, but the amount of measured results content of mineral and mineral bone density is lower rate than usin the human method. It is also confirmed that protocol of measuring between mentioned methods is not different, and that simulation of soft tissue can be applied with lexan-board. Statistic analysis of given results is shown that statistic results given with linear corelation parameter mineral density dolphins humerus and total body length and dolphin age match statistic values given with different methods of measuring, in spite of smaller animal sample used in this research. In female group of bottlenose dolphins it is seen value decrease of mineral bone density of older unit what is in smaller animal sample has significantly effect on a statistic valuation given linear corelation tested characters. Based on this research, we can presume that in bones of female bottlenose dolphins during aging have similar processes described at women.

**Key words:** bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, DEXA, mineral bone density, humerus

## **09. ŽIVOTOPIS**

Rođen sam 11. siječnja 1982. godine u Osijeku. Osnovnu školu sam završio u Valpovu, a srednju veterinarsku školu u Osijeku 2000. godine. Iste godine sam upisao Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija sam volontirao u nekoliko veterinarskih ambulanti. Tijekom studija sam boravio u Sjedinjenim Američkim Državama 2006. godine u trajanju od pet mjeseci te 2007. godine u trajanju od četiri mjeseca.