



Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

Josip Miljković

**OKSIDATIVNI STATUS I
MASNOKISELINSKI SASTAV RAZLIČITIH
TKIVA PRIMORSKE (*PODARCIS SICULUS*)
I KRŠKE (*PODARCIS MELISELLENSIS*)
GUŠTERICE NA PODRUČJU DALMACIJE**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2026.



Sveučilište u Zagrebu

Veterinarski fakultet

Josip Miljković

**OKSIDATIVNI STATUS I
MASNOKISELINSKI SASTAV RAZLIČITIH
TKIVA PRIMORSKE (PODARCIS SICULUS)
I KRŠKE (PODARCIS MELISELLENSIS)
GUŠTERICE NA PODRUČJU DALMACIJE**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

izv. prof. dr. sc. Ana Shek Vugrovečki

izv. prof. dr. sc. Sofia Ana Blažević

Zagreb, 2026.



University of Zagreb

Faculty of Veterinary Medicine

Josip Miljković

**OXIDATIVE STATUS AND FATTY ACID
COMPOSITION OF DIFFERENT TISSUES
OF ITALIAN (*PODARCIS SICULUS*) AND
DALMATIAN (*PODARCIS MELISELLENSIS*)
WALL LIZARDS IN DALMATIA**

DOCTORAL DISSERTATION

Mentors:

Ana Shek Vugrovečki, PhD, Associate Professor

Sofia Ana Blažević, PhD, Associate Professor

Zagreb, 2026



Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

IZJAVA

Ja, Josip Miljković, potvrđujem da je moj doktorski rad izvorni rezultat mog rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima od onih navedenih u radu.

(potpis studenta)

Zagreb, 2026.

O MENTORIMA

izv. prof. dr. sc. Ana Shek Vugrovečki

Izv. prof. dr. sc. Ana Shek Vugrovečki zaposlena je na Zavodu za fiziologiju i radiobiologiju Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, gdje sudjeluje u nastavi i znanstveno-istraživačkom radu u području veterinarske fiziologije. Diplomirala je 2006. godine, a doktorski stupanj stekla je 2015. godine obranom disertacije iz područja pretkliničkih znanosti.

U svom znanstvenom radu bavi se analizom i interpretacijom uzoraka krvi i tkiva u domaćih i divljih životinja. Njezina istraživanja obuhvaćaju hematološke i fiziološke pokazatelje, s posebnim naglaskom na istraživanje hematoloških pokazatelja i oksidativnog statusa. U novije vrijeme usmjerena je na istraživanja gmazova, uključujući analizu krvnih parametara i tkivnih obilježja te njihovu fiziološku interpretaciju.

Sudjelovala je u više znanstvenih projekata financiranih od strane nacionalnih i međunarodnih institucija te aktivno doprinosi akademskoj zajednici kroz nastavu, mentoriranje i organizaciju znanstvenih skupova. Autorica je i koautorica niza znanstvenih i stručnih radova u području veterinarske fiziologije.

Radovi: [CroRIS Ana Shek Vugrovečki](#)

O MENTORIMA

izv. prof. dr. sc. Ana Sofia Blažević

Izv. prof. dr. sc. Sofia Ana Blažević, rođena 30.05.1983. u Buenos Airesu gdje je pohađala osnovnu školu, koju je završila u Puerto Ricu kao i srednju školu Baldwin School of Puerto Rico. Studij Biologije je započela 2001. na Sveučilištu u Navarri, Pamplona, Španjolska. U Hrvatsku se doselila 2003. te na Sveučilištu u Zagrebu završava studij molekularne biologije. Diplomski rad izradila je pod vodstvom dr. sc. Sonje Levanat u Laboratoriju za nasljedni rak, Zavoda za molekularnu medicinu Instituta Ruđer Bošković. Godine 2012., magistrirala je Bioetiku na Sveučilištu u Navarri, Španjolska. Godine 2013. doktorirala je na Biološkom odsjeku, Prirodoslovno-matematičkog fakulteta pod vodstvom prof. dr. sc. Dubravke Hranilović s radom pod naslovom „Utjecaj perinatalne primjene prekursora sinteze ili inhibitora razgradnje serotonina na serotoninisku homeostazu u odraslih štakora“. Od siječnja 2008. godine zaposlena je u Zavodu za animalnu fiziologiju Biološkog odsjeka, Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu prvo kao znanstvena novakinja-asistent, zatim kao poslijedoktorandica i docentica, a od 2024. kao izvanredna profesorica.

Istražuje monoaminske sustave i njihovu ulogu u oblikovanju razvoja, ponašanja i fiziologije. Kombinira neurokemijske i bihevioralne pristupe s analizama gena uključenih u monoaminski i glukokortikoidni sustav kako bi razjasnila utjecaj okolišnih čimbenika, razvojnih faza i ekološkog konteksta na neurobiološke i stresne odgovore. U svom radu koristi komparativne modele – guštere roda *Podarcis* za neuroetološka i invazijska istraživanja te štakore i ljudske populacije za translacijska istraživanja. Intenzivno surađuje s istraživačima iz Hrvatske i inozemstva: s Farmaceutsko-biokemijskim i Veterinarskim fakultetom, Institutom za antropologiju, Institutom Ruđer Bošković, Hrvatskim institutom za istraživanje mozga, Sveučilištem u Buenos Airesu te Sveučilištem Ludwig-Maximilian u Münchenu.

Sudjelovala je u provedbi više nacionalnih i međunarodnih projekata (MZOŠ, HrZZ, MZOŠ-DAAD). Vodila je Uspostavni istraživački projekt Hrvatske zaklade za znanost „Dopaminska regulacija kompetitivnog ponašanja guštera *Podarcis siculus* i *Podarcis melisellensis*“ i stručni projekt „Provedba i unapređenje stručne prakse na PMF-u - ProSPer PMF“ kojim je uspostavljen Karijerni centar PMFa te manifestaciju WorkIn' Science. Pokrenula je i održava tečaj LabAnim za osposobljavanje osoba koje rade s pokusnim životinjama.

Koautorica je 23 znanstvena rada u časopisima indeksiranim u bazi Web of Science, a rezultate svojih istraživanja prezentirala je na brojnim međunarodnim kongresima. Do sada je bila

(su)nositeljica kolegija Laboratorijske životinje u biološkim istraživanjima i Kronike znanstvenih istraživanja u fiziologiji na prijediplomskom studiju, kolegija Bioetika, Laboratorijske životinje u znanosti, Neuroimunologija, Primijenjena animalna fiziologija, Stručna praksa i Zdravstveni odgoj na diplomskom studiju pri Biološkom odsjeku, Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Bila je mentorica 8 završnih radova, 22 diplomskih rada i dvije doktorske disertacije. Članica je Hrvatskog društva za neuroznanost, Hrvatskog društva za znanost o laboratorijskim životinjama, International society of education in animal sciences te institucionalnog povjerenstva za bioetiku i dobrobit životinja. Tečno govori španjolski, engleski i hrvatski jezik.

Radovi: [CroRIS Sofia Ana Blažević](#)

Iskreno zahvaljujem svojim mentoricama, izv. prof. dr. sc. Ani Shek Vugrovečki i izv. prof. dr. sc. Sofiji Ani Blažević, na pruženoj podršci, razumijevanju, stručnim savjetima i kontinuiranom vodstvu tijekom izrade ovog doktorskog rada.

Posebnu i iskrenu zahvalnost želim izraziti izv. prof. dr. sc. Lani Pađen, čija je pomoć tijekom izrade ovog doktorata bila nemjerljiva. Hvala joj na nesebičnom vremenu, strpljenju i trudu uloženom u obradu uzoraka, objašnjavanje rezultata i podataka, pomoć pri razumijevanju metoda i interpretaciji dobivenih rezultata, kao i na brojnim korisnim komentarima i savjetima tijekom cijelog istraživanja. Njezina stručnost, pristupačnost i kontinuirana podrška bile su od neprocjenjive važnosti te su uvelike olakšale svaki korak izrade ovog rada.

Veliku zahvalnost upućujem i prof. dr. sc. Jasni Aladrović na velikoj pomoći pri oblikovanju teme doktorata, obradi uzoraka te na stručnim savjetima i smjernicama koje su značajno doprinijele kvaliteti ovog istraživanja.

Također zahvaljujem doc. dr. sc. Jadranki Pejaković Hlede na pomoći u laboratorijskom dijelu rada, kao i studentici Kristini Popović na pomoći pri tehničkoj obradi rezultata i uloženom trudu tijekom istraživanja.

Posebno zahvaljujem prof. dr. sc. Krešimiru Severinu i Tomislavu Gojaku na pomoći pri statističkoj obradi podataka doktorskog rada te stručnim savjetima vezanim uz interpretaciju rezultata.

Od srca zahvaljujem svim kolegama, prijateljima i članovima obitelji na podršci, razumijevanju i ohrabrenju tijekom izrade doktorskog rada.

Na kraju, ovaj doktorat posvećujem svojoj supruzi Valentini, koja je bila uz mene od samog početka do kraja ovog puta. Hvala ti na bezuvjetnoj ljubavi, strpljenju, razumijevanju i podršci u svakom trenutku. Bit će toga još...

SAŽETAK

Oksidativni status i masnokiselinski sastav različitih tkiva primorske (*Podarcis siculus*) i krške (*Podarcis melisellensis*) gušterice na području Dalmacije

Oksidativni status i sastav masnih kiselina važni su pokazatelji fiziološkog stanja organizma te odražavaju metaboličke procese i prilagodbe na okolišne uvjete. U ektotermnih kralježnjaka, poput guštera, promjene u sastavu lipida i ravnoteži između oksidativnih i antioksidativnih procesa imaju važnu ulogu u održavanju stanične funkcije i stabilnosti bioloških membrana. Podaci o povezanosti oksidativnog statusa i masnokiselinskog sastava različitih tkiva kod srodnih vrsta guštera su oskudna. Stoga je cilj ovoga istraživanja bio utvrditi oksidativni status i sastav masnih kiselina u različitim tkivima primorske gušterice (*Podarcis siculus*; n = 60) i krške gušterice (*Podarcis melisellensis*; n = 66) s područja Dalmacije te procijeniti razlike u masnokiselinskom sastavi i parametrima oksidativnog statusa koje potencijalno mogu predstavljati prilagodbu na različite okolišne uvjete. U istraživanju su analizirani uzorci srca, mozga, jetre, mišićnog i masnog tkiva obje vrste guštera. Oksidativni status procijenjen je određivanjem pokazatelja oksidativnog stresa i antioksidativne obrane, uključujući derivate reaktivnih kisikovih metabolita (d-ROM), biološki antioksidativni potencijal (BAP), superoksid dismutazu (SOD) i glutation-peroksidazu (GSH-Px). Sastav masnih kiselina određen je analizom udjela zasićenih (SFA), jednostruko nezasićenih (MUFA) i višestruko nezasićenih masnih kiselina (PUFA). Posebna pozornost usmjerena je na omjere nezasićenih i zasićenih masnih kiselina (UFA/SFA) te PUFA/SFA, kao pokazatelje funkcionalnih svojstava bioloških membrana i metaboličke fleksibilnosti. Rezultati istraživanja pokazali su razlike u oksidativnom statusu i masnokiselinskom sastavu između analiziranih tkiva i između dviju vrsta guštera. U tkivima primorske gušterice (*P. siculus*) utvrđene su više vrijednosti PUFA/SFA i UFA/SFA omjera, dok su u tkivima krške gušterice (*P. melisellensis*) utvrđene više aktivnosti antioksidativnih enzima SOD i GSH-Px. Utvrđene razlike upućuju na vrsno-specifične razlike u regulaciji lipidnog sastava i oksidativno-antioksidativnoj ravnoteži. Dobiveni rezultati proširuju postojeća saznanja o povezanosti masnokiselinskog sastava tkiva i oksidativnog statusa u gmazova te upućuju na važnost integriranog pristupa u proučavanju fiziološke regulacije i metaboličkih procesa u ektotermnih kralježnjaka.

Ključne riječi: antioksidativni sustav, masne kiseline, oksidativni stres, *Podarcis melisellensis*, *Podarcis siculus*

EXTENDED ABSTRACT

Oxidative status and fatty acid composition of different tissues of italian (*Podarcis siculus*) and dalmatian (*Podarcis melisellensis*) wall lizards in Dalmatia

Introduction

The Italian wall lizard (*Podarcis siculus*) and the Dalmatian wall lizard (*Podarcis melisellensis*) are two closely related lacertid species that coexist throughout large parts of the eastern Adriatic region. Although they share similar habitats and morphological characteristics, important ecological differences have been described between them. *Podarcis siculus* is widely recognized as a highly adaptable and opportunistic species capable of colonizing a broad range of habitats, including urban, agricultural, and natural environments. In many parts of its distribution range, it has demonstrated considerable invasive potential and competitive superiority over related lacertid species. In contrast, *P. melisellensis* is generally considered more habitat-specific and less successful in colonizing novel environments. The coexistence of these two species provides an excellent opportunity to investigate physiological mechanisms that may contribute to differences in ecological performance and adaptive capacity.

One of the physiological systems potentially involved in environmental adaptation is the regulation of oxidative status. Reactive oxygen species (ROS) are continuously generated during normal aerobic metabolism and perform important signaling functions. However, excessive ROS production may result in oxidative damage to lipids, proteins, and nucleic acids. To counteract these effects, organisms rely on a complex antioxidant defense system consisting of enzymatic and non-enzymatic components. Enzymes such as superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) play a central role in maintaining cellular redox homeostasis, while parameters such as biological antioxidant potential (BAP), reactive oxygen metabolites (d-ROM), and the oxidative stress index (OSi) provide valuable information regarding the balance between oxidant production and antioxidant protection.

Because reptiles are ectothermic organisms whose physiology is strongly influenced by environmental conditions, oxidative status is considered an important indicator of physiological performance and adaptive responses. Environmental temperature, food availability, reproductive activity, and other ecological factors may influence ROS production and

antioxidant defense mechanisms. Consequently, differences in oxidative status may reflect distinct physiological strategies among species occupying similar habitats.

Fatty acids represent another key component of physiological adaptation. They serve as major energy reserves, structural elements of cellular membranes, and precursors of numerous biologically active compounds. The relative proportions of saturated (SFA), monounsaturated (MUFA), and polyunsaturated fatty acids (PUFA) influence membrane fluidity, metabolic activity, and cellular function. Tissue fatty acid composition is affected by diet, metabolism, environmental conditions, and species-specific physiological characteristics. In addition to their structural and energetic roles, fatty acids are closely associated with oxidative processes. Polyunsaturated fatty acids, although essential for membrane function and cellular signaling, are particularly susceptible to oxidative damage because of their multiple double bonds. Consequently, lipid composition and antioxidant defense systems are functionally interconnected and may jointly reflect physiological adaptations to environmental challenges.

Despite the ecological importance of both *P. siculus* and *P. melisellensis*, information regarding their tissue fatty acid composition and oxidative status remains extremely limited. Furthermore, no previous study has simultaneously examined these two physiological systems in multiple tissues of both species under controlled environmental conditions. Therefore, the present study investigated tissue-specific fatty acid composition and oxidative status parameters in *P. siculus* and *P. melisellensis* originating from sympatric populations in Dalmatia. By integrating lipid composition and oxidative status analyses, this research aimed to provide new insights into species-specific physiological regulation and potential adaptive mechanisms in these two ecologically important lizard species.

Aim of the Study

The aim of this study was to investigate tissue-specific fatty acid composition and oxidative status in the Italian wall lizard (*Podarcis siculus*) and the Dalmatian wall lizard (*Podarcis melisellensis*) originating from sympatric populations in Dalmatia, and to evaluate potential species-specific physiological differences associated with lipid metabolism and redox regulation.

Hypothesis

Based on the assumption that physiological differences between the two species may be reflected in tissue fatty acid composition and oxidative status parameters, it was hypothesized

that fatty acid composition and oxidative status indicators differ between *P. siculus* and *P. melisellensis* originating from the same localities in Dalmatia.

General Objective

To determine and compare the fatty acid composition of different tissues and organs and to assess oxidative status in the liver and skeletal muscle of male and female Italian wall lizards (*Podarcis siculus*) and Dalmatian wall lizards (*Podarcis melisellensis*) collected from three localities in Dalmatia (Pag, Sinj, and Knin).

Specific Objectives

1. To determine the fatty acid composition of homogenized samples of skeletal muscle, adipose tissue, heart, liver, and brain.
2. To compare fatty acid composition among analyzed tissues and organs with respect to species, sex, and locality.
3. To determine oxidative status parameters in liver and skeletal muscle tissue.
4. To compare oxidative status parameters in liver and skeletal muscle with respect to species, sex, and locality.

Material and methods

A total of 126 adult lizards from coexisting populations of *P. siculus* and *P. melisellensis* were collected from three locations in Dalmatia (Pag, Sinj, and Knin), with equal representation of species and sex (30 males and 30 females per species). Animals were captured by noose, transported individually, and housed under controlled laboratory conditions for three months, with regulated temperature (20–25 °C), humidity (40–60%), and a 12 h light–dark cycle. All individuals were fed a standardized diet of live crickets supplemented with calcium and vitamins. Following acclimation, animals were euthanized, and tissue samples (liver, heart, brain, abdominal fat bodies, and hindlimb muscle) were collected and stored at –20 °C until analysis. Tissue homogenates were prepared for biochemical analyses. Oxidative status was assessed by measuring the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), as well as biological antioxidant potential (BAP) and reactive oxygen metabolites (d-ROM), using commercial assay kits. The oxidative stress index (OSi) was calculated as the ratio of d-ROM to BAP. Total lipids were extracted using a modified Folch method, followed by transesterification to obtain fatty acid methyl esters. Fatty acid composition was determined

using gas chromatography with flame ionization detection. Statistical analyses were performed in R. Tissue-specific linear models were used to assess the effects of species, sex and locality on grouped fatty acid indices and oxidative stress markers, with HC3 heteroscedasticity-consistent standard errors and Benjamini–Hochberg correction for multiple testing. Individual fatty acid profiles were further analysed as compositional data using centred log-ratio transformation, followed by PERMANOVA, PERMDISP and linear discriminant analysis.

Results

The results revealed pronounced tissue-specific differences in fatty acid composition in both species, despite identical environmental and dietary conditions. Metabolically active and storage tissues, particularly the liver and abdominal fat bodies, showed the most prominent interspecific differences, whereas the brain, heart, and muscle tissues exhibited more conserved lipid profiles. In the liver and adipose tissue, *P. siculus* consistently displayed higher proportions of unsaturated fatty acids, including polyunsaturated fatty acids (PUFA), as well as higher UFA/SFA and PUFA/SFA ratios. In contrast, *P. melisellensis* showed a higher proportion of saturated fatty acids (SFA), indicating a more saturated lipid profile. Differences in desaturation indices further suggested species-specific variation in lipid metabolism and enzymatic activity. In brain tissue, interspecific differences were less pronounced, reflecting tighter regulation of membrane lipid composition, although a slightly higher degree of unsaturation was still observed in *P. siculus*. Muscle and heart tissues exhibited minimal variation between species. Analysis of oxidative status parameters showed that *P. melisellensis* generally had higher activities of enzymatic antioxidants (SOD and GSH-Px), whereas *P. siculus* exhibited higher values of biological antioxidant potential (BAP) in certain cases. Despite these differences, concentrations of reactive oxygen metabolites (d-ROM) and the oxidative stress index (OSi) did not differ significantly between species.

Discussion

The present study demonstrated pronounced tissue-specific organization of fatty acids in both *Podarcis* species. Despite identical housing conditions and standardized feeding during the acclimation period, clear differences in fatty acid composition were observed among tissues, indicating that lipid profiles are primarily determined by tissue function rather than dietary intake alone. The liver and abdominal fat bodies exhibited the highest degree of variability, whereas the brain, heart, and skeletal muscle maintained more conserved fatty acid profiles. Such patterns are consistent with the distinct physiological roles of these tissues, as liver and

adipose tissue are central sites of lipid synthesis, storage, mobilization, and redistribution, while neural and contractile tissues require a more stable membrane composition to maintain functional integrity.

The most pronounced interspecific differences were observed in the liver and adipose tissue. *Podarcis siculus* consistently exhibited higher proportions of unsaturated fatty acids, particularly polyunsaturated fatty acids (PUFA), as well as higher UFA/SFA and PUFA/SFA ratios. In contrast, *P. melisellensis* displayed a more saturated lipid profile characterized by higher proportions of saturated fatty acids (SFA). These findings suggest differences in lipid metabolism and membrane organization between the two species. A higher degree of lipid unsaturation is generally associated with increased membrane fluidity and metabolic flexibility, whereas a higher proportion of SFA may contribute to greater structural stability and lower susceptibility to lipid peroxidation. The relatively stable fatty acid composition observed in brain tissue further supports the concept that functionally critical tissues maintain tighter homeostatic regulation than tissues primarily involved in energy metabolism and storage.

The analysis of oxidative status revealed species-specific differences in antioxidant defense strategies. *Podarcis melisellensis* generally exhibited higher activities of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), whereas *P. siculus* showed higher biological antioxidant potential (BAP) in liver and skeletal muscle. These results suggest that the two species may rely on different combinations of enzymatic and non-enzymatic antioxidant mechanisms to maintain redox homeostasis. Importantly, despite differences in antioxidant responses, reactive oxygen metabolite concentrations (d-ROM) and oxidative stress index (OSi) values remained largely similar between species. This finding indicates that both species successfully maintain oxidative balance, although through partially different physiological pathways.

When fatty acid composition and oxidative status are considered together, a consistent pattern emerges. The higher degree of lipid unsaturation observed in *P. siculus* was accompanied by a greater contribution of non-enzymatic antioxidant defenses, whereas the more saturated lipid profile of *P. melisellensis* was associated with stronger enzymatic antioxidant activity. These results support the hypothesis that lipid metabolism and antioxidant regulation represent interconnected components of physiological adaptation. Differences in membrane lipid composition may influence susceptibility to oxidative damage, while corresponding adjustments in antioxidant defenses help maintain cellular homeostasis.

From a broader ecological perspective, the observed physiological differences may contribute to the distinct ecological characteristics of the two species. *Podarcis siculus* is widely recognized for its ecological plasticity and successful colonization of novel environments. Although the present study does not directly demonstrate a causal relationship between physiological traits and invasive potential, the combination of a more unsaturated lipid profile and distinct antioxidant characteristics may represent one of several mechanisms contributing to adaptive flexibility. Future studies incorporating environmental manipulations, seasonal variation, and molecular approaches are needed to further clarify the ecological significance of the observed differences.

Conclusion

This study demonstrated clear species-specific differences in fatty acid composition and oxidative status between *P. siculus* and *P. melisellensis*. Fatty acid profiles showed pronounced tissue specificity, with the greatest interspecific differences occurring in the liver and adipose tissue. *Podarcis siculus* was characterized by a higher degree of lipid unsaturation, whereas *P. melisellensis* exhibited a more saturated lipid profile.

Oxidative status analyses revealed higher activities of enzymatic antioxidants (SOD and GSH-Px) in *P. melisellensis* and higher biological antioxidant potential (BAP) in *P. siculus*. Despite these differences, oxidative damage indicators remained largely similar between species, indicating effective maintenance of redox homeostasis through different physiological mechanisms.

The combined analysis of lipid composition and oxidative status supports the hypothesis that the two species differ in the regulation of lipid metabolism and antioxidant defense. These findings contribute to a better understanding of physiological adaptations in reptiles and provide a foundation for future studies investigating the links between metabolism, oxidative balance, and ecological performance in ectothermic vertebrates.

Key words: antioxidant system, fatty acids, oxidative stress, *Podarcis melisellensis*, *Podarcis siculus*

POPIS OZNAKA I KRATICA

BAP	biološki antioksidativni potencijal (engl. <i>biological antioxidant potential</i>)
C	ugljikov atom (engl. <i>carbon atom</i>)
d-ROM	derivati reaktivnih kisikovih metabolita (engl. <i>reactive oxygen metabolites</i>)
FID	plameno-ionizacijski detektor (engl. <i>flame ionization detector</i>)
GC	plinska kromatografija (engl. <i>gas chromatography</i>)
GSH-Px	glutation peroksidaza (engl. <i>glutathione peroxidase</i>)
MK	masne kiseline
MUFA	jednostruko nezasićene masne kiseline (engl. <i>monounsaturated fatty acids</i>)
n-3	omega-3 masne kiseline
n-6	omega-6 masne kiseline
OSi	indeks oksidacijskog stresa (engl. <i>oxidative stress index</i>)
PERMANOVA	permutacijska multivarijatna analiza varijance (engl. <i>permutational multivariate analysis of variance</i> ,
PUFA	višestruko nezasićene masne kiseline (engl. <i>polyunsaturated fatty acids</i>)
SFA	zasićene masne kiseline (engl. <i>saturated fatty acids</i>)
SOD	superoksid dismutaza (engl. <i>superoxide dismutase</i>)
UFA	nezasićene masne kiseline (engl. <i>unsaturated fatty acids</i>)
PM	<i>Podarcis melisellensis</i>
PS	<i>Podarcis siculus</i>
M	mužjak
Ž	ženka

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA	3
2.1.	Primorska i krška gušterica.....	3
2.2.	Invazivni potencijal	7
2.3.	Anatomske i fiziološke specifičnosti gmazova	8
2.3.1.	<i>Ektotermija</i>	9
2.3.2.	<i>Srce gmazova</i>	10
2.3.3.	<i>Jetra gmazova</i>	11
2.3.4.	<i>Mišićno tkivo gmazova</i>	11
2.3.5.	<i>Mozak gmazova</i>	12
2.3.6.	<i>Masno tkivo gmazova</i>	13
2.4.	Masne kiseline	14
2.4.1.	<i>Esencijalne masne kiseline</i>	15
2.4.2.	<i>Različiti utjecaji na masnokiselinski sastav</i>	16
2.4.3.	<i>Dosadašnja istraživanja masnih kiselina u gmazova</i>	17
2.5.	Reaktivni kisikovi spojevi, oksidacijski stres i antioksidativna obrana	18
2.5.1.	<i>Slobodni radikali u organizmu</i>	19
2.5.2.	<i>Reaktivni kisikovi spojevi</i>	20
2.5.3.	<i>Reaktivni dušikovi spojevi</i>	22
2.5.4.	<i>Antioksidativna obrana organizma</i>	24
2.5.5.	<i>Oksidativni stres</i>	29
2.5.6.	<i>Metode određivanja oksidativnog statusa</i>	31
2.5.5.	<i>Omjer d-ROM i BAP</i>	32
2.5.7.	<i>Oksidativni stres u gmazova</i>	33

2.6.	Povezanost masnokiselinskog sastava i oksidativnog statusa	35
3.	OBRAZLOŽENJE TEME	37
4.	MATERIJAL I METODE.....	39
4.1.	Životinje.....	39
4.2.	Postupci s tkivima.....	43
4.3.	Priprema uzoraka za analizu	44
4.4.	Određivanje pokazatelja antioksidativnog statusa.....	44
4.5.	Određivanje masnih kiselina	45
4.5.1.	<i>Ekstrakcija ukupnih lipida tkiva</i>	45
4.5.2.	<i>Priprema metilnih estera masnih kiselina</i>	46
4.5.3.	<i>Plinska kromatografija</i>	46
4.6.	Statistička obrada podataka	47
4.6.1.	<i>Programska podrška, struktura podataka i dizajn istraživanja</i>	47
4.6.2.	<i>Neovisnost mjerenja između tkiva iste jedinice</i>	47
4.6.3.	<i>Identifikacija odstupajućih vrijednosti</i>	47
4.6.4.	<i>Transformacije podataka.....</i>	48
4.6.5.	<i>Linearni modeli, veličine učinka i statističko zaključivanje</i>	48
4.6.6.	<i>Struktura interakcija.....</i>	49
4.6.7.	<i>Korekcija na višestruka testiranja.....</i>	49
4.6.8.	<i>Kompozicijska analiza podataka.....</i>	50
5.	REZULTATI	54
5.1.	Deskriptivni pregled	54
5.2.	Interakcija tkiva i vrste	61
5.3.	Masnokiselinski pokazatelji u jetri.....	64
5.4.	Masnokiselinski pokazatelji u masnom tkivu.....	66
5.5.	Masnokiselinski pokazatelji u srcu, mišićnom tkivu i mozgu.....	67

5.6. Pokazatelji oksidativnog statusa.....	67
5.7. Kompozicijska analiza pojedinačnih masnih kiselina.....	71
5.8. Provjera robusnosti rezultata i analiza osjetljivosti	76
6. RASPRAVA.....	78
6.1. Tkivna specifičnost masnokiselinskog sastava	78
6.1. Regulacija omjera UFA/SFA i PUFA/SFA kao pokazatelj metaboličkog profila	79
6.2. Međuvrsne razlike u masnokiselinskom sastavu tkiva.....	80
6.2.1. <i>Jetra</i>	80
6.2.2. <i>Masno tkivo</i>	82
6.3.3. <i>Mozak</i>	83
6.3. Vrstno specifične razlike u masnokiselinskom sastavu i njihova moguća funkcionalna uloga	84
6.4. Integrativna interpretacija tkivnih obrazaca masnokiselinskog sastava	86
6.5. Međuvrsne razlike u enzimskim antioksidansima.....	88
6.6. Neenzimski antioksidativni kapacitet i oksidativno oštećenje	89
6.7. Integrativna interpretacija oksidativnog statusa i potencijalne fiziološke implikacije	91
6.8. Integrativna interpretacija lipidnog metabolizma i oksidativnog statusa u kontekstu ekoloških strategija vrsta	92
6.10. Ograničenja istraživanja i smjernice za buduća istraživanja	93
7. ZAKLJUČCI	95
8. LITERATURA.....	96
9. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA	120

1. UVOD

Na istočnom Jadranu koegzistiraju dvije vrste guštera: primorska gušterica (*Podarcis siculus*) i krška gušterica (*Podarcis melisellensis*). *Podarcis siculus* je oportunistička vrsta, prilagođena različitim staništima (CORTI i CASCIO, 2002.; ROCHA, 2022.). Ova vrsta redovito pokazuje veći invazivni potencijal u odnosu na većinu drugih vrsta iste porodice, uključujući *P. melisellensis*, koja joj je filogenetski bliska i posjeduje slične morfološke osobine. Međutim, na istočnoj obali Jadrana obje vrste koegzistiraju, što otvara pitanje njihove ekološke interakcije i adaptacijskih mehanizama. Istraživanja interspecijske kompeticije provedena u zatočeništvu pokazala su izraženiju agresivnost vrste *P. siculus* (LIMNIOS i sur., 2022.). Zbog svoje sposobnosti prilagodbe na različite okolišne uvjete, *P. siculus* predstavlja dobar model za istraživanje adaptacija, uključujući one vezane uz oksidativni stres (OS) i masnokiselinski sastav tkiva.

Oksidativni stres proizlazi iz neravnoteže između proizvodnje reaktivnih kisikovih spojeva (ROS) i antioksidativne obrane organizma, pri čemu ROS mogu uzrokovati oštećenja deoksiribonukleinske kiseline (DNK), lipida i proteina te na taj način utjecati na fiziološke funkcije (VALDIVIA i sur., 2007.). Antioksidativni sustav sastoji se od enzimskih i neenzimskih komponenti, uključujući superoksid dismutazu (SOD) i glutation peroksidazu (GSH-Px), koje imaju ključnu ulogu u neutralizaciji ROS-a (DEVASAGAYAM i sur., 2004.). Pokazatelji poput derivata reaktivnih metabolita kisika (d-ROM), koji odražavaju razinu oksidativnih oštećenja, te biološkog antioksidativnog potencijala (BAP), koji ukazuje na ukupni antioksidativni kapacitet, koriste se za procjenu oksidativnog statusa organizma (GIORDANO i sur., 2015.). Omjer BAP-a i d-ROM-a, poznat kao indeks oksidativnog stresa (OSi), sve se češće primjenjuje kao biomarker za procjenu rizika od oksidativnog stresa u životinja (ABUELO i sur., 2013.). Stoga se oksidativni status može smatrati osjetljivim pokazateljem fiziološkog odgovora organizma na okolišne i ekološke čimbenike. Dosadašnja istraživanja OS-a kod gmazova su oskudna, a podaci o OS-u u tkivima *P. siculus* i *P. melisellensis* potpuno nedostaju.

Masne kiseline (MK) imaju ključnu ulogu u metabolizmu energije, imunološkoj funkciji i održavanju homeostaze. Sastav MK u tkivima može odražavati prehrambeni status, fiziološko stanje i prilagodbe organizma na okolišne uvjete (HULBERT i sur., 2005.; VRANKOVIĆ i sur., 2017.). Omjer različitih MK, poput omjera n-3 i n-6, također može biti pokazatelj nutritivnog i zdravstvenog statusa (DASS i sur., 2021.). Prethodna istraživanja pokazala su da promjene u sastavu MK mogu biti povezane s čimbenicima poput stresa, dobi i temperature

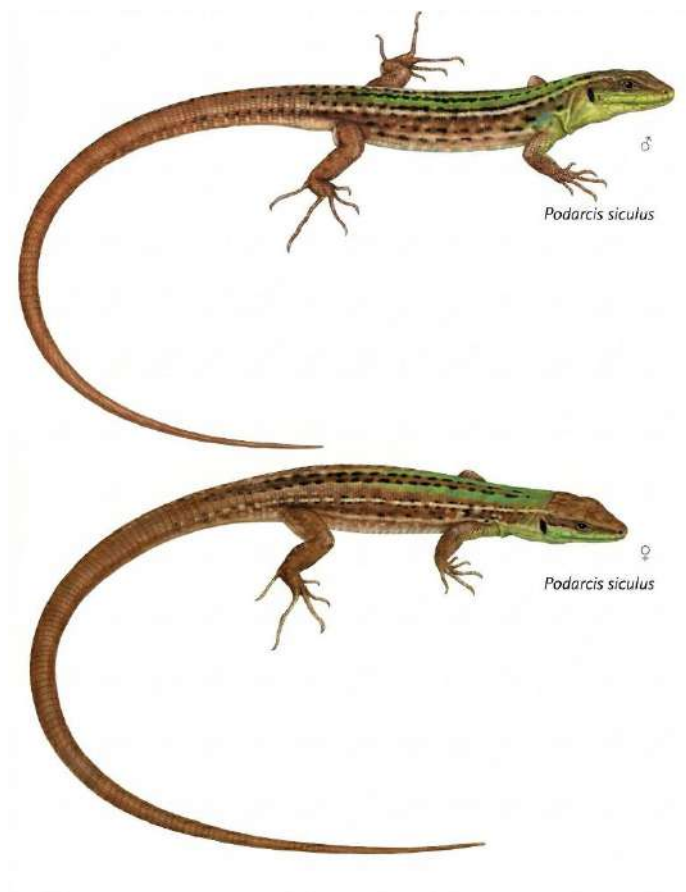
okoliša (SHEN i GAO, 2005.; SAMEE i sur., 2019.). Masnokiselinski sastav tkiva vrsta *P. siculus* i *P. melisellensis* do sada nije istražen, što odražava općenito ograničenu dostupnost podataka o masnim kiselinama kod gmazova.

S obzirom na ekološke i fiziološke razlike između *P. siculus* i *P. melisellensis*, cilj ovog istraživanja bio je analizirati parametre oksidativnog statusa (GSH-Px, SOD, BAP i d-ROM) te masnokiselinski sastav u različitim tkivima kod ovih dviju vrsta guštera s područja Dalmacije.

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Primorska i krška gušterica

Primorska gušterica (*Podarcis siculus* (Rafinesque-Schmaltz, 1810.)) oportunistička je vrsta s velikom ekološkom tolerancijom i širokim arealom rasprostranjenosti (GORMAN i sur., 1975.). Duljina tijela može doseći do 9 cm duljine od vrha njuške do otvora kloake, s leđnom bojom koja varira od zelene do smeđe te prugastim uzorkom tamnijih i svjetlijih linija ili nizom točaka. Premda je ovo najčešća boja, vrsta pokazuje znatnu geografsku varijabilnost obojenosti, osobito među otočnim populacijama (ARNOLD i OVENDEN, 2002.; JELIĆ i sur., 2015.; GLOGOŠKI, 2023.). Ventralna strana obično je bijela ili sivkasta, no može biti i zelena ili narančasta, s plavim ljuskama na lateralnim stranama koje služe za komunikaciju unutar i između vrsta (CARRETERO, 2002.; PÉREZ i DE LANUZA i sur., 2014.). Kod ove vrste izražen je spolni dimorfizam: mužjaci su veći, imaju širu glavu i dulji rep (ARNOLD i OVENDEN, 2002.) (Slika 1.). Mužjaci spolnu zrelost postižu nakon godinu dana, dok ženke dosežu spolnu zrelost unutar 1–2 godine. Vrsta je oviparna, a ženke mogu polagati više legla od 5–6 jaja tijekom sezone (CAPULA i sur., 1993.; ARNOLD i OVENDEN, 2002.; GLOGOŠKI, 2023.).



Slika 1. Prikaz fenotipa mužjaka i ženke vrste *Podarcis siculus*. Preuzeto i prilagođeno prema SPEYBROECK (2016).

Primorska gušterica je heliotermna vrsta koja aktivno traži hranu i naseljava različita staništa, uključujući travnjake, makiju, otvorene šume, poljoprivredna zemljišta, stjenovita i urbana područja (ARNOLD i OVENDEN, 2002.). Hrani se prvenstveno beskralješnjacima, iako povremeno konzumira biljke (ZUFFI i GIANNELLI, 2013.; MAČÁT i sur., 2015.). Određene populacije unose veće količine biljne hrane, uključujući sjemenke, listove, pupoljke i mladice (ZUFFI i GIANNELLI, 2013.). Također su zabilježeni slučajevi kanibalizma, uključujući i kanibalizam mladunaca (CAPULA i sur., 1993.; GRANO i sur., 2011.; RUGIERO, 1994.).

Iako ova vrsta potječe iz Apeninskog poluotoka, smatra se autohtonom za istočnu jadransku obalu i njezine otoke, Francusku, Siciliju, Sardiniju i Korziku (PODNAR i sur., 2005.). Zbog svoje prilagodljivosti i invazivnosti, proširila se na Portugal, Ujedinjeno Kraljevstvo, Grčku, Tursku i Sjedinjene Američke Države (JELIĆ i sur., 2015.; KOLBE i sur., 2013.; SILVA-ROCHA i sur., 2014.). Dokumentirani su i slučajevi hibridizacije s bliskim

vrstama, uključujući sicilijanskog zidnog guštera (*Podarcis waglerianus*), eolskog zidnog guštera (*Podarcis raffonei*) i tirenskog zidnog guštera (*Podarcis tiliguerta*) (CAPULA i sur., 1993.; CAPULA, 2002.).

Krška gušterica (*Podarcis melisellensis* (Braun, 1877.)) endemska je vrsta istočne jadranske obale i njezinih otoka (ARNOLD i OVENDEN, 2002.; JELIĆ i sur., 2015.). Naseljava različita sunčana i suha staništa s razvijenom grmolikom i zeljastom vegetacijom, uključujući kamenjare, travnjake, makiju, rijetke šume, obalne litice, pašnjake te antropogena staništa poput maslinika, vinograda i suhozida (TIEDEMANN i HENLE, 1986.; JELIĆ i sur., 2015.; SPEYBROECK i sur., 2016.). Za razliku od vrste *P. siculus*, nije zabilježena kao invazivna vrsta niti je često prisutna u izrazito urbaniziranim sredinama. Vertikalna rasprostranjenost većine populacija seže od razine mora do približno 1000 m nadmorske visine, iako su pojedine populacije zabilježene i na većim nadmorskim visinama (AJTIĆ i sur., 2009.; SPEYBROECK i sur., 2016.). Duljina tijela obično doseže oko 6,5 cm od vrha njuške do otvora kloake (ARNOLD i sur., 2007.). Leđna strana tijela najčešće je smeđe, sive ili maslinastozelene boje s izraženim uzdužnim prugama, a povremeno su prisutne i jednolično obojene jedinke (SPEYBROECK i sur., 2016.). Vrsta pokazuje spolni dimorfizam, pri čemu su mužjaci veći i dominantniji od ženki. Hrani se prvenstveno beskralježnjacima, dok biljni materijal čini manji dio prehrane, a sastav prehrane ovisi o dostupnosti resursa unutar staništa (JELIĆ i sur., 2015.; SPEYBROECK i sur., 2016.). Odrasli mužjaci konzumiraju krupniji plijen u odnosu na ženke i juvenilne jedinke, a zabilježeni su i rijetki slučajevi kanibalizma (TIEDEMANN i HENLE, 1986.) (Slika 2.). Aktivna je uglavnom od veljače do studenoga, dok na pojedinim otocima može biti aktivna tijekom cijele godine (JELIĆ i sur., 2015.; SPEYBROECK i sur., 2016.). Vrsta je oviparna, a ženke tijekom reproduktivne sezone polažu 1 do 3 legla s najčešće 2 do 8 jaja (BEJAKOVIĆ i sur., 1995.; ARNOLD i sur., 2007.).



Slika 2. Prikaz fenotipa mužjaka i ženke vrste *Podarcis melisellensis*. Preuzeto i prilagođeno prema SPEYBROECK (2016).

Unatoč razlikama u ekološkim preferencijama i stupnju prilagodbe antropogenim staništima, obje vrste često nastanjuju poljoprivredna područja poput maslinika, vinograda i kamenih zidova (GRBAC i BAUWENS, 2001.; HUYGHE i sur., 2007.; HUYGHE i sur., 2009.; GLOGOŠKI i sur., 2024.). Na kopnu i većim otocima obje vrste često dijele stanište, dok na manjim otocima obično prevladava samo jedna vrsta (NEVO i sur., 1972.; GORMAN i sur., 1975.; RAYNOR, 1989.). *P. siculus* pokazuje agresivniju i dominantniju prirodu, često isključujući iz staništa *P. melisellensis* i druge vrste roda *Podarcis* (NEVO i sur., 1972.; DOWNES i BAUWENS, 2002.; DAMAS-MOREIRA i sur., 2020.). Iako se *P. siculus* i *P. melisellensis* nalaze u koegzistenciji, kompetitivno isključivanje *P. siculus* prema *P. melisellensis* dokumentirano je u određenim okolišnim uvjetima (NEVO i sur., 1972.; HERREL i sur., 2008.) te potvrđeno u laboratorijskim uvjetima (DOWNES i BAUWENS, 2002.).

Vrsta *P. siculus* često je predmet istraživanja ponašanja. Primjerice, u istraživanjima sposobnosti prepoznavanja prisutnosti predatora putem kemijskih tragova i izbjegavanja opasnosti testirano je ponašanje vrste *P. siculus* na prisutnost kemijskih tragova zmija *Coluber viridiflavus* i *Natrix maura*. Iako populacije guštera nisu dijelile stanište s vrstom *N. maura*, pokazale su sposobnost razlikovanja kemijskih tragova predatorske vrste *C. viridiflavus* od tragova nepredatorske vrste *N. maura* te su izbjegavale područja obilježena kemijskim

tragovima predatorske zmije (VAN DAMME i QUICK, 2001.). Istraživanja provedena u Italiji pokazala su da gušteri pod utjecajem različitih mikrostaništa pokazuju različite strategije bijega, pri čemu preferiraju sigurna utočišta poput stabala maslina (BIAGGINI i sur., 2010.). U istraživanju provedenom u parku prirode Lastovsko otočje, zabilježene su promjene morfologije i ponašanja populacije *P. siculus* kao rezultat manjeg pritiska predatora (VERVUST i sur., 2007.).

Kompetitivno ponašanje *P. siculus* također je intenzivno proučavano. Istraživanja su pokazala da je *P. siculus* agresivnija od *P. melisellensis* u laboratorijskim uvjetima. Populacija invazivne *P. siculus* nije prema autohtinim vrstama pokazala interferencijsku kompeticiju (agresivno ponašanje, bolja skloništa, uzimanje hrane) već eksploatacijsku kompeticiju (tolerancija između vrsta i bolje iskorištavanje hrane) (DAMAS-MOREIRA i sur., 2020.). U Lastovskom arhipelagu, na otočiću Pod Mrčaru, *P. siculus* je eksperimentalno introducirana. Na otočiću, koji je do tada bio naseljen samo vrstom *P. melisellensis*, u svega 36 godina *P. siculus* je istisnula autohtonu *P. melisellensis*, dovodeći je do izumiranja (HERREL i sur., 2008.). Vrstu *P. siculus* pokazuje veću istraživačku sklonost i hrabrost, što joj omogućuje uspješniju kolonizaciju novih staništa (DAMAS-MOREIRA i sur., 2019.).

Zbog svoje sposobnosti prilagodbe na različite okolišne uvjete, smatra se da bi vrsta *P. siculus* mogla predstavljati pogodan model za istraživanje adaptacija, uključujući prilagodbe na oksidativni stres (OS) i prateće promjene sastava masnih kiselina, koje osim odražavanja prehrambenog statusa predstavljaju i važan pokazatelj imunološkog statusa i reproduktivnog zdravlja.

2.2. Invazivni potencijal

Invazivne vrste predstavljaju značajnu prijetnju biološkoj raznolikosti te otežavaju napore usmjerene na očuvanje autohtonih vrsta (NENTWIG, 2008.; BRITO, 2010.). Invazivni potencijal složen je pojam, a oblikuju ga brojni čimbenici, uključujući ekologiju vrste, ponašanje, genetsku raznolikost, adaptivni kapacitet i fenotipsku plastičnost (CASSEY i sur., 2004.; ENGEL i sur., 2011.; LUCEK i sur., 2014.; HUDINA i sur., 2015.). Razumijevanje procesa uspostave vrsta u novim staništima ključno je za očuvanje autohtonih populacija i upravljanje invazivnim populacijama. Vrste s izraženim invazivnim potencijalom često nadmašuju autohtone ponašanjima koja povećavaju njihovu prilagodljivost i kompetitivnost (CHAPPLE i sur., 2012.). Osobine poput istraživačkog ponašanja, sklonosti riziku i

prehrambene fleksibilnosti mogu izravno utjecati na prilagodbu i preživljavanje te dovesti do potiskivanja manje dominantnih vrsta (DAMAS-MOREIRA i sur., 2019.). Naglašeno istraživačko ponašanje povezano je s većom vjerojatnošću dolaska u nova područja, što označava početnu fazu invazije (BLACKBURN i sur., 2011.).

Proučavanjem ovih ponašanja invazivnih vrsta unutar autohtonih populacija moguće je procijeniti jesu li određene prilagodbe prethodile samom invazivnom procesu ili su njegov rezultat. Istraživačko ponašanje omogućuje životinjama učinkovitije iskorištavanje resursa i teritorija, čime stječu kompetitivnu prednost (GREENBERG i METTKE-HOFMANN, 2001.). Vrste s izraženim istraživačkim tendencijama imaju veću vjerojatnost pronalaska resursa i nadmetanja s autohtonim vrstama (DAMAS-MOREIRA i sur., 2019.).

Rizično ponašanje (engl. *risk-taking behaviour*), ponašanje koje stavlja u rizik, podrazumijeva ravnotežu između izbjegavanja predacije s jedne strane te hranjenja, parenja i obrane teritorija s druge (COOPER JR., 1999.). Primjerice, invazivni delikatni skink skloniji je skrivanju nego neinvazivni vrtni skink, što povećava njegove šanse da ga ljudi nenamjerno prenesu na nova područja (CHAPPLE i sur., 2011.). Rizično ponašanje i istraživačko ponašanje često se međusobno nadopunjuju, čime dodatno povećavaju invazivni potencijal vrste (BRODIN i sur., 2013.).

Prehrambeno ponašanje (engl. *food consumption*) izravno utječe na zdravlje jedinke i gustoću populacije, a povezano je i s osobinama ponašanja (BROWN i PEREZ-MELLADO, 1994.). Invazivne vrste koje brzo pronalaze i iskorištavaju hranu mogu iscrpiti resurse te time nadmašiti autohtone vrste (HOLWAY, 1999.). Primjerice, istraživanja na populacijama rakova pokazala su da invazivne vrste učinkovitije koriste dostupne resurse, što upućuje na njihovu prilagodbu novom okolišu (PINTOR i SIH, 2009.).

2.3. Anatomske i fiziološke specifičnosti gmazova

Ljuskaši (Squamata) čine najbrojniji red gmazova i obuhvaćaju guštere i zmije, koje potječu od zajedničkog pretka. Ovaj red odlikuje se iznimnom raznolikošću te naseljava širok spektar staništa – od krošnji drveća i podzemnih tunela, preko pustinja i oceana, pa sve do područja koja se protežu od ekvatora do polova.

2.3.1. Ektotermija

Jedna od glavnih značajki gmazova je njihova ektotermnost, što znači da se za održavanje tjelesne temperature oslanjaju na vanjske izvore topline, za razliku od endotermnih organizama, poput ptica i sisavaca, koji toplinu stvaraju vlastitim metabolizmom. Ova osobitost snažno oblikuje život gmazova u svim njegovim aspektima. Razumijevanje ektotermije ključno je za proučavanje ekoloških, ponašajnih, morfoloških i fizioloških razlika između ektotermnih i endotermnih organizama (HUEY i PIANKA, 1977.; HUEY i BENNET, 1987.; LIU i sur., 2006.; LISIČIĆ, 2009.; ROBERTS i EDWARDS, 2018.).

U povoljnim uvjetima ektotermni organizmi aktivno reguliraju tjelesnu temperaturu unutar uskog raspona, koji kod većine vrsta iznosi između 35 i 42 °C, što odgovara tjelesnoj temperaturi endotermnih organizama (GRBAC i BAUWENS, 2001.). Kada uvjeti postanu nepovoljni, primjerice tijekom noći ili za oblačnih dana, životinje se povlače u skloništa, gdje im se tjelesna temperatura spušta na razinu temperature okoline (HUEY i BENNET, 1987.; POUGH i sur., 2001.; LISIČIĆ, 2009.).

Ektotermija donosi i važne energetske prednosti. Budući da koriste vanjske izvore topline, ektotermni organizmi troše znatno manje energije nego endotermi – procjenjuje se da njihove energetske potrebe iznose tek od jedne sedmine do jedne desetine metaboličkih zahtjeva endotermnih organizama iste veličine (POUGH i sur., 2001.). Tijekom razdoblja neaktivnosti dolazi do pada tjelesne temperature ektotermnih organizama, čime se usporava metabolizam (HUEY, 1982.; SEEBACHER, 2005.; HERCZEG i sur., 2006.). Suprotno tome, endotermni organizmi moraju trošiti dodatnu energiju na održavanje stalne tjelesne temperature, što je osobito energetski zahtjevno pri nižim temperaturama.

Još jedan važan čimbenik energetske potrošnje jest razina aktivnosti. Općenito, gmazovi su manje aktivni od endotermnih životinja, čak i pri optimalnim temperaturama, što se izravno odražava na njihovu potrošnju energije. Njihov metabolizam ne može dovoljno brzo proizvoditi adenosin trifosfat (ATP) oksidativnim putem da bi podržao kontinuiranu i intenzivnu mišićnu aktivnost. Umjesto toga, oslanjaju se na anaerobni metabolizam koji omogućuje kratkotrajnu opskrbu energijom tijekom intenzivne aktivnosti, zbog čega nakon kraćih perioda aktivnosti mora uslijediti odmor (WEINSTEIN i FULL, 1999.; POUGH i sur., 2001.; SEEBACHER, 2005.; LISIČIĆ, 2009.).

Zbog navedenih čimbenika gmazovi dnevno troše samo oko tri posto energije koju bi potrošio endotermni organizam iste veličine. To im omogućuje preživljavanje uz minimalnu

količinu hrane, koja ne bi bila dovoljna za održavanje ptica ili sisavaca slične veličine. Osim toga, ektotermni organizmi veći dio raspoložive energije mogu usmjeriti na procese rasta i reprodukcije, a ne na održavanje stalne tjelesne temperature, čime povećavaju učinkovitost u iskorištavanju resursa (POUGH i sur., 2001.; LISIČIĆ, 2009.).

Ipak, ektotermija ima i svoje nedostatke. Ektotermni organizmi nisu uvijek u mogućnosti održavati optimalnu tjelesnu temperaturu, što im ograničava aktivnost u određenim vremenskim i prostornim okvirima. Ako napuste te optimalne uvjete, postaju ranjiviji u odnosu na endotermne vrste (HUEY, 1982.; SEEBACHER, 2005.). Poseban izazov predstavljaju hladna klima i noćna aktivnost, koje značajno smanjuju mogućnosti ektoterma (AVERY i BOND, 1989.; AVERY i MYNOTT, 1990.; MARQUET i sur., 1990.; DOUGHTY i SHINE, 1995.; ANGILLET JR. i sur., 2002.; COLLI i sur., 2003.; LISIČIĆ, 2009.; MARTIN i ROOT, 2020.).

2.3.2. *Srce gmazova*

Svi gmazovi, osim krokodila, imaju srce s jednom klijetkom. Na prvi pogled to se može smatrati primitivnom osobinom koja, zajedno s ektotermijom, gmazove stavlja u inferioran položaj u odnosu na ptice i sisavce. Međutim, upravo ove „primitivne“ značajke predstavljaju prilagodbe koje im omogućuju učinkovitije iskorištavanje okoliša u kojem žive (POUGH, 2001.; SEEBACHER, 2005.). Iako klijetka nije anatomski podijeljena, arterijska i venska krv kod gmazova ostaju funkcionalno razdvojene nakon prolaska kroz srce, slično kao i kod krokodila, ptica i sisavaca (BAGARDI i sur., 2021.). Takva građa srca pruža određene prednosti prilagođene ektotermnim organizmima.

Budući da ventrikularna pregrada ne postoji, gmazovi mogu regulirati protok krvi kroz pluća u odnosu na sistemski krvotok. To postižu preusmjeravanjem krvotoka prema trenutačnim potrebama, pri čemu nepodijeljena klijetka djeluje kao središnja točka spajanja oba sustava. Ovaj fenomen poznat je kao intrakardijalno preusmjeravanje krvi i omogućuje gmazovima preciznu kontrolu termoregulacije, koja ima presudnu ulogu u njihovom preživljavanju (SEEBACHER, 2005.; LIU i sur., 2006.). Takva fiziološka prilagodba povezana je i s energetsom učinkovitošću te optimizacijom aktivnosti u promjenjivim okolišnim uvjetima (WEINSTEIN i FULL, 1999.; BULTE i BLOUIN-DEMERS, 2006.).

2.3.3. Jetra gmazova

Jetra gmazova čini približno 3–4 % ukupne tjelesne mase, no taj se udio može mijenjati ovisno o godišnjem dobu, prehrani ili reproduktivnom statusu (SCHAFFNER, 1998.). Embriološki, jetra se razvija iz endodermalnog crijevnog tkiva. Većina gmazova ima jetru građenu od dva režnja, a njezina boja varira od tamnosmeđe do crne. Žučni mjehur tipično je prisutan kod većine vrsta. Funkcija jetre u gmazova slična je onoj kod sisavaca i ptica te uključuje metabolizam masti, proteina i ugljikohidrata, sintezu mokraćne kiseline i stvaranje faktora zgrušavanja krvi (SCHAFFNER, 1998.). Međutim, metabolizam jetre kod gmazova značajno se mijenja s dobi, reproduktivnim statusom, hibernacijom i sezonskim promjenama (DERICKSON, 1976.; SHERIDAN, 1994.).

Za razliku od ptica i sisavaca, gmazovi pohranjuju vrlo male količine potkožnog masnog tkiva. Umjesto toga, dio masnih rezervi skladišti se u jetri (DERICKSON, 1976.; SHERIDAN, 1994.). Te rezerve predstavljaju važan izvor energije tijekom gladovanja, hibernacije te reprodukcije, osobito tijekom razvoja jaja ili mladunaca kod živorodnih vrsta (SELCER, 1992.; SANTOS i LLORENTE, 2004.). Ipak, kapacitet jetre za skladištenje masti je ograničen pa prekomjerno hranjenje može dovesti do razvoja steatoze (SCHAFFNER, 1998.; SANTOS i sur., 2022.). U hepatocitima kajmana (*Caiman latirostris*) masne kapljice zadržavaju se čak i nakon višemjesečnog gladovanja (STARCK i sur., 2007.). Procjenjuje se da jetra gmazova sadržava relativno mali udio ukupnih tjelesnih lipida, približno 5 % ukupnih masnih rezervi (AVERY, 1970.; BRIAN i sur., 1972.).

2.3.4. Mišićno tkivo gmazova

Specifičnosti skeletnih mišića gmazova odražavaju jedinstvene prilagodbe povezane s njihovom evolucijskim razvijem i ekološkim nišama. Ovi mišići sastoje se od različitih tipova mišićnih vlakana koja imaju ključnu ulogu u kretanju i metaboličkoj učinkovitosti. Istraživanja pokazuju da gmazovi posjeduju raznoliku strukturu mišićnih vlakana, uključujući brza (engl. *fast-twitch*) i spora (engl. *slow-twitch*) vlakna, što im omogućuje širok raspon obrazaca kretanja i strategija korištenja energije. Prevladavanje brzih vlakana kod pojedinih vrsta omogućuje izvođenje snažnih i brzih pokreta, dok su spora vlakna prilagođena izdržljivosti, odražavajući specifične ekološke zahtjeve tih životinja (PERNI i sur., 2015.; BISHOP i sur., 2021.). Funkcija skeletnih mišića temelji se na koordiniranim procesima kontrakcije i relaksacije koji ovise o

regulaciji intracelularne koncentracije kalcija te elektrofiziološkim svojstvima mišićnih membrana (PERNI i sur., 2015.; SOOMRO i sur., 2014.; SOOMRO i sur., 2016.).

Odnos mase mišića i sposobnosti stvaranja sile kod gmazova pokazuje značajne razlike u usporedbi sa sisavcima. Istraživanja su pokazala da gmazovi općenito imaju relativno manju mišićnu masu u odnosu na veličinu tijela, što utječe na njihove sposobnosti stvaranja mišićne sile (BISHOP i sur., 2021.). Ovakav obrazac upućuje na to da razlike u građi i sastavu mišića, a ne samo ukupna masa, predstavljaju temelj funkcionalnih razlika između gmazova i sisavaca (BISHOP i sur., 2021.). Prilagodbe skeletnih mišića gmazova također ovise o okolišnim čimbenicima, poput temperature, koja može značajno utjecati na učinkovitost mišićnog rada i intenzitet metaboličke aktivnosti (SOOMRO i sur., 2014.; SOOMRO i sur., 2016.).

2.3.5. Mozak gmazova

Gmazovi posjeduju jedinstvenu građu mozga, koji je relativno manji u usporedbi sa sisavcima, ali pokazuje značajnu regionalnu specijalizaciju koja omogućuje različite kognitivne i osjetilne funkcije. Mozak je organiziran u više regija, među kojima se ističe palij – analog korteksu sisavaca – koji sudjeluje u obradi osjetilnih informacija i koordinaciji motoričkih odgovora (NAUMANN i sur., 2015.). Posebno je značajna prisutnost specijaliziranih struktura poput dorzalnog korteksa i hipokampusu, što ukazuje na evolucijske prilagodbe koje omogućuju prostornu navigaciju i pamćenje (LADAGE i sur., 2009.).

Fiziološki gledano, mozak gmazova pokazuje niz neurokemijskih i staničnih obilježja koja doprinose njihovim kognitivnim sposobnostima. Utvrđeno je da gmazovi koriste neurotransmitterske sustave slične onima u sisavaca i ptica, uključujući dopaminergičke i kolinergičke putove ključne za procese učenja i pamćenja (ROTH i sur., 2019.). Nadalje, prisutnost radijalne glije i astrocita u mozgu gmazova upućuje na razinu složenosti u neuronskoj potpori i razvoju usporedivu s onom kod filogenetskih viših kralježnjaka (CLINTON i sur., 2014.; FALCONE, 2022.). Ove glijalne stanice imaju važnu ulogu u održavanju homeostaze i pospješivanju komunikacije između neurona, čime poboljšavaju kognitivne funkcije (FALCONE, 2022.).

Evolucija mozga gmazova pruža vrijedan uvid u razvoj kognitivnih sposobnosti kralježnjaka. Komparativne studije pokazale su da, iako gmazovi možda ne dostižu razinu kognitivne fleksibilnosti sisavaca, posjeduju niz sofisticiranih ponašanja, uključujući rješavanje problema i socijalno učenje (MEESTER i BAECKENS, 2021.). Integracija neuroanatomskih i

bihevioralnih podataka podupire tezu da gmazovi nisu jednostavni „primitivni“ organizmi, već životinje s jedinstvenim kognitivnim sposobnostima koje odražavaju njihove ekološke prilagodbe (MEESTER i BAECKENS, 2021.).

2.3.6. Masno tkivo gmazova

Kao i ostali kralježnjaci, gmazovi pohranjuju triacilglicerole u specijalizirane rezerve poznate kao masno tkivo, koje se primarno sastoji od adipocita. Adipociti su prepoznatljivi po velikim kapljicama masti koje često zauzimaju gotovo cijeli citosolni volumen stanice. Masno tkivo može biti raspoređeno difuzno u tijelu, primjerice među mišićnim vlaknima, što stanicama daje karakterističan mramorni izgled (KWAN, 1994.). Za razliku od čovjeka, potkožno masno tkivo kod gmazova obično je slabo razvijeno (POND, 1978.), no postoje vrste koje posjeduju izražene potkožne masne jastučiće, poput macaklina (*Hemidactylus turcicus*) (GREENE, 1969.; SELCER, 1992.).

Kod mnogih gmazova prisutna su parna trbušna masna tijela (*corpora adiposa*), koja predstavljaju primarno mjesto skladištenja masnog tkiva (POND, 1978.; SCOTT i sur., 1995.). Ona su posebno dobro razvijena kod zmija i guštera, dok kod određenih lepidosaura, uključujući tuataru (*Sphenodon punctatus*) te pojedine vrste skinkova i macaklina, trbušna masna tijela izostaju (CHURCH, 1962.; POND, 1978.; GREER, 1986.). Ta tijela pohranjuju najveći udio tjelesnih masti (više od 70 %), osobito kod zmija, dok se ostatak nalazi u trupu u obliku intramuskularne masti i/ili difuznih masnih naslaga (SCOTT i sur., 1995.; SANTOS i LLORENTE, 2004.). U određenim situacijama, posebice tijekom vitelogeneze, masa trbušnih masnih tijela znatno se smanjuje te čini između 5 i 20 % ukupnih masnih zaliha, pri čemu se najveći udio masti tada premješta u trup (BRIAN i sur., 1972.; SELCER, 1992.).

Masne rezerve akumuliraju se prije afagije i zimskog mirovanja, omogućujući gmazovima iskorištavanje pohranjene energije tijekom tog razdoblja (ALEKSIUK i STEWART, 1971.). Na primjer, argentinski tegu (*Tupinambis merianae*) prolazi kroz fazu prejedanja (hiperfagije) prije razdoblja mirovanja, pri čemu masti pohranjuje u jetri (zajedno s glikogenom) i u trbušnim masnim tijelima (SOUZA i sur., 2004.; HADDAD, 2007.). Kod živorodne gušterice (*Zootoca vivipara*) sadržaj masnih rezervi smanjuje se tijekom zimskog mirovanja u masnim tijelima i repu (AVERY, 1970.), dok se kod egipatske kobre (*Naja haje*) zalihe triacilglicerola također smanjuju u istom razdoblju, ali prvenstveno u jetri i mišićima (EL-DEIB, 2005.). Mnogi gmazovi pohranjuju masne rezerve i u folikule jajnika prije i/ili

tijekom zimskog mirovanja ili afagije, što otežava razlikovanje njihove primarne funkcije – jesu li povezane s reprodukcijom ili ponajprije služe kao izvor energije tijekom mirovanja (ETHERIDGE i sur., 1986.; KNOTKOVÁ i sur., 2005.; NAYA i sur., 2008.). Veće masne zalihe kod vrste *P. siculus* te veća zastupljenost lipida u jajnicima vrste *P. melisellensis* utvrđene su analizom lipidnih indeksa izračunatih iz težine tjelesne masti, ukupne tjelesne težine, težine jajnika i ukupnih ekstrahiranih lipida jajnika kod navedenih vrsta gušterica (ALADROVIĆ i sur., 2023.).

2.4. Masne kiseline

Masne kiseline (MK) čine sastavni dio većine masti. Zbog mehanizma biosinteze, u prirodi najčešće imaju paran broj ugljikovih (C) atoma. Prema duljini lanca dijelimo ih na kratkolančane (C2–C6), srednjelančane (C8–C12), dugolančane (C14–C18) i masne kiseline vrlo dugog lanca (C20 i više). Masne kiseline s manje od 10 C atoma topljive su u vodi, dok su one s duljim lancem, koje su i prehrambeno značajnije, netopljive (TVRZICKA i sur., 2011.).

Masne kiseline dijelimo na zasićene i nezasićene. Zasićene masne kiseline (engl. *saturated fatty acids*, SFA) nemaju dvostruke veze između C-atoma u lancu, što ih čini stabilnijima. Nezasićene masne kiseline mogu biti jednostruko nezasićene (engl. *monounsaturated fatty acids*, MUFA) ili višestruko nezasićene (engl. *polyunsaturated fatty acids*, PUFA), ovisno o broju dvostrukih veza. Produljenjem ugljikovodičnog lanca raste talište masnih kiselina, dok se s povećanjem broja dvostrukih veza talište snižava, a osjetljivost na lipidnu peroksidaciju povećava (BERG i sur., 2013.). To je osobito važno kod membranskih lipida, koji moraju održati odgovarajuću fluidnost pri različitim temperaturama. Nezasićene masne kiseline imaju važnu ulogu u sastavu membranskih lipida budući da utječu na fluidnost i stupanj krutosti, membranskog dvosloja (STILLWELL i WASSALL, 2003.), pri čemu membranski vezani receptori, enzimi i druge bjelancevine mogu difundirati lateralno duž površine dvoslojne membrane. Modifikacija MK, posebice nezasićenih MK, uključuje aktivnost enzima elongaza i desaturaza, enzima koji produljuju lanac MK za 2 C-atoma i uvode dodatne dvostruke veze (JAKOBSSON i sur., 2006.; CHRISTIE i HAN, 2010.). Enzimi poput stearoil-CoA desaturaze (SCDi) pretvaraju C18:0 u C18:1n-9, podržavajući fluidnost membrane (CHRISTIE i HAN, 2010.). Elongaze produžuju prekursore kraćih lanaca u duže lance, koji su prikladniji za skladištenje ili specijalizirane funkcije (JAKOBSSON i sur., 2006.).

Nazivi masnih kiselina formiraju se prema imenu odgovarajućeg ugljikovodika: zasićene masne kiseline dobivaju nastavak –anska (npr. oktadekanska), a nezasićene –enska (npr. dokozaheksanska) (BOTHAM i MAYES, 2011.). Masne kiseline imaju svoj sustavni i trivijalni naziv te se često označuju kraćom formulom CN:p n-x. U navedenoj formuli N označava broj ugljikovih atoma u lancu, p broj dvostrukih veza, dok x označava položaj prve dvostruke veze u odnosu na ω -ugljikov atom (TVRZICKA i sur., 2011). U ugljikovodičnom lancu MK, ugljikovi atomi se numeriraju počevši od karboksilnog C-atoma, a metilni ugljikov atom, na samom kraju lanca, naziva se ω -ugljikov atom (BOTHAM i MAYES, 2011; BERG i sur., 2013).

Prisutnost dvostrukih veza u lancu MK uvjetuje pojavu dvaju prostorno različitih oblika: *cis* i *trans*. Kod *cis* izomera vodikovi atomi vezani na ugljikove atome povezane dvostrukom vezom, nalaze na istoj strani ugljikovodičnog lanca, što uzrokuje savijanje (kink) lanca pod kutom od oko 120° (BOTHAM i MAYES, 2011). *Trans*- konfiguracija označava položaj vodikovih atoma na suprotnim stranama lanca, pa lanac zadržava ravnu strukturu (BOTHAM i MAYES, 2011). Takav raspored utječe na gustoću pakiranja molekula u staničnim membranama (COLLOMB i sur., 2006.). Masne kiseline, u fiziološkim uvjetima, uglavnom imaju *cis*-konfiguraciju (TVRZICKA i sur., 2011; BOTHAM i MAYES, 2011; BERG i sur., 2013). Prirodne *trans*- MK, primjerice konjugirana linolenska masna kiselina (CLA; C18:2 *cis*-9, *trans*-11 ili CLA; C18:2 *trans*-10, *cis*-12), specifičnost su preživača, i aktivnosti mikroflore buraga (COLLOMB i sur., 2006). Iako postoji mala razlika u geometriji ugljikovog lanca, kemijska struktura *trans* MK slična je strukturi SFA (ŽBIKOVSKA, 2010), što može dovesti do kompeticije za iste enzime, desaturaze, koji sudjeluju u sintezi esencijalnih MK (BOTHAM i MAYES, 2011.), a onda i do deficijencije esencijalnih MK (SHUGANO i IKEDA, 1996.).

2.4.1. Esencijalne masne kiseline

Esencijalne MK čine posebnu kategoriju MK koje kralježnjaci, zbog nedostatka određenih enzima, ne mogu sintetizirati te ih moraju unijeti hranom. Esencijalne MK kao LA i ALA, prekursori su dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina (PUFA), pa njihov manjak u prehrani rezultira i smanjenom razinom PUFA u organizmu.

Kralježnjaci mogu sintetizirati SFA ili MUFA s dvostrukom vezom na devetom ugljikovom atomu. Dvostruka veza nastaje djelovanjem enzima $\Delta 9$ -desaturaze na stearinsku kiselinu (C18:0), pri čemu se ona prevodi u oleinsku kiselinu (OA, C18:1n-9), dok djelovanjem

na palmitinsku kiselinu (PA, C16:0) nastaje palmitoleinska kiselina (POA, C16:1n-7) (BOTHAM i MAYES, 2011.). Međutim, zbog nedostatka Δ 12-desaturaze, koja prevodi OA u linolnu kiselinu (LA, C18:2n-6), te Δ 15-desaturaze, koja LA prevodi u α -linolensku kiselinu (ALA, C18:3n-3), linolna kiselina (LA) i α -linolenska kiselina (ALA) esencijalne su za ljudski organizam i većinu drugih kralježnjaka (TVRZICKA i sur., 2011.). Većina sisavaca može metabolizirati LA u arahidonsku kiselinu (AA, C20:4n-6), pa se AA smatra „uvjetno“ esencijalnom masnom kiselinom, budući da njezina razina ovisi o unosu LA hranom.

Linolna kiselina polazišna je za sintezu n-6 serije dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina (*engl.* long-chain polyunsaturated fatty acids, LC-PUFA), dok je α -linolenska kiselina polazišna za n-3 seriju. LA i ALA sintetiziraju biljke, alge, gljive i bakterije, a u nekim algama, bakterijama i gljivama ovi se prekursori dalje prevode u više homologne spojeve, uključujući arahidonsku (AA, C20:4n-6) te eikozapentaensku (EPA, C20:5n-3) i dokozaheksaensku kiselinu (DHA, C22:6n-3). Esencijalne MK potrebne su za nastajanje prostaglandina, tromboksana, leukotriena i lipoksina, nalaze se u građevnim lipidima stanice i doprinose cjelovitosti mitohondrijske membrane (BOTHAM i MAYES, 2011.).

2.4.2. *Različiti utjecaji na masnokiselinski sastav*

Masnokiselinski sastav tjelesnih tkiva u velikoj je mjeri povezan s MK unesenima hranom. Unatoč tome, sastav nekih organa, poput mozga ili spermija, manje je podložan prehrambenim promjenama od onog u masnom tkivu, mišićima i jetri (HULBERT i sur., 2005.). Sastav može pružiti uvid u reproduktivno zdravlje, prehrambene navike te nutritivni i imunološki status kralježnjaka (VRANKOVIĆ i sur., 2017.; DASS i sur., 2021.). Na sastav masnih kiselina utječe niz čimbenika, uključujući prehranu, dob, fiziološki status i stres (JOSEPH i sur., 1985.; CARTLAND-SHAW i sur., 1998.; CLAUSS i sur., 2007.; SAMEE i sur., 2019.).

U posljednje vrijeme sastav MK u prehrani i njihov utjecaj na masnokiselinski profil različitih tkiva intenzivno se istražuju, a tema je od velike važnosti u humanoj medicini te u prehrani ljudi i životinja. Potvrđeno je da smanjen unos višestruko nezasićenih masnih kiselina (PUFA) hranom te narušen odnos n-6 i n-3 PUFA mogu dovesti do brojnih zdravstvenih poremećaja kod ljudi (SIMOPOULOS, 2002.; HULBERT i sur., 2005.). Niska razina n-3 PUFA povezuje se s metaboličkim sindromom (GRUNDY i sur., 2004.; HULBERT i sur., 2005.), kardiovaskularnim bolestima (NESTEL, 2001.; RENAUD i LANZMANN-

PETITHORY, 2001.; DONG i sur., 2015.), promjenama imunološkog odgovora (CALDER, 2001.), kožnim poremećajima (ZIBOH, 1996.), smanjenom funkcijom vidnog korteksa i mozga (SUZUKI i sur., 2001.), te poremećajima ponašanja poput depresije i shizofrenije (PEET i STOKES, 2005.), kao i s povećanom agresivnošću (HAMAZAKI i sur., 2001.; HIBBELN i sur., 2004.).

Uravnotežen unos n-3 masnih kiselina – koje se primarno nalaze u ribljem ulju, lanenim sjemenkama i orasima – povezuje se s protuupalnim učincima i zaštitnim djelovanjem protiv kardiovaskularnih bolesti u ljudi (CAI i sur., 2013.). Još uvijek se raspravlja o idealnom omjeru n-6/n-3, no općenito se preporučuje niži omjer radi postizanja povoljnijih zdravstvenih ishoda (PARSONS i sur., 2014.).

U dostupnoj literaturi saznanja o esencijalnim MK u gmazova su vrlo oskudna. U literaturi se navode C18:1, C18:2n-6 (SIMANDLE i sur., 2001.) i 20:4n-6 kao esencijalne masne kiseline za ljuskaše i aligatore (NOBLE i sur., 1993.), iako se konverzija C18:2n-6 i C18:3n-3 u 20:4n-6 i 20:5n-3, 22:5n-3 i 22:6n-3 uvelike razlikuje među vrstama, a ekspresija ovih metaboličkih puteva kod guštera nije proučavana (SPEAKE and HERBERT, 2004.).

2.4.3. Dosadašnja istraživanja masnih kiselina u gmazova

Gmazovi posjeduju specifičan profil masnih kiselina koji je važan za njihovu fiziologiju, a na njega utječu prehrana, stanište i metaboličke potrebe. Analiza masnokiselinskog sastava krvi može, primjerice, pružiti smjernice za poboljšanje uvjeta uzgoja i držanja gmazova u rehabilitacijskim centrima. Dosadašnja istraživanja pokazala su veći omjer n-6 u odnosu na n-3 masne kiseline kod gmazova u zatočeništvu u usporedbi s jedinkama iz divljine (JOSEPH i sur., 1985.; CARTLAND-SHAW i sur., 1998.; CLAUSS i sur., 2007.). Primjerice, utvrđeno je da krv galapagoške kornjače (*Chelonoidis chathamensis*) iz centra za uzgoj u zatočeništvu sadrži viši omjer n-6/n-3 masnih kiselina u odnosu na jedinke s ekoloških farmi (DASS i sur., 2021.). Ovi nalazi naglašavaju potrebu za unaprjeđenjem prehrane i držanja u zatočeništvu, potvrđujući ključnu ulogu prehrambenih izvora u oblikovanju masnokiselinskog profila gmazova.

Masnokiselinski sastav ima važnu ulogu i u reproduktivnom zdravlju i razvoju. Utvrđeno je da MK hrane utječu na uspješnost razmnožavanja i brzinu rasta mladunaca, pri čemu su esencijalne masne kiseline poput EPA i DHA ključne za optimalan razvoj (BLAIR i sur., 2000.). Niska stopa izlijevanja jaja kod američkog aligatora (*Alligator mississippiensis*) u

zatočeništvu pripisana je nedostatku EPA i DHA u prehrani majki (NOBLE i sur., 1993.) dok su mladunci iste vrste hranjeni hranom siromašnom esencijalnim MK rasli sporije i manje učinkovito pretvarali hranu u tjelesnu masu, u usporedbi s onima koji su hranjeni hranom bogatom esencijalnim MK (STATON i sur., 1990.). Dodatno, kod tri vrste živorodnih guštera utvrđeno je prijenos radioaktivno obilježene oleinske MK kroz posteljicu u amnionsku tekućinu, žumanjak, embrij i embrionska masna tijela, što utječe na rast i preživljavanje embrija (JONES i SWAIN, 2006.).

Istraživanjem masnokiselinskog sastava krvi kukuruznih zmija (*Pantherophis guttatus*) držanih u zatočeništvu identificirano je više od deset različitih MK, pri čemu su SFA bile najzastupljenije (PAĐEN i sur., 2021.). Masnokiselinski sastav krvi odražava promjene u metabolizmu masti, kao i prehrambeni unos MK, a u istom istraživanju pronađene su i spolne razlike u zastupljenosti pojedinih MK (PAĐEN i sur., 2021.). Istraživanje ukupnih lipida tkiva i promjena u masnokiselinskom sastavu, uključujući povećanje udjela nezasićenih masnih kiselina te promjene omjera pojedinih masnih kiselina, može biti korisno za identificiranje nutritivnog stresa (MCCUE, 2008.). Osim prehrane, i temperatura okoline utječe na masnokiselinski sastav triacilglicerola i fosfolipida srca, jetre, mišića i mozga Przevalskijeve žaboglave agame (*Phrynocephalus przewalskii*). Pri nižim temperaturama povećava se udio nezasićenih u odnosu na zasićene masne kiseline, što upućuje na važnost adekvatnog unosa nezasićenih masnih kiselina hranom radi prilagodbe na temperaturne uvjete (SHEN i GAO, 2005.).

2.5. Reaktivni kisikovi spojevi, oksidacijski stres i antioksidativna obrana

Gotovo svi živi organizmi ovise o kisiku, a aerobni organizmi energiju za obavljanje životnih funkcija iskorištavaju znatno učinkovitije nego anaerobni. Povećanje koncentracije kisika u atmosferi omogućilo je razvoj brojnih evolucijskih prednosti, ali istodobno je izložilo organizme i njegovim štetnim učincima. Tijekom metaboličkih procesa u organizmu nastaju toksične, reaktivne molekule poznate kao reaktivni kisikovi spojevi (ROS), zbog čega je aerobni metabolizam povezan s rizikom oksidacije osnovnih bioloških molekula. Ova oksidacija može promijeniti stanične funkcije, ugroziti opstanak stanica ili dovesti do oboje (OGBUEWU i sur., 2010.; HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.).

Brojna istraživanja potvrdila su da su oštećenja stanica uzrokovana slobodnim kisikovim radikalima etiološki čimbenici u razvoju i patogenezi različitih bolesti, uključujući

neurodegenerativne poremećaje, upale, neplodnost, virusne infekcije, autoimune bolesti i poremećaje probavnog sustava (DEAN i sur., 1997.; JACOB i WINYARD, 2009.; OGBUEWU i sur., 2010.).

2.5.1. Slobodni radikali u organizmu

Slobodni radikali su čestice, ioni, atomi ili molekule koje imaju jedan ili više neparnih elektrona u svojoj vanjskoj ljusci (HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.). Nastaju homolitičkim cijepanjem kovalentnih veza, pri čemu svaki elektron ostaje vezan uz jedan od susjednih atoma. Neparni elektroni čine molekule izrazito nestabilnima i reaktivnima. Kako bi postigli stabilnije stanje, slobodni radikali reagiraju s najbližim molekulama. Uparivanjem slobodnog elektrona stvaraju stabilniji spoj, pa ulaze u reakcije s anorganskim ili organskim molekulama poput bjelančevina, masti i nukleinskih kiselina. Primjerice, mogu se vezati s elektronima iz vanjske orbite drugih atoma te pritom predati ili oduzeti elektrone od drugih molekula (HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.).

Slobodni radikali mogu biti organskog i anorganskog podrijetla, mogu reagirati s organskim i/ili anorganskim spojevima te imati pozitivan, negativan ili neutralan naboj (HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.). Kada se jednom formiraju, mogu potaknuti lančane reakcije reagirajući međusobno ili s drugim, manje reaktivnim molekulama. Tada neparni elektroni formiraju kemijske veze uz oslobađanje energije. Najčešće reakcije u kojima sudjeluju slobodni radikali uključuju donaciju elektrona (reducirani radikal donira elektron), prihvatanje elektrona (oksidirani radikal prima elektron), uklanjanje vodika i reakcije adicije. Poluvrijeme života slobodnih radikala u biološkim sustavima vrlo je kratko, najčešće svega nekoliko mikrosekundi, što otežava njihovo kvantificiranje (KEHRER, 2000.; HORTON, 2003.).

U zdravim stanicama slobodni radikali prisutni su u vrlo niskim koncentracijama. Stanice nastoje održati ravnotežu između njihove proizvodnje i eliminacije, što postižu djelovanjem antioksidativnog sustava. Antioksidansi djeluju kao „lovci“ na radikale, neutralizirajući reducirajuće i oksidirajuće molekule. Ako iz bilo kojeg razloga dođe do relativnog ili apsolutnog manjka antioksidansa, sposobnost stanica da uklanjaju reaktivne kisikove spojeve opada, a koncentracija ROS raste. Posljedično se smanjuje obnavljanje staničnih enzima i detoksikacijska funkcija stanice, što dovodi do nakupljanja ROS-a koji mogu imati toksične učinke, mijenjati funkcije stanica i ugrožavati njihovo preživljavanje (OGBUEWU i sur., 2010.; HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.). Drugim riječima,

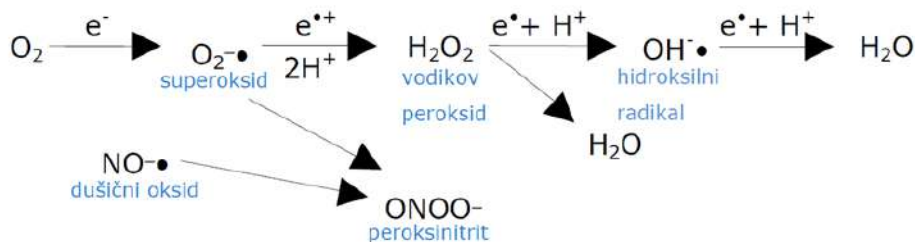
poremećaj ove ravnoteže, tj. pomak u korist oksidansa, naziva se oksidativni stres i uključuje oštećenje makromolekula te razvoj metaboličkih poremećaja (ŽURA ŽAJA i sur., 2019.).

Kisikovi radikali mogu izazvati niz štetnih reakcija, uključujući peroksidaciju masti, oštećenje DNK i bjelančevina. Oni mogu oksidirati gotovo svaku organsku molekulu, destabilizirati dušikove atome u DNK, RNK i aminokiselinama te dvostruke veze u masnim kiselinama. Takva oštećenja mijenjaju strukturu i funkciju stanica, remete imunološki sustav i procese popravka. Slobodni radikali mogu imati i citotoksičan učinak, uzrokujući staničnu smrt (nekrozom ili apoptozom), kromosomske aberacije, mutacije i karcinogenezu (FÜRST, 1996.; DEAN i sur., 1997.; KEHRER, 2000.; JACOB i WINYARD, 2009.).

2.5.2. *Reaktivni kisikovi spojevi*

Elektronska konfiguracija molekularnog kisika (O_2), s dva neparna elektrona, odgovorna je za njegovu dvostruku ulogu – ključnu ulogu u održavanju života i potencijalnu toksičnost. Zbog toga je aerobni metabolizam povezan s nastankom reaktivnih kisikovih spojeva i oksidacijom bioloških molekula, što može promijeniti funkciju stanica i ugroziti njihovo preživljavanje (HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.; OGBUEWU i sur., 2010.). Takva konfiguracija omogućuje postupnu redukciju kisika, pri čemu nastaju slobodni radikali u sljedećem redoslijedu: molekularni kisik (O_2), superoksidni radikal ($O_2^{\cdot-}$), vodikov peroksid (H_2O_2 , oksidacijsko sredstvo), čija daljnja redukcija stvara hidroksilni radikal ($OH^{\cdot}$).

Pojam reaktivni kisikovi spojevi (engl. *reactive oxygen species*, ROS) obuhvaća slobodne radikale, ali i reaktivne molekule koje to nisu (Tablica 1). Najvažniji radikali u biološkim sustavima su superoksidni anion ($O_2^{\cdot-}$) i hidroksilni radikal ($OH^{\cdot}$), dok među spojevima koji nisu radikali najznačajnije mjesto zauzimaju vodikov peroksid (H_2O_2), singletni kisik (1O_2) i hipoklorna kiselina ($HOCl$) (ŠVERKO, 2011., HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.) (Slika 3.).



Slika 3. Redukcija kisika i nastanak slobodnih radikala (ŠVERKO, 2011.).

Izvori ROS-a mogu biti vanjski (npr. ionizirajuće zračenje koje cijepa molekule vode, duhanski dim s visokim sadržajem radikala) i unutarnji (enzimski katalitički sustavi, aktivacija neutrofila pri obrani od bakterija, mitohondrijski lanac prijenosa elektrona kao primjer „slučajnog“ stvaranja radikala) (HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015., ŽURA ŽAJA i sur., 2023.).

Superoksidni anion ($\text{O}_2^{\bullet-}$) ima ključnu ulogu u životu aerobnih organizama. Glavni izvor njegova stvaranja je mitohondrijski respiratorni lanac, pri čemu se u fiziološkim uvjetima mali dio ukupno potrošenog kisika reducira u superoksid (MURPHY, 2009.). Osim toksičnog djelovanja, superoksid funkcionira i kao signalna molekula koja regulira brojne procese, uključujući apoptozu, starenje i staničnu senescenciju (CAMPOS CHISTE i sur., 2015.; ANDRÉS i sur., 2023.).

Vodikov peroksid (H_2O_2), iako nije slobodni radikal, djeluje kao važna signalna molekula koja sudjeluje u regulaciji redoks statusa stanice i metaboličkih odgovora (ANDRÉS i sur., 2023.). Međutim, u visokim koncentracijama postaje toksičan, ponajprije zbog mogućnosti stvaranja visoko reaktivnog hidroksilnog radikala u prisutnosti prijelaznih metala poput željeza i bakra. Na staničnoj razini višak H_2O_2 može izazvati upalu, apoptozu i oksidativna oštećenja biomolekula, a zbog sposobnosti prolaska kroz biološke membrane može potaknuti stvaranje sekundarnih reaktivnih spojeva (SIES, 2017.).

Hidroksilni radikal ($\text{OH}^{\bullet}$) smatra se najreaktivnijim od svih slobodnih radikala. Reagira s različitim staničnim spojevima te može uzrokovati oksidativna oštećenja aminokiselina i proteina. Posebno je štetan za nukleinske kiseline jer može izazvati cijepanje lanca i kemijske modifikacije baza DNK, što može dovesti do mutogeneze i karcinogeneze. Također može

inicirati peroksidaciju lipida u staničnim membranama, što može rezultirati promjenama njihove propusnosti i funkcije, uključujući poremećaj ionskih kanala te aktivnosti membranskih enzima i receptora. Posljedično dolazi do narušavanja stanične funkcije i, u određenim uvjetima, stanične smrti (ANDRÉS i sur., 2023.).

Superoksidni anion ($O_2^{\cdot-}$) i vodikov peroksid (H_2O_2) mnogo su selektivniji i stoga manje reaktivni ali imaju važnu ulogu kao prekursori visoko reaktivnih radikala. Hidroksilni radikali nastaju interakcijom superoksidnog aniona i vodikovog peroksida, a reakciju kataliziraju prijelazni metali (npr. željezo, bakar) u tzv. Haber–Weissovoj i Fentonovoj reakciji (KEHRER, 2000.; ANDRÉS i sur., 2023.) (Tablica 1.).

Tablica 1. Reaktivni kisikovi spojevi (prema ŠTEFAN i sur., 2007.)

Slobodni radikali	Čestice koje nisu slobodni radikali
superoksidni, $O_2^{\cdot-}$	vodikov peroksid, H_2O_2
hidroksilni, $OH^{\cdot}$	hipokloritna kiselina, $HClO$
peroksilni, $ROO^{\cdot}$	ozon, O_3
alkoksilni, $RO^{\cdot}$	singletni kisik, 1O_2
hidroperoksilni, $HO_2^{\cdot}$	

2.5.3. Reaktivni dušikovi spojevi

Osim ROS-a, u biološkim sustavima prisutne su i druge skupine reaktivnih molekula, uključujući reaktivne dušikove spojeve (RNS), kao i reaktivne kloridne, bromidne i sumporne spojeve, koji mogu uključivati i radikale i neradikalske vrste (HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.; ADAMS i sur., 2015.).

Dušik (N) je esencijalni element života, u atmosferi prisutan pretežno u obliku plina N_2 . Kada se razbije snažna veza u molekuli N_2 , dušik postaje reaktivan te se pojavljuje u različitim oblicima. U biološkim sustavima najvažniji RDS su slobodni radikali poput dušikovog oksida ($NO^{\cdot}$) i dušikovog dioksida ($NO_2^{\cdot}$), ali i reaktivne molekule koje nisu radikali, primjerice dušična kiselina (HNO_2) i peroksinitrit ($ONOO^-$) (vidi Tablicu 2). Reaktivni dušikovi spojevi

(RDS) predstavljaju specifičnu skupinu molekula uključenih u staničnu signalizaciju, dok je dušik kao element sastavni dio brojnih bioloških makromolekula (ADAMS i sur., 2015.).

Dušikov oksid ($\text{NO}\cdot$) kao radikal relativno slabo reagira s većinom biomolekula, ali se lako spaja s drugim radikalima, obično tvoreći uglavnom reaktivne spojeve. U organizmu nastaje iz L-arginina djelovanjem enzima dušikov-oksida sintaze (NOS) u endotelnim, živčanim i upalnim stanicama (MONCADA i HIGGS, 1993.; HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.). Njegove fiziološke funkcije su brojne, među kojima su: lokalna vazodilatacija, regulacija krvnog tlaka, inhibicija agregacije trombocita, regulacija srčane kontraktilnosti, stanično signaliziranje, djelovanje kao neurotransmitter u središnjem živčanom sustavu (npr. kod procesa pamćenja), te modulacija funkcije perifernih organa putem neadrenergičnih, nekolinergetičkih živaca. Dušikov oksid također sudjeluje u uspostavljanju i modulaciji imunološkog odgovora (MONCADA i HIGGS, 1993.). U niskim koncentracijama dušikov oksid ima važnu fiziološku ulogu i u reprodukciji, osobito u procesu oplodnje, jer održava gibljivost spermija (ŽURA ŽAJA i sur., 2019.) (Tablica 2.).

Tablica 2. Reaktivni dušikovi spojevi (prema ŠTEFAN i sur., 2007.)

Slobodni radikali	Čestice koje nisu slobodni radikali
dušikov oksid, $\text{NO}\cdot$	nitrozil, NO^+
	nitritna kiselina, HNO_2
	dušikov trioksid, N_2O_3
dušikov dioksid, $\text{NO}_2\cdot$	peroksinitrit, ONOO^-
	alkilperoksinitrit, ROONO

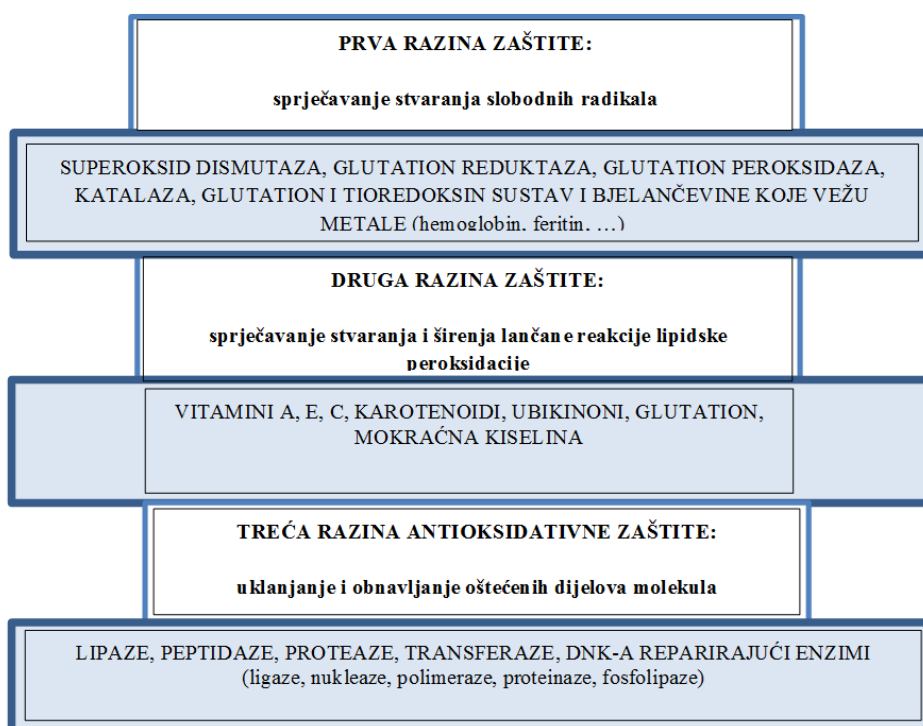
Osim kisikovih radikala, makrofagi proizvode i $\text{NO}\cdot$, koji koriste u uništavanju patogenih mikroorganizama i tumorskih stanica. Iako sam po sebi nije izrazito toksičan, $\text{NO}\cdot$ lako reagira s vodikovim peroksidom (H_2O_2) ili superoksidnim anionom ($\text{O}_2\cdot^-$), stvarajući toksičnije spojeve koji učinkovito uništavaju bakterije, gljivice, helminte i tumorske stanice (STEVANOVIĆ i sur., 2011.; NIEDER i BENBI, 2022.).

2.5.4. Antioksidativna obrana organizma

Potencijalna toksičnost reaktivnih kisikovih i dušikovih spojeva pod fiziološkim uvjetima ublažava se djelovanjem brojnih citoprotektivnih enzima i spojeva poznatih pod zajedničkim nazivom antioksidansi. Antioksidans je spoj koji, iako prisutan u niskoj koncentraciji u odnosu na oksidirajuću tvar, značajno usporava ili sprječava njezinu oksidaciju (HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.) (Slika 5.).

Glavni mehanizmi djelovanja antioksidansa uključuju:

- a) ograničavaju stvaranja ROS-a,
- b) eliminaciju već nastalih spojeva djelovanjem specifičnih enzima poput superoksid-dismutaze (SOD), katalaze i glutation-peroksidaze, kao i drugih antioksidansa prisutnih u stanicama i tjelesnim tekućinama (vitamin C, vitamin E, urati, glukoza, selen, ubikinon, glutation),
- c) uklanjanje oštećenja i oštećenih molekula prije nego što njihovo nakupljanje izazove dodatna oštećenja (ABEYRATHNE i sur., 2022.; HEWITT i DEGNAN, 2023.).



Slika 5. Zaštitne razine antioksidacijskog sustava (prema SURAI, 2006.).

Endogeni antioksidansi neprekidno se proizvode u tijelu te se dijele na enzimske i neenzimske molekule. Oni međusobno djeluju i nadopunjuju se, a obično su smješteni u citoplazmi i različitim staničnim organelama, dok se dio nalazi i u izvanstaničnim tekućinama. Zajedničkim djelovanjem endogeni i egzogeni antioksidansi neutraliziraju učinak slobodnih radikala i pridonose učinkovitijem imunološkom odgovoru. Enzimski antioksidansi uglavnom su unutarstanično lokalizirani, dok se neenzimski spojevi nalaze i unutar i izvan stanica (ABEYRATHNE i sur., 2022.; HEWITT i DEGNAN, 2023.) (Slika 4.).



Slika 4. Podjela staničnih obrambenih mehanizama uključenih u zaštitu od oksidativnog stresa (prema KOHEN i NYSKA, 2002.).

2.5.4.1. Neenzimski antioksidansi

Neenzimski antioksidansi dijele se na endogene (metaboličke) i egzogene (prehrambene).

Endogeni antioksidansi uključuju spojeve koji se proizvode u tijelu, poput α -lipoične kiseline, glutationa, L-arginina, mokraćne kiseline, bilirubina, koenzima Q10, melatonina, proteina niske molekulske mase koji vežu teške metale, transferina i drugih (PHAM-HUY i sur., 2008.; ABEYRATHNE i sur., 2022.).

Egzogeni antioksidansi (nutrijenti) ne mogu se sintetizirati u tijelu te se moraju unositi hranom i/ili dodacima prehrani. Oni mogu biti prirodni ili sintetički, a među najvažnijima su vitamin E, vitamin C, karotenoidi, flavonoidi, likopen te elementi u tragovima poput selena (Se), bakra (Cu), cinka (Zn) i mangana (Mn) (SHINDE i sur., 2012.; ABEYRATHNE i sur., 2022.).

- Vitamin C (askorbinska kiselina) ima važnu ulogu u biološkim procesima oksidacije-redukcije i staničnom disanju. Djeluje kao „hvatač“ i neutralizator ROS-a i RDS-a unutar i izvan stanice te predstavlja jedan od glavnih antioksidansa u plazmi. Njegovi učinci uključuju redukciju oksidiranog vitamina E, prevenciju oksidacije lipoproteina niske gustoće (LDL, *engl. low-density lipoprotein*), povećanje resorpcije željeza u probavnom sustavu, djelovanje kao enzimatski kočimbenik te neutralizaciju α -tokoferol radikala, peroksida i drugih radikala (SCHLUETER i JOHNSTON, 2011.)
- Vitamin E je lipofilni antioksidans, sastavni dio bioloških membrana i lipoproteina u krvi. Najzastupljeniji je i najučinkovitiji liposolubilni „hvatač“ peroksilnih radikala u organizmu. Ugrađen je u lipidni dvosloj staničnih membrana, gdje inhibira lančane reakcije slobodnih radikala u procesu lipidne peroksidacije. Djeluje u membranama organela, lipoproteinima, masnom tkivu i mozgu, a ima značajnu ulogu u usporavanju razvoja ateroskleroze, kardiovaskularnih i drugih bolesti. Kada tijekom peroksidacije lipida nastanu peroksilni i alkilni radikali, oni prvenstveno reagiraju s vitaminom E, a ne s obližnjim masnim kiselinama (SCHNEIDER, 2005.).
- Vitamin A i njegovi derivati učinkovito neutraliziraju ROS, posebno singletni kisik. Kao i vitamin E, nalazi se u staničnim membranama i lipoproteinima. Njegovo djelovanje povezano je zaštitom lipida od oksidativnog oštećenja, dok su učinci na razvoj kardiovaskularnih bolesti predmet istraživanja (SIES i sur., 2017.).

2.5.4.2. Enzimski antioksidansi

a) Superoksid dismutaza

Superoksid-dismutaza (SOD) ključni je unutarstanični antioksidativni enzim. Ovaj enzim katalizira dismutaciju superoksidnog radikala ($O_2^{\cdot-}$), pri čemu nastaju kisik (O_2) i manje reaktivni vodikov peroksid (H_2O_2). Nastali peroksidi dalje se razgrađuju djelovanjem katalaze ili glutation-peroksidaze (ALVAREZ i sur., 1987.).

Iako je SOD prvi put izoliran 1939. godine, njegov antioksidativni učinak potvrđen je tek 1969. godine. Ovo otkriće potaknulo je razvoj teorije prema kojoj je superoksidni radikal glavni čimbenik toksičnosti kisika, dok SOD predstavlja ključnu zaštitu od njegovih štetnih učinaka. Aktivnost SOD-a raste s povećanjem koncentracije kisika (FRIDOVICH, 1995.; HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.; ŽURA ŽAJA, 2019.; KHATUN i RAJAK., 2026.).

SOD postoji u nekoliko izoformi koje se razlikuju prema vrsti metalnog iona u aktivnom mjestu, aminokiselinskom sastavu, molekulskoj masi, broju podjedinica, kofaktori, lokalizaciji, mehanizmima regulacije i funkciji u specifičnim fiziološkim i patološkim procesima. Kod ljudi su prisutna tri glavna oblika (LANDIS i TOWER, 2005.; OLIVEIRA SANTOS i DE CARVALHO., 2024.).:

1. citosolna bakar-cink superoksid-dismutaza (Cu/Zn-SOD),
2. mitohondrijska superoksid-dismutaza (Mn-SOD),
3. izvanstanična superoksid-dismutaza (EC-SOD).

SOD razgrađuje O_2^- izuzetno visokom brzinom, koristeći mehanizam sukcesivne oksidacije i redukcije iona prijelaznog metala u aktivnom mjestu enzima (MATES i sur., 1999.; FEI i sur., 2021.).

b) Glutation-peroksidaza

Glutation-peroksidaza (GSH-Px) pripada skupini filogenetski povezanih enzima, prvi put otkrivenih u životinjskom tkivu 1957. godine. Njezina prisutnost u biljkama i bakterijama znatno je manja. Ovaj enzim predstavlja dodatni mehanizam protiv lipidne peroksidacije i katalizira redukciju vodikovog peroksida i organskih hidroperoksida u vodu i odgovarajući alkohol, pri čemu kao donor vodika koristi reducirani glutation (GSH). Jedna od ključnih uloga GSH-Px-a je održavanje ravnoteže između ROS-a i antioksidansa, odnosno regulacija homeostaze H_2O_2 u signalnim putevima (ZHANG i sur., 2012.; BRIGELIUS-FLOHÉ i MAIORINO, 2013.; ZINELLU i sur., 2021.).

Enzim je široko rasprostranjen u životinjskim tkivima te pokazuje visoku specifičnost prema glutationu kao donoru vodika. Osim vodikovog peroksida, može neutralizirati i druge perokside oksidacijom, uključujući perokside masnih kiselina i sintetske perokside (npr. kumil-hidroperoksid i tert-butil-hidroperoksid), koji se često koriste kao supstrati u *in vitro* uvjetima. Međutim, nisu svi GSH-Px enzimi sposobni neutralizirati perokside masnih kiselina vezane u

lipidima membrana i lipoproteina, pa ih lipaze prvo moraju osloboditi. Djelovanje GSH-Px-a može se inhibirati tiomalinskom kiselinom (CHAUDIERE i sur., 1984.).

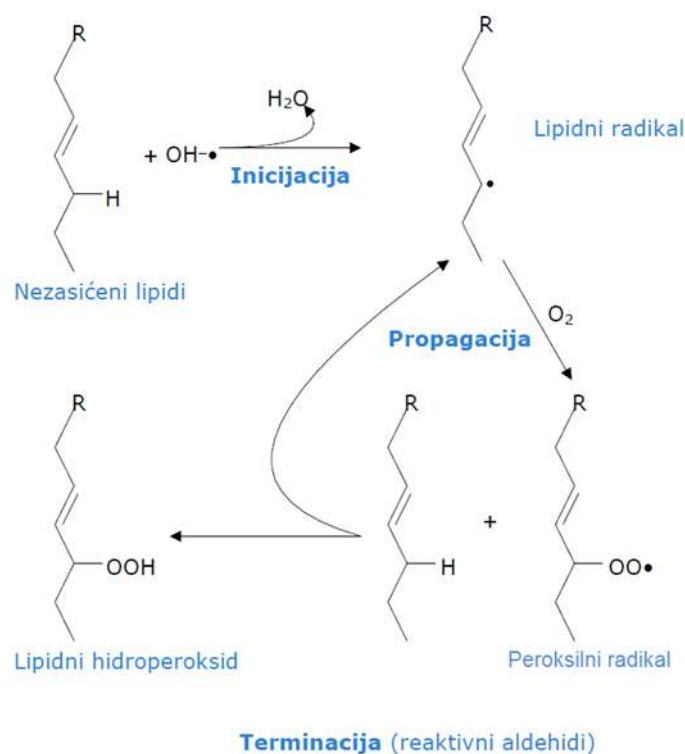
Ukupna aktivnost GSH-Px-a u ljudi i životinja najizraženija je u jetri, bubrezima i punoj krvi, umjerena u eritrocitima, srcu i mozgu, dok je najniža u skeletnom mišićju, masnom tkivu i plazmi (HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.; ŽURA ŽAJA, 2019; ZINELLU i sur., 2021.). Glutation-peroksidaza djeluje zajedno s glutationom, tripeptidom prisutnim u visokim koncentracijama unutar stanica te je ključni enzim u zaštiti organizma pri nižim razinama oksidacijskog stresa (VALKO i sur., 2006.; ŽURA ŽAJA, 2015.).

2.5.5. Oksidativni stres

Oksidativni stres odnosi se na pomak u ravnoteži staničnih oksidacijsko-redukcijskih reakcija u korist oksidacije ili prekomjerne tvorbe slobodnih radikala. Drugim riječima, riječ je o gubitku ravnoteže između stvaranja radikala i sposobnosti stanice da ih neutralizira uz pomoć antioksidativnog sustava. Uzroci mogu biti mehaničke, bakterijske, virusne ili toksične prirode, a rezultat je iscrpljivanje većine reducirajućih spojeva u stanici (HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.).

Lipidi imaju višestruke uloge: oni su funkcionalne i strukturne komponente bioloških membrana, glavne energetske rezerve organizma, prekursori vitamina i hormona te sudjeluju u međustaničnoj komunikaciji i regulaciji ekspresije gena (CATALÁ, 2009.).

Peroksidacija lipida predstavlja oksidativnu degradaciju lipida koju potiču ROS i/ili RDS. U ovom procesu slobodni radikali „kradu“ elektrone iz lipida u staničnim membranama, lipoproteinima i drugim molekulama, što rezultira oštećenjem stanica i gubitkom integriteta membrane (HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.). Proces se nastavlja mehanizmom lančane reakcije slobodnih radikala (ŠTEFAN i sur., 2007.). Tijekom peroksidacije lipida najprije nastaju primarni proizvodi koji se brzo razgrađuju, dok se iz njih stvaraju sekundarni proizvodi poput aldehida (GIROTTI, 1998.; GUÉRAUD i sur., 2010.) (Slika 6.). Najvažniji i najčešći krajnji produkti lipidne peroksidacije su reaktivni aldehidi malondialdehid (MDA) i 4-hidroksinonanal (4-HNE) (AYALA i sur., 2014.).



Slika 6. Tijek lipidne peroksidacije (ŠVERKO, 2011.).

Koncentracija markera oksidativnog statusa značajno se razlikuje među tkivima (MADEIRA i sur., 2013.), a posljedice ovise o tome koji je organ zahvaćen. U jetri oksidativno oštećenje može ograničiti sposobnost detoksikacije krvi i skladištenja glikogena (OETTTL i sur., 2013.). U mozgu takva oštećenja dovode do smanjenja kognitivnih sposobnosti te mogu utjecati na ponašanje i vrijeme reakcije, uključujući i termoregulacijsko ponašanje (FORSTER i sur., 1996.). Respiratorne površine, poput pluća i škrga, često nakupljaju visoke koncentracije produkata povezanih s ROS-om, dok moždano tkivo u istom organizmu može pokazivati minimalne ili nikakve promjene kao odgovor na temperaturni stres (MADEIRA i sur., 2013.).

Termalna osjetljivost tkiva važan je faktor u procjeni učinaka temperaturnog stresa. Primjerice, mozak tolerira samo minimalne temperaturne fluktuacije, dok je mišićno tkivo znatno otpornije (KIYATKIN, 2010.; RITCHIE i FRISIEN, 2022.).

2.5.6. Metode određivanja oksidativnog statusa

Izravno određivanje slobodnih radikala je teško zbog njihovih niskih koncentracija (oko 10^{-11} mol/L) i kratkog poluvijeka trajanja (u milisekundama). Moguće ih je izravno detektirati korištenjem elektronske spin rezonancije, no zbog kratkog životnog vijeka slobodnih radikala te tehničke zahtjevnosti metode, elektronska spin rezonancija uglavnom je ograničena na specijalizirana eksperimentalna istraživanja (ČVORIŠČEC i ČEPELAK, 2009.). Za određivanje ROS postoje brojne indirektne metode koje zapravo detektiraju oksidativni stres, a temelje se na sljedećim pristupima:

- Određivanje aktivnosti enzima koji proizvode ROS (npr. mijeloperoksidaza, dušikov-oksida sintaza)
- Određivanje koncentracije pojedinih antioksidansa ili aktivnosti citoprotektivnih enzima (SOD, GSH-Px, CAT, vitamini A i C, koncentracija izvanstaničnih antioksidansa)
- Određivanje proizvoda reakcije slobodnih radikala s biomolekulama (MDA, hlapljivi ugljikovodici, antitijela protiv oksidiranog LDL-a)
- Određivanje biološkog antioksidativnog potencijala (BAP) i derivata reaktivnih kisikovih metabolita (d-ROM)

Metode za određivanje ukupnog antioksidativnog statusa smatraju se pouzdanijim pokazateljem aktivnog obrambenog mehanizma organizma, a najčešće korištena je metoda određivanja ukupnog antioksidativnog kapaciteta (ČVORIŠČEC i ČEPELAK, 2009.). Budući da se markeri i tkiva međusobno razlikuju po biološkom podrijetlu i funkciji, izmjerene vrijednosti oksidativnog statusa različitih tkiva istog pojedinca ne moraju nužno biti u korelaciji. Stoga je ključno istraživačko pitanje odabir najrelevantnijeg pokazatelja oksidativnog statusa, ali i odgovarajućeg tkiva. Pilot-studije pritom su korisne za testiranje korelacija između biomolekularnih markera i specifičnih tkiva unutar iste ili filogenetski bliskih vrsta (RITCHIE i FRISIEN, 2022., SHEK VUGROVEČKI i sur., 2025.).

2.5.6.1. Biološki antioksidativni potencijal (BAP)

Biološki antioksidativni potencijal (BAP) predstavlja mjeru ukupnog antioksidativnog kapaciteta bioloških tekućina i tkiva te odražava sposobnost organizma da se obrani od oksidativnog stresa. Vrijednosti BAP-a određuju se različitim testovima koji procjenjuju redukcijsku moć prisutnih antioksidansa, uključujući urate, askorbinsku kiselinu, α -tokoferol i

bilirubin, a svi oni sudjeluju u redukciji željezova (III) kationa (Fe^{3+}) u željezov (II) kation (Fe^{2+}) (KILK i sur., 2014.). Istraživanja su pokazala da razine BAP-a mogu značajno varirati među različitim populacijama i stanjima, što potvrđuje njegovu važnost kao potencijalnog biomarkera za niz bolesti, uključujući kardiovaskularne i neurodegenerativne poremećaje (KAWAI i sur., 2017.; OK i sur., 2018.). Niže razine BAP-a povezane su s povećanim oksidativnim stresom, koji može ubrzati napredovanje bolesti (CAVALLO i sur., 2019.). Osim toga, BAP test je validiran u ljudskoj i veterinarskoj medicini, pa se smatra korisnim alatom za praćenje oksidativnog statusa i u zdravlju i u bolesti (PASQUINI i sur., 2007., SHEK VUGROVEČKI i sur., 2025.). Ukratko, BAP je pokazatelj učinkovitosti antioksidativnog obrambenog sustava organizma te pruža vrijedne informacije za procjenu zdravstvenog statusa i planiranje terapijskih intervencija.

2.5.6.2. Derivati reaktivnih kisikovih metabolita (d-ROM)

Derivati reaktivnih kisikovih metabolita (d-ROM) predstavljaju biomarker oksidativnog stresa koji odražava koncentraciju hidroperoksida nastalih oksidacijom lipida, proteina i drugih biomolekula (KILK i sur., 2014.). Od uvođenja d-ROM testa početkom 21. stoljeća njegova primjena postala je široko rasprostranjena zbog jednostavne izvedbe, brze analize i relativno niskih troškova. Metoda se temelji na oksidaciji kromogena u prisutnosti hidroperoksida i iona željeza u kiselom mediju, pri čemu intenzitet obojenja odgovara ukupnom oksidativnom statusu uzorka (KILK i sur., 2014.).

Određivanje d-ROM-a koristi se u brojnim istraživanjima na ljudima i životinjama za procjenu oksidativnog stresa povezanog s fiziološkim i patološkim stanjima (KOTANI i sur., 2010.; DOHI i sur., 2013.; SUZUKI i sur., 2008.). Povišene vrijednosti d-ROM-a povezane su s malignim bolestima, kardiovaskularnim poremećajima, kroničnim upalnim procesima i izloženošću različitim okolišnim stresorima (KAWAI i sur., 2021.). U veterinarskim i humanim istraživanjima d-ROM test primjenjuje se i za procjenu oksidativnog statusa različitih kralježnjaka, uključujući gmazove (SHEK VUGROVEČKI i sur., 2025.).

2.5.5. Omjer d-ROM i BAP

Budući da neravnoteža između oksidansa i antioksidansa predstavlja temeljni koncept oksidacijskog stresa (CASTILLO i sur., 2005.), razvijeni su različiti pristupi za kvantifikaciju

tog odnosa. Jedan od njih je indeks oksidacijskog stresa (engl. *oxidative stress index*, OSI), definiran kao omjer ukupnih oksidansa i antioksidativnog kapaciteta (ABUELO i sur., 2013.).

U nekim istraživanjima d-ROM i BAP testovi koriste se zajedno za procjenu oksidativnog statusa, pri čemu njihova kombinirana interpretacija omogućuje uvid u ravnotežu između oksidansa i antioksidansa (SHONO i sur., 2020.; SHEK VUGROVEČKI i sur., 2025.). Njihov omjer može se koristiti kao praktičan pokazatelj tog odnosa, iako takav pristup nije univerzalno standardiziran te se interpretira u kontekstu korištenih metoda i analiziranih vrsta.

2.5.7. Oksidativni stres u gmazova

Gmazovi posjeduju i enzimске i neenzimske antioksidativne sustave. Ključni enzimski antioksidansi uključuju glutathion peroksidazu (GSH-Px) i superoksid dismutazu (SOD), koji su od esencijalne važnosti za detoksikaciju štetnih peroksida i superoksidnih radikala (CHEN i sur., 2024.). Neenzimski antioksidansi, poput vitamina C i E, također doprinose ukupnom antioksidativnom kapacitetu, štiteći stanične strukture od oksidativnog oštećenja kod gmazova (GAVRIĆ i sur., 2015.; SHEK VUGROVEČKI i sur., 2025.).

Oksidativni stres predstavlja značajan izazov za gmazove, ektotermne organizme kod kojih vanjski čimbenici mogu potaknuti povećanu proizvodnju ROS-a. Tijekom izlaganja UV zračenju, kojem su gmazovi izrazito izloženi zbog potrebe za održavanjem tjelesne temperature, dolazi do stvaranja slobodnih radikala koji mogu uzrokovati oštećenja stanica i tkiva. Ipak, kod guštera vrste *Psammodromus algirus*, unatoč povećanom UV zračenju, nisu uočeni znakovi oksidativnog stresa. Ovo potvrđuje važnost snažnog antioksidativnog sustava u tkivima guštera (REGUERA i sur., 2015., MOLTEDO, 2023.).

Postoji idealna temperatura za sve gmazove, koja se naziva toplinski optimum (Topt), a označava temperaturni raspon najpovoljniji za fiziološke procese i performanse organizma. Nasuprot Topt-u, postoje i kritične temperature (CT, engl. *critical temperature*) – visoka (CTmax) i niska (CTmin), koje se definiraju kao točke u kojima organizam prelazi s aerobnog na anaerobni metabolizam. Kako temperatura raste, performanse jedinke se poboljšavaju, a u tom trenutku gmazovi mogu mijenjati svoje ponašanje (izlaganje ili izbjegavanje izvora topline) kako bi regulirali tjelesnu temperaturu i održali Topt (PÖRTNER, 2002.). Ako promjene u ponašanju ne mogu regulirati tjelesnu temperaturu, može doći do pojačane proizvodnje ROS-a i razvoja oksidativnog stresa (RITCHIE i FRISIEN, 2022.).

Eksperimentalna stimulacija toplinskog vala kod kukuruzne zmiје (*Pantherophis guttatus*) pokazala je negativan učinak na tjelesnu masu, ali i smanjenje oksidativnih oštećenja te vjerojatno i imunološkog odgovora. Štoviše, toplinski valovi mogu imati složene, umjerene, pa čak i pozitivne fiziološke učinke kod nekih skupina organizama (STAHLSCHMIDT i sur., 2017.). Međutim, porast temperature koji oponaša globalno zagrijavanje izazvao je oksidativni stres i imunosupresiju kod živorodnog guštera (*Eremias multiocellata*) (HAN i sur., 2020.).

Anoksija i izloženost temperaturama ispod točke smrzavanja dovode do povećane aktivnosti antioksidacijskih enzima (npr. katalaze u mišićima i plućima, GSH-Px u mišićima tijekom smrzavanja i SOD u jetri tijekom anoksije). Ovaj fenomen, poznat kao „oksidativno pripremanje“ (engl. *oxidative priming*), znači da povećanje antioksidativnog kapaciteta prethodi stvarnoj pojavi oksidativnog stresa (HERMES-LIMA i sur., 2001.). Povećana aktivnost antioksidacijskih enzima odražava povećanu stopu njihove sinteze i/ili smanjenu razgradnju (HERMES-LIMA i ZENTENO-SAVIN, 2002.). Zanimljivo je da se razina glutaciona nije promijenila tijekom smrzavanja u mišićima, niti u smrznutoj i anoksičnoj jetri i plućima, što sugerira da stanice vrtne zmiје (*Thamnophis sirtalis*) mogu održati antioksidativni kapacitet čak i u ekstremnim uvjetima smrzavanja i anoksije (HERMES-LIMA i STOREY, 1993.).

Razumijevanje oksidativnog stresa i povezanih antioksidativnih mehanizama kod gmazova ključno je za očuvanje njihovog zdravlja i dugoročne održivosti populacija. Povišene razine oksidativnog stresa povezane su s različitim zdravstvenim problemima, uključujući smanjenu imunološku funkciju i slabiju reproduktivnu uspješnost (OLIVEIRA i sur., 2021., LEIVA i sur., 2022.). Osim toga, kako klimatske promjene nastavljaju oblikovati uvjete okoliša, praćenje oksidativnog stresa u populacijama gmazova može pružiti vrijedne uvide u njihovu prilagodljivost i otpornost (VALERO i sur., 2014).. U tom kontekstu, gmazovi su osobito ranjivi na ekstremne temperaturne uvjete koji dodatno povećavaju oksidativni stres. Istraživanja su pokazala da se gmazovi mogu djelomično prilagoditi promjenama temperature povećanjem aktivnosti antioksidativnih enzima, čime se smanjuje razina ROS-a (VALERO i sur., 2014).

Dokazano je da su gmazovi podložni oksidativnom stresu koji može rezultirati oštećenjem lipida, proteina i DNA (POLETTA i sur., 2016.; SHEK VUGROVEČKI i sur., 2025.). Primjerice, na krokodilima (*Caiman latirostris*) korišteni su parametri za procjenu oksidativnog stresa i kapaciteta antioksidativne obrane, uključujući lipidnu peroksidaciju i oštećenja DNA, kako bi se procijenio utjecaj pesticida kao mogućih izvora oksidativnog stresa.

Rezultati istraživanja pokazali su da se navedeni biomarkeri mogu uspješno primijeniti u procjeni oksidativnih oštećenja i antioksidativne obrane kod ove vrste te koristiti u budućim biomonitoring istraživanjima (POLETTA i sur., 2016.).

Razlike u razinama oksidativnog stresa između spolova u nekim vrstama gmazova sugeriraju da reproduktivne strategije mogu utjecati na ravnotežu između pro-oksidativnih i antioksidativnih mehanizama. Tako ženke pojedinih vrsta, koje ulažu značajnu energiju u brigu za potomstvo, mogu biti izloženije oksidativnom stresu zbog povećanih metaboličkih zahtjeva (COSTANTINI i HELFENSTEIN, 2017.).

Sveukupno, oksidativni stres predstavlja značajan izazov za gmazove, pri čemu je pod snažnim utjecajem različitih okolišnih i fizioloških čimbenika. Dinamična interakcija između proizvodnje ROS-a i antioksidativnih obrambenih mehanizama ključna je za očuvanje zdravlja i adaptivnog potencijala ovih ektotermnih organizama. Daljnja istraživanja parametara oksidativnog stresa i antioksidativnih mehanizama doprinijet će boljem razumijevanju biologije gmazova te pružiti uvid u nove strategije za njihovo očuvanje.

2.6. Povezanost masnokiselinskog sastava i oksidativnog statusa

Masne kiseline i oksidativni status predstavljaju međusobno povezane komponente stanične fiziologije. Sastav masnih kiselina određuje brojna funkcionalna svojstva bioloških membrana, uključujući njihovu fluidnost, propusnost, aktivnost membranskih proteina i učinkovitost stanične signalizacije (HULBERT i sur., 2007.; HULBERT, 2010.). Posebno važnu ulogu imaju PUFA, koje zbog većeg broja dvostrukih veza doprinose fleksibilnosti membrana i omogućuju brojne fiziološke procese, uključujući prijenos signala i regulaciju aktivnosti enzima i receptora (PAMPLONA i sur., 2002.; TSALUCHIDU i sur., 2008.). Međutim, ista strukturna obilježja koja PUFA daju važnu funkcionalnu ulogu čine ih i izrazito podložnima oksidativnim oštećenjima uzrokovanim ROS-om (HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.).

Peroksidacija membranskih lipida jedan je od najvažnijih oblika oksidativnog oštećenja stanice. Proces započinje reakcijom ROS s PUFA, pri čemu nastaju sekundarni produkti poput malondialdehida (MDA) i 4-hidroksi-2-nonenala (4-HNE), koji mogu dodatno utjecati na strukturu membrana, funkciju proteina i staničnu signalizaciju (AYALA i sur., 2014.). Posljedično može doći do promjena u fluidnosti i propusnosti membrana, poremećaja funkcije

receptora i ionskih kanala te oštećenja drugih staničnih struktura (TSALUCHIDU i sur., 2008.; HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.).

Zbog toga postoji uska povezanost između masnokiselinskog sastava tkiva i antioksidativnog sustava organizma. Tkiva bogata nezasićenim masnim kiselinama potencijalno su osjetljivija na oksidativna oštećenja te zahtijevaju učinkovitije mehanizme antioksidativne zaštite kako bi se održala redoks ravnoteža (PAMPLONA i sur., 2002.; HULBERT i sur., 2007.). Smatra se da organizmi usklađuju sastav membranskih lipida s kapacitetom antioksidativne obrane, pri čemu promjene u jednom sustavu često prate prilagodbe u drugom. Stoga se masnokiselinski sastav i pokazatelji oksidativnog statusa sve češće promatraju integrirano, kao međusobno povezani čimbenici koji odražavaju fiziološko stanje organizma i njegovu sposobnost prilagodbe okolišnim uvjetima (HULBERT, 2010.; COSTANTINI, 2014.).

3. OBRAZLOŽENJE TEME

Masne kiseline predstavljaju jednu od ključnih komponenti bioloških membrana te imaju važnu ulogu u energetske metabolizmu, staničnoj signalizaciji i prilagodbi organizma okolišnim uvjetima. Kod ektotermnih kralježnjaka sastav masnih kiselina može biti povezan s prilagodbom promjenama temperature okoliša, energetske zahtjevima organizma te različitim životnim strategijama. Istodobno, metabolički procesi povezani s prometom lipida mogu utjecati na stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva, zbog čega su lipidni metabolizam i oksidativni status međusobno usko povezani fiziološki sustavi.

Iako su masnokiselinski sastav tkiva i pokazatelji oksidativnog statusa relativno dobro istraženi kod brojnih skupina kralježnjaka, podaci za gmazove, a osobito za slobodnoživuće vrste guštera roda *Podarcis*, i dalje su ograničeni. Primorska gušterica (*Podarcis siculus*) i krška gušterica (*Podarcis melisellensis*) dvije su široko rasprostranjene vrste na području istočne obale Jadrana koje često nastanjuju slična staništa, ali se razlikuju u ekološkim i biogeografskim obilježjima. Zbog toga predstavljaju pogodan model za istraživanje mogućih međuvrskih razlika u lipidnom metabolizmu i oksidativnom statusu.

Očekivani doprinos ovog istraživanja ogleda se u proširenju spoznaja o fiziološkim značajkama guštera roda *Podarcis*, s posebnim naglaskom na povezanost masnokiselinskog sastava tkiva i oksidativnog statusa. Usporedbom *P. siculus*, vrste poznate po izraženoj sposobnosti širenja i kolonizacije novih područja, i *P. melisellensis*, autohtone vrste ograničenije rasprostranjenosti, ovo istraživanje pruža uvid u moguće fiziološke razlike koje mogu biti povezane s različitim ekološkim strategijama ovih vrsta. Dobiveni rezultati doprinijet će boljem razumijevanju lipidnog metabolizma i oksidativnog statusa kod gmazova te mogu poslužiti kao polazište za buduća istraživanja fizioloških mehanizama koji sudjeluju u prilagodbi, širenju areala i uspješnosti kolonizacije novih staništa kod ektotermnih kralježnjaka.

HIPOTEZA

Polazeći od pretpostavke da se fiziološke osobitosti dviju vrsta mogu očitovati u razlikama masnokiselinskog sastava tkiva i pokazateljima oksidativnog statusa, postavljena je hipoteza da se masnokiselinski sastav i pokazatelji oksidativnog statusa u ispitivanim tkivima i organima razlikuju između vrsta *P. siculus* i *P. melisellensis* koje potječu s istih lokaliteta na području Dalmacije.

CILJEVI

OPĆI CILJ: Utvrditi i usporediti masnokiselinski sastav različitih tkiva i organa te procijeniti oksidativni status u jetri i mišićnom tkivu primorske i krške gušterice oba spola s triju lokaliteta na području Dalmacije (Pag, Sinj i Knin).

SPECIFIČNI CILJEVI:

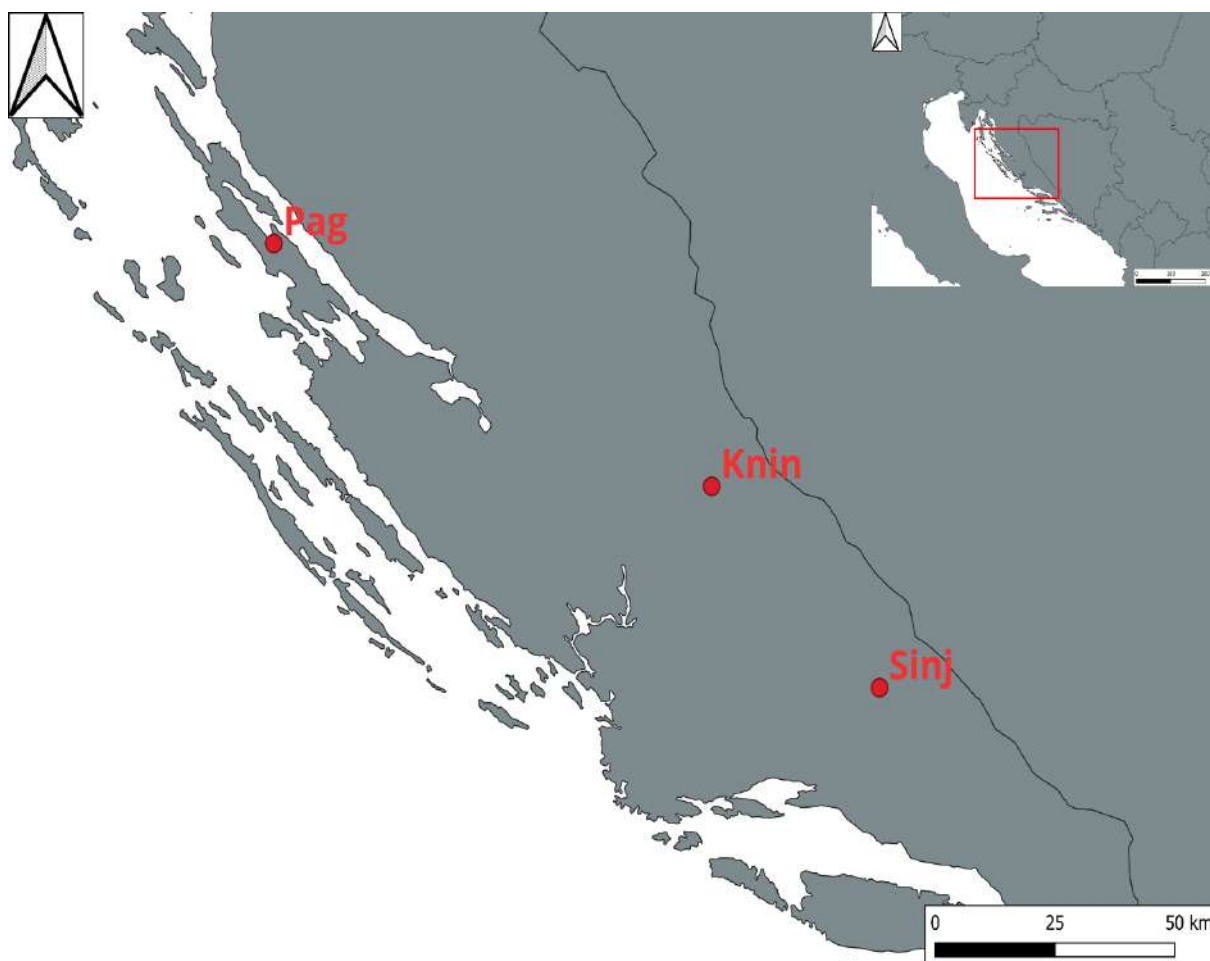
1. Odrediti masnokiselinski sastav u homogeniziranim uzorcima mišićnog tkiva, masnog tkiva, srca, jetre i mozga.
2. Usporediti masnokiselinski sastav analiziranih tkiva i organa s obzirom na vrstu, spol i lokalitet.
3. Odrediti pokazatelje oksidativnog statusa u jetri i mišićnom tkivu.
4. Usporediti vrijednosti pokazatelja oksidativnog statusa u jetri i mišićnom tkivu s obzirom na vrstu, spol i lokalitet.

4. MATERIJAL I METODE

Provođenje ovog istraživanja bilo je u skladu sa svim važećim međunarodnim, nacionalnim i institucionalnim smjernicama za skrb i korištenje životinja. Istraživanje je provedeno u skladu sa Zakonom o zaštiti životinja (NN 102/17, 32/19), Pravilnikom o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe (NN 55/13, 39/17 i 116/19), smjernicama za uporabu životinja u istraživanjima koje su izradili ASAB/ABS (ASAB Etički odbor/ABS Odbor za skrb o životinjama, 2023.) te Etičkim kodeksom Sveučilišta u Zagrebu, na temelju kojih je ishođeno odobrenje Etičkog povjerenstva za zaštitu životinja u znanstvenim istraživanjima. Dopuštenje za uzorkovanje guštera te potrebne analize odobrilo je Ministarstvo zaštite okoliša i energetike (klasa: UP/I-612-07/21-48/202; ur. broj: 517-10-1-1-21-4), dopuštenje Etičkog povjerenstva Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska (klasa: 643-02/21-01/1, ur. broj 251-58-10617-21-1) i dopuštenje Etičkog povjerenstva Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska (klasa: 640-01/23-02/05, ur. broj: 251-61-01/139-23-34).

4.1. Životinje

Jedinke koegzistirajućih populacija vrsta *Podarcis melisellensis* i *Podarcis siculus* prikupljene su hvatanjem omčom na tri lokaliteta duž istočne obale Jadrana: na otoku Pagu (44,5686° N, 14,8902° E), u okolici Sinja (43,7226° N, 16,6738° E) i u okolici Knina (44,0418° N, 16,2329° E). Lokaliteti su međusobno udaljeni najmanje 50 km, čime je omogućeno uzorkovanje različitih populacija (Slika 7.).



Slika 7. Karta s označenim lokalitetima s kojih su prikupljene jedinice istraživanih vrsta guštera.

Odabrani lokaliteti obuhvaćali su staništa usporedive strukturne složenosti, uključujući poljoprivredne površine, pašnjake i livade, ispresijecane brdovitim područjima s makijom i šumskim fragmentima. Klimatski, lokaliteti Sinj i Knin pripadaju submediteranskom području, dok Pag predstavlja prijelaz između submediteranske i mediteranske klime. Navedene klimatske razlike odražavaju se i u vegetacijskom sastavu, pri čemu Sinj i Knin dijele slične biljne zajednice, dok se na Pagu uz submediteranske elemente pojavljuju i mediteranske biljne vrste, poput *Quercus ilex*, *Spartium junceum* i *Phillyrea angustifolia*.

Na istočnoj obali Jadrana vrste *P. siculus* i *P. melisellensis* mogu se pojavljivati simpatrično, a na pojedinim mikrolokalitetima i sintopično, odnosno u neposrednoj prostornoj i vremenskoj blizini. U ovom istraživanju uzorkovane su jedinice iz takvih koegzistirajućih populacija, u kojima se obje vrste pojavljuju unutar istog šireg stanišnog mozaika.

Ukupno je prikupljeno 126 jedinki: 60 jedinki vrste *P. siculus* (30 mužjaka i 30 ženki) te 66 jedinki vrste *P. melisellensis* (34 mužjaka i 32 ženke), s tri različita lokaliteta (Tablica 3.). Jedinke uključene u ovo istraživanje prikupljene su u sklopu znanstvenog projekta Hrvatske zaklade za znanost (HRZZ UIP-2019-04-8469: Dopaminska regulacija kompetitivnog ponašanja u kohabitirajućim populacijama guštera *Podarcis siculus* i *Podarcis melisellensis*; voditeljica: Sofia Ana Blažević).

Tablica 3. Broj životinja po skupinama

	Sinj	Knin	Pag	Ukupno
<i>P. siculus</i> mužjaci	6	11	13	30
<i>P. siculus</i> ženke	10	8	12	30
<i>P. melisellensis</i> mužjaci	10	11	13	34
<i>P. melisellensis</i> ženke	10	10	12	32

Nakon terenskog uzorkovanja, životinje su transportirane u individualno označenim platnenim vrećicama u nastambi za životinje Zavoda za animalnu fiziologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (HR-POK-027). Tamo su jedinke smještene pojedinačno u prozirne plastične kutije, svaka s pripadajućom oznakom životinje (Slika 8.).



Slika 8. Prostorija nastambe Zavoda za animalnu fiziologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu gdje su bile smještene životinje.

Halogene žarulje korištene su kao izvor topline, a UVB lampe za održavanje normalnih fizioloških funkcija guštera. Životinje su držane tijekom tri mjeseca u uvjetima koji su simulirali prirodno okruženje: temperatura zraka 20–25 °C, relativna vlažnost 40–60 % te dnevno-noćni ciklus osvjetljenja 12 h/12 h. Navedeni parametri svakodnevno su kontrolirani. Hranjenje se provodilo tri puta tjedno živim cvrčcima (*Gryllus assimilis*) poznatog sastava (Tablica 4.), nabavljenima s certificirane farme insekata „Insektarij – tvornica buba“.

Tablica 4. Sastav cvrčka u suhoj tvari (izvor: <https://www.insektarij.com/gryllus-assimilis/>)

Kemijski sastav (u suhoj tvari)	
Bjelančevine ukupne	65,0 %

Kemijski sastav (u suhoj tvari)	
Metionin	0,7 %
Lizin	2,9 %
Masti ukupno	15,5 %
Palmitinska	25,0 %
Oleinska	25,0 %
Linolna	40,0 %
Pepeo ukupni (ukupni minerali)	5,2 %
Kalcij	1,2 %
Fosfor	1,3 %
Sirova vlaknina	8,0 %

Cvrčci su se prije hranjenja guštera posuli prahom kalcija s vitaminom D₃ (*Exo Terra Calcium + D₃ Powder Supplement for Reptiles and Amphibians*, Rolf C. Hagen Inc., Montreal, Kanada) i multivitaminima (*Exo Terra Multi Vitamin Powder Supplement for Reptiles and Amphibians*, Rolf C. Hagen Inc., Montreal, Kanada). Životinje su imale stalan slobodan pristup vodi.

Nakon razdoblja prilagodbe (30 dana), provedena su bihevioralna testiranja te najmanje dva tjedna po njihovom završetku životinje su bile žrtvovane.

4.2. Postupci s tkivima

U Zavodu za animalnu fiziologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, ukupno 126 guštera eutanazirano je dekapitacijom i prekidom leđne moždine, u skladu sa Zakonom o životinjama (znanstveni postupci) Britanskog ministarstva unutarnjih poslova iz 1986., Prilog 1. (engl. *British Home Office Animals (Scientific Procedures) Act 1986, Schedule 1*). Odabrana metoda omogućila je brzo usmrćivanje životinja uz minimalan stres te očuvanje kvalitete tkiva potrebnih za daljnje analize. Nakon eutanazije prikupljeni su uzorci tkiva i organa, uključujući srce, jetru, masno tkivo, mozak i

mišiće natkoljenice stražnje lijeve noge. Mišićno tkivo odgovara mišićima natkoljenice opisanim u radu PEREIRA i sur. (2015.): *m. ambiens*, *m. fibularis longus*, *m. flexor tibialis internus*, *m. gastrocnemius*, *m. ileofibularis* i *m. puboischiotibialis*. Uzorci su transportirani na suhom ledu u Zavod za fiziologiju i radiobiologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, gdje su pohranjeni na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do provođenja analiza.

4.3. Priprema uzoraka za analizu

Uzorci jetre i mišićnog tkiva homogenizirani su u 0,14 mol/L otopini kalijeva klorida (KCl) u omjeru 1:10 (tkivo:KCl), dok su ostala tkiva (srce, masno tkivo i mozak) homogenizirana u otopini kloroform:metanol (2:1) u volumenu od 2 mL. Homogenizacija je provedena homogenizatorom Ultra-Turrax T25 Basic (IKA, Staufen, Njemačka) u staklenim epruvetama od 3 mL. Uzorci jetre homogenizirani su ukupno 20 sekundi ($2 \times 10\text{ s}$, s hlađenjem od 5 s između), uzorci srca i mišića 30 sekundi ($2 \times 15\text{ s}$, s hlađenjem od 10 s između), dok su uzorci masnog tkiva i mozga homogenizirani 15 s, nakon čega je uslijedilo 10 s hlađenja. Sve homogenizacije provedene su pri brzini od 13 500 rpm. Homogenati jetre i mišića centrifugirani su 30 minuta na 10 000 g pri $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Sigma 3 K 15, Sigma, Njemačka). Homogenati su podijeljeni u dva alikvota. Jedan za određivanje oksidativne stabilnosti, a drugi za određivanje sastava masnih kiselina.

Dobiveni supernatanti jetre i mišića odvojeni su i pohranjeni na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do provođenja analiza. U njima su određivani pokazatelji oksidativnog statusa: GSH-Px, SOD, BAP te d-ROM.

4.4. Određivanje pokazatelja antioksidativnog statusa

Aktivnost GSH-Px određena je komercijalnim kompletima *Ransel* (Randox Laboratories, Crumlin, Irska) na automatskom biokemijskom analizatoru Architect c4000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, SAD). Metoda se temelji na katalizi oksidacije glutationa (GSH) pomoću vodikova peroksida i kumen-hidroperoksida. U prisustvu glutation-reduktaze i reduciranog nikotinamid adenin dinukleotid fosfata (NADPH), oksidirani oblik glutationa trenutno se reducira uz oksidaciju NADPH u NADP⁺. Aktivnost GSH-Px određena je u supernatantima homogenata jetre i mišića, a rezultati su izraženi kao U/g bjelančevina.

Aktivnost ukupne SOD određena je komercijalnim kompletima *Ransod* (Randox Laboratories, Crumlin, Irska) na automatskom biokemijskom analizatoru Architect c4000. Metoda se temelji na stvaranju superoksidnih radikala iz ksantina pomoću ksantin-oksidge. Nastali radikali reagiraju s 2-(4-jodofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-feniltetrazol-kloridom stvarajući formazan crveno obojenje, pri čemu se aktivnost SOD-a mjeri kao stupanj inhibicije ove reakcije. Aktivnost SOD-a određena je u supernatantima homogenata jetre i mišića, a rezultati su izraženi kao U/g bjelančevina.

Koncentracija bjelančevina određena je pirogalol red-molibdatnom kolorimetrijskom metodom primjenom komercijalnog reagensa *Urine/CSF Protein* (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, SAD) na automatskom biokemijskom analizatoru Architect c4000.

Koncentracija BAP-a određena je komercijalnim kompletima *BAP Test* (Diacron International, Grosseto, Italija) na automatskom biokemijskom analizatoru Architect c4000. Test mjeri ukupni kemijski aktivni antioksidativni kapacitet, uključujući egzogene antioksidanse (askorbinska kiselina, tokoferoli) i endogene antioksidanse (mokraćna kiselina, bilirubin, albumini). Koncentracija BAP-a određena je u supernatantima homogenata jetre i mišića, a rezultati su izraženi u $\mu\text{mol/L}$.

Koncentracija d-ROM određena je komercijalnim kompletima *d-ROMs Test* (Diacron International, Grosseto, Italija) na automatskom biokemijskom analizatoru Architect c4000. Ovim testom mjere se alkoksilni i hidroperoksilni slobodni radikali nastali iz hidroperoksida prisutnih u uzorku. Koncentracija d-ROM-a određena je u supernatantima homogenata jetre i mišića, a rezultati su izraženi u U.CARR (jedan U.CARR odgovara 0,08 mg/dL vodikova peroksida).

Indeks oksidativnog stresa (engl. *oxidative stress index*, OSI) izračunat je prema formuli: $\text{OSI} = \text{d-ROM/BAP}$

4.5. Određivanje masnih kiselina

4.5.1. Ekstrakcija ukupnih lipida tkiva

Ekstrakcija ukupnih lipida provedena je modificiranom metodom po FOLCH i sur. (1957.). Lipidi su ekstrahirani mješavinom kloroforma i metanola različite polarnosti. Homogenati tkiva ekstrahirani su u tri različite smjese otapala: kloroform:metanol u omjerima 2:1, 1:1 i 1:2. Svaka ekstrakcija trajala je 30 minuta uz konstantno miješanje pri 44 g. Nakon centrifugiranja 10 min, 1600 g na 20 °C (Sigma 3 K 15, Sigma, Njemačka), odvojen je donji sloj s kloroformom, a ekstrakti ukupnih lipida iz sve tri smjese sakupljeni su zajedno. Dobiveni

ekstrakti upareni su do suha u rotacijskom uparivaču (*CentriVap benchtop vacuum concentrator*, Labconco, Kansas City, SAD), opremljenom jedinicom za hlađenje (*CentriVap Cold Trap*, Labconco, Kansas City, SAD).

4.5.2. Priprema metilnih estera masnih kiselina

Masne kiseline su iz ekstrahiranih ukupnih lipida prevedene u metilne estere transesterifikacijom pomoću metanolne klorovodične kiseline (8,6 mL koncentrirane HCl u 100 mL metanola), prema međunarodnom standardnom postupku (International Standard ISO 5509., 2000.).

Metilni esteri masnih kiselina pripremljeni su za analizu na plinskom kromatografu.

4.5.3. Plinska kromatografija

Analiza metilnih estera masnih kiselina provedena je na plinskom kromatografu (Agilent 8860; Agilent Technologies. Inc., Kalifornija, SAD) opremljenim plamenoionizacijskim detektorom. Temperature injektora i detektora bile su 200 °C i 240 °C. Plinska kromatografija je provedena na kapilarnoj koloni HP-88 (Agilent Technologies, Kalifornija, SAD; duljina 60 m, unutarnji promjer kolone 0,25 mm, debljina aktivnog sloja 0,25 µm). Početna temperatura kolone iznosila je 120 °C tijekom 3 min, zatim je povećana na 260 °C zagrijavanjem 6 °C/min te je na toj temperaturi zadržana 5 min. Kao plin nosač korišten je vodik uz protok 1 mL/min.

Sakupljanje i obrada rezultata provode se pomoću računalnog programa OpenLAB CDS ChemStation Workstation VL (Santa Clara, SAD). Masne kiseline su identificirane usporedbom retencijskih vremena s mješavinom metilnih standarda (Manhaden oil, 99% purity, 10mg/mL, Sigma Aldrich Chemie, GmbH and FAME mix, purity 99%, 10mg/mL, Restek GmbH, Germany), dok je kvantifikacija provedena upotrebom internog standarda, metil nonadekanskog kiselina (C19:0; CRM ISO 17034, ISO 17024, purity 99.9 +/- 0.1 %; AnAs Analytical Assistance).

4.5.4. Indeksi aktivnosti stearoil-CoA desaturaze

Indeksi aktivnosti stearoil-CoA desaturaze (SCD) u tkivima procijenjeni su pomoću sljedećih jednadžbi (ALVES i sur., 2015.):

$SCDi-14 = [14:1/(14:1+14:0)] \times 100$; $SCDi-16 = [16:1/(16:1+16:0)] \times 100$;

$SCDi-18 = [18:1/(18:1+18:0)] \times 100$

4.6. Statistička obrada podataka

4.6.1. Programska podrška, struktura podataka i dizajn istraživanja

Sve statističke analize provedene su u programskom okruženju R (verzija 4.6.0; R Core Team, 2026). Linearni mješoviti modeli prilagođeni su korištenjem paketa *lme4* (BATES i sur., 2015), dok je testiranje modela provedeno paketom *lmerTest* (KUZNETSOVA i sur., 2017). Kompozicijske i multivarijatne analize provedene su korištenjem paketa *vegan* (OKSANEN i sur., 2022) i *MASS* (VENABLES i RIPLEY, 2002), dok su za obradu i organizaciju podataka korišteni alati unutar paketa *tidyverse*.

4.6.2. Neovisnost mjerenja između tkiva iste jedinke

Budući da je od svake jedinke analizirano do pet različitih tkiva, pojedina mjerenja dobivena iz iste jedinke nisu statistički neovisna. Ovaj problem riješen je na dva komplementarna načina. Kao početni pregled podataka između tkiva korišteni su linearni mješoviti modeli s nasumičnim presjekom (engl. *random intercept*) za svaku jedinku, čime je omogućeno razdvajanje varijabilnosti između jedinki te uzeto u obzir ponovljeno uzorkovanje više tkiva iste jedinke. Međutim, kao primarna osnova za interpretaciju rezultata korišteni su zasebni linearni modeli za svako tkivo. Unutar pojedinog tkiva svaka je jedinka pridonosila samo jednim mjerenjem, zbog čega su opažanja bila međusobno neovisna te nije bilo potrebno uključivati nasumični učinak jedinke. Stoga su tijekom interpretacije rezultata korišteni tkivno-specifični modeli, dok su mješoviti modeli koji su uključivali sva tkiva služili isključivo za početnu identifikaciju potencijalnih učinaka i testiranje interakcija.

4.6.3. Identifikacija odstupajućih vrijednosti

Odstupajuće vrijednosti identificirane su na temelju dijagnostike modela. Za svaki model pregledani su normalni kvantil–kvantil (Q–Q) dijagrami, interno studentizirani reziduali (engl. *internally studentised residuals*) i Cookova udaljenost (engl. *Cook's distance*), pri čemu su potencijalno utjecajna opažanja označena prema identifikacijskom broju jedinki. Opažanje

je uklonjeno samo ako je prema navedenim dijagnostičkim kriterijima predstavljalo jasno utjecajnu odstupajuću vrijednost, primjerice u slučaju izrazito visokog studentiziranog reziduala u kombinaciji s velikom Cookovom udaljenošću. Sva isključenja provedena su na razini kombinacije jedinka–tkivo–mjerena varijabla te su u cijelosti prikazana u Tablici 5.

Jedna jedinka (SK136) pokazivala je očito neispravan profil masnog tkiva (udio SFA blizak nuli te vrijednost SCDi16 bliska 100) te je isključena iz svih analiza masnog tkiva. Kako bi se provjerilo ovise li zaključci o donesenim odlukama vezanim uz uklanjanje odstupajućih vrijednosti, svi učinci dodatno su procijenjeni i na kompletnom nefiltriranom skupu podataka primjenom analize osjetljivosti temeljene na Tukeyevim granicama (engl. *Tukey fence*, $1,5 \times$ interkvartilni raspon).

4.6.4. Transformacije podataka

Linearni modeli pretpostavljaju približno normalnu raspodjelu reziduala i homogenost varijance. Normalnost reziduala procijenjena je Shapiro–Wilkovim testom, dok je homogenost varijance procijenjena pregledom dijagrama reziduala u odnosu na predviđene vrijednosti. Za svaki tkivno-specifični model analizirana varijabla obrađena je u izvornom obliku, osim u slučajevima kada je logaritamska ili korijenska transformacija rezultirala normalnijom raspodjelom reziduala. U takvim slučajevima korištena je transformacija koja je bolje zadovoljavala pretpostavke modela, a primijenjena transformacija navedena je uz odgovarajuće rezultate.

Jedan pokazatelj, SCDi18 u mišićnom tkivu, pokazivao je izraženu negativnu asimetriju koju nije bilo moguće korigirati logaritamskom ni korijenskom transformacijom. Stoga je analiziran nakon kubne transformacije, čime je postignuta znatno bolja simetrija reziduala (Shapiro–Wilkov W povećan je s 0,90 na 0,97). Nijedna druga varijabla nije zahtijevala potencijsku transformaciju. Sve transformacije odabrane su isključivo radi zadovoljavanja pretpostavki modela uz zadržavanje mogućnosti biološke interpretacije rezultata.

4.6.5. Linearni modeli, veličine učinka i statističko zaključivanje

Unutar svakog tkiva svi grupirani pokazatelji masnokiselinskog sastava i pokazatelji oksidativnog statusa modelirani su kao funkcija spola, vrste i lokaliteta. Referentne kategorije bile su vrsta *P. melisellensis*, ženski spol i lokalitet Knin, tako da procijenjeni učinak vrste

predstavlja promjenu povezanu s vrstom *P. siculus* u odnosu na *P. melisellensis*. Modeli su prilagođeni metodom običnih najmanjih kvadrata, a statističko zaključivanje temeljilo se na HC3 heteroskedastički robusnim standardnim pogreškama (MACKINNON i WHITE, 1985; LONG i ERVIN, 2000). Ovaj pristup omogućuje valjanu procjenu P-vrijednosti i 95 %-tnih intervala pouzdanosti i u slučajevima kada pretpostavka homogene varijance nije u potpunosti zadovoljena, dok same procjene učinaka ostaju nepromijenjene. Uz testove statističke značajnosti za svaki je učinak izračunata i standardizirana veličina učinka. Kao mjere veličine učinka korišteni su Cohenov d i parcijalni η^2 , pri čemu su interpretirani prema uobičajenim kriterijima za male, srednje i velike učinke (Cohenov $d = 0,2; 0,5; 0,8$ te parcijalni $\eta^2 = 0,01; 0,06; 0,14$) (Cohen, 1988). Veličine učinka izračunate su iz t-statistika dobivenih metodom najmanjih kvadrata te su prikazane neovisno o statističkoj značajnosti, kako bi se veličina učinka mogla procijeniti odvojeno od pripadajuće P-vrijednosti.

4.6.6. Struktura interakcija

Moguće međudjelovanje učinaka vrste, spola i lokaliteta, kao i njihova povezanost s pojedinim tkivima, testirano je eksplicitno. U analizi koja je uključivala sva tkiva, za svaki grupirani pokazatelj ispitane su sve dvosmjerne interakcije između tkiva, vrste, spola i lokaliteta te trosmjerna interakcija tkivo $\times$ vrsta $\times$ spol. Interakcije su procijenjene usporedbom ugniježđenih modela primjenom F-testa, pri čemu je stopa lažnih otkrića kontrolirana Benjamini–Hochbergovom procedurom unutar svake skupine interakcija. Ova analiza nadopunjuje tkivno-specifične aditivne modele. Naime, primjena aditivnog modela unutar pojedinog tkiva opravdana je samo ako se učinak vrste ne razlikuje ovisno o spolu ili lokalitetu, što je potvrđeno provedenim analizama interakcija.

4.6.7. Korekcija na višestruka testiranja

Unutar svake skupine modela (grupirani pokazatelji masnokiselinskog sastava, pokazatelji oksidativnog statusa i omjeri specifični za moždano tkivo) stopa lažnih otkrića kontrolirana je Benjamini–Hochbergovom procedurom (BENJAMINI i HOCHBERG, 1995). Korekcija je provedena za učinke od interesa, odnosno vrstu, spol i lokalitet, dok pomoćne usporedbe, poput razlika između tkiva u preliminarnim analizama, nisu uključene u postupak korekcije. Statistički značajnima smatrani su rezultati s Benjamini–Hochberg korigiranom vrijednosti $P < 0,05$.

4.6.8. Kompozicijska analiza podataka

Pojedinačni profili masnih kiselina predstavljaju kompozicijske podatke, odnosno podatke izražene kao udjeli ograničeni na konstantan zbroj, zbog čega su analizirani primjenom metoda kompozicijske analize podataka. Unutar svakog tkiva analizirane su samo masne kiseline koje su bile detektirane u uzorcima. Nulte vrijednosti (vrijednosti ispod granice detekcije) zamijenjene su multiplikativnom metodom imputacije, dok je kao analiza osjetljivosti dodatno primijenjena metoda zamjene polovinom najmanje izmjerene vrijednosti. Nakon toga podaci su transformirani primjenom centrirane logaritamske transformacije (engl. *centred log-ratio transformation*, CLR). Nakon CLR transformacije, provedene su četiri komplementarne analize. Prvo, razlike u ukupnom profilu masnih kiselina između vrsta, spolova i lokaliteta ispitane su permutacijskom multivarijatnom analizom varijance (engl. *permutational multivariate analysis of variance*, PERMANOVA) temeljenom na Aitchisonovim udaljenostima (CLR-Euklidske udaljenosti). U modele su čimbenici uključivani sekvencijalno, a statistička značajnost procijenjena je na temelju 999 permutacija korištenjem funkcije *adonis2*.

Drugo, za sve slučajeve u kojima je PERMANOVA pokazala statistički značajne razlike provedena je analiza multivarijatne disperzije (engl. *permutational analysis of multivariate dispersions*, PERMDISP) korištenjem funkcije *betadisper*. Ova analiza omogućila je provjeru proizlaze li utvrđene razlike iz stvarnih promjena u prosječnom sastavu masnih kiselina između skupina ili su posljedica razlika u varijabilnosti unutar grupe.

Treće, pojedinačne masne kiseline odgovorne za utvrđene razlike između vrsta identificirane su primjenom linearnih modela na CLR-transformirane podatke za svaku masnu kiselinu zasebno. U svim modelima korišteni su isti prediktori kao i u prethodnim analizama (vrsta, spol i lokalitet) te HC3 heteroskedastički robusne standardne pogreške. Zbog velikog broja istodobnih testiranja provedena je Benjamini–Hochbergova korekcija za učinke od interesa.

Četvrto, mogućnost razlikovanja vrsta na temelju cjelokupnog masnokiselinskog profila procijenjena je linearnom diskriminantnom analizom (engl. *linear discriminant analysis*, LDA). Analiza je provedena na rezultatima analize glavnih komponenti dobivenima iz CLR-transformiranih podataka. Korištenje rezultata glavnih komponenti omogućilo je izbjegavanje problema singularnosti koji proizlazi iz ograničenja konstantnog zbroja svojstvenog CLR

podacima. Točnost diskriminacije procijenjena je metodom unakrsne validacije „izostavi jednog” (engl. *leave-one-out cross-validation*).

Tablica 5. Opažanja isključena kao utjecajne odstupajuće vrijednosti, prema tkivu i mjerenoj varijabli. Isključenja su provedena na razini kombinacije jedinka $\times$ tkivo $\times$ mjerena varijabla na temelju dijagnostike modela, uključujući interno studentizirane rezidualne (engl. *studentised residuals*) i Cookovu udaljenost (engl. *Cook's distance*). Jedinka SK136 dodatno je isključena iz svih analiza masnog tkiva zbog očito neispravnog masnokiselinskog profila.

Tkivo	Pokazatelj	Isključene jedinke
Masno tkivo	UFA/SFA	SK136 (+ cijeli masno kiselinski sastav)
Mozak	SFA	SP117, SP111
Mozak	n-6	SP111, SK131, SK114
Mozak	n-3	SP134
Mozak	n-6/n-3	SP111, SK131
Mozak	UFA/SFA	SP117, SS113, SP111, MK115, SK131, SS133
Mozak	SCDi14	SK112, SK137
Mozak	SCDi18	SP116, MS135, MS131
Mozak	AA/EPA	MP121, SP134, MK138, MP131, MS114, MS135, MS117, MP137
Mozak	AA/DHA	MK138, MP121, SP134, MP137, MS114, MS135, MK135, MS117
Mozak	VLn-3PUFA	SK131, SP111, SP134
Masno tkivo	SFA/MUFA/PUFA/n-6/n-3/SCDi	SK136, SS131, SS116, SK130, MK133, SP140, MP123, SP134
Jetra	PUFA	MP139, SP137
Jetra	n-6	MP139, SP137, MK135, MK133
Jetra	n-6/n-3	MS112
Jetra	PUFA/SFA	SP115, MP139
Mišićno tkivo	SCDi14	MS139, SP131, SS139

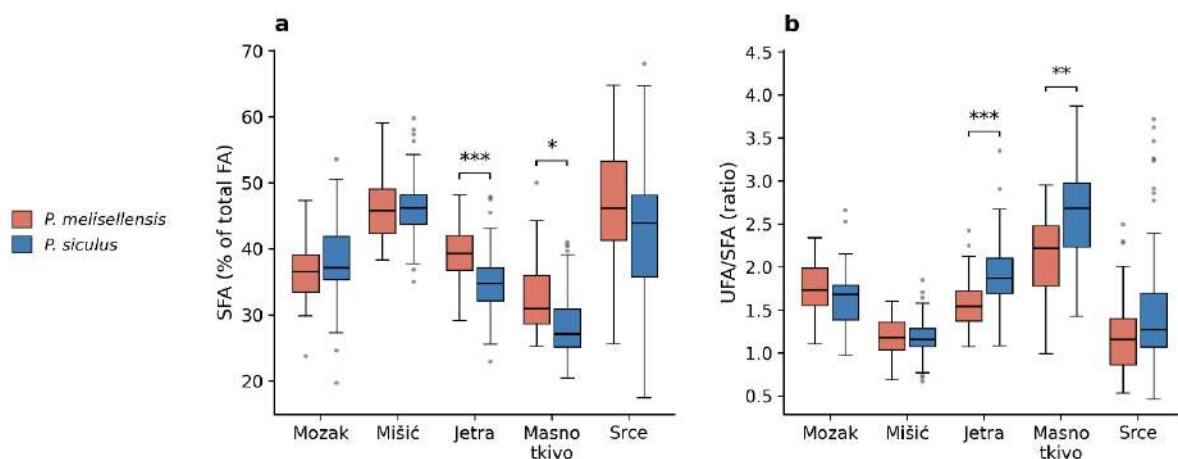
Tkivo	Pokazatelj	Isključene jedinke
Srce	SFA/MUFA/UFA-SFA/SCDi18	SS140, SP139, MK140
Jetra	BAP	SK120, MK139
Jetra	SOD	SP131, MK135, MP134
Mišićno tkivo	BAP	SK113, MP113, SP124
Mišićno tkivo	GPx	SS137, SK134
Mišićno tkivo	d-ROM	SS137, MK132, MP119
Mišićno tkivo	SOD	SS137

5. REZULTATI

5.1. Deskriptivni pregled

Srednje vrijednosti $\pm$ standardne devijacije za sve analizirane pokazatelje, prikazane su prema vrsti unutar svakog tkiva (Tablice 6., 7., 8., 9., 10. i 11.), ili prema raspodjeli stupnja zasićenosti između tkiva (Slika 9.). Budući da svaki pokazatelj predstavlja udio ili omjer ukupnih masnih kiselina, dobivene vrijednosti opisuju karakterističan masnokiselinski sastav koji se znatno više razlikovao između tkiva nego između vrsta. Nakon uklanjanja odstupajućih vrijednosti broj jedinki uključenih u analize pojedinog tkiva kretao se od 76 (mozak) do 121 (mišićno tkivo).

Analizirana tkiva raspoređena su duž izraženog gradijenta zasićenosti (Slika 9.). Mišićno tkivo i srce bili su najzasićenija i najmanje nezasićena tkiva (udio SFA približno 50 % ukupnog profila, $\text{UFA/SFA} \approx 1,2$), dok je masno tkivo bilo najmanje zasićeno i najviše nezasićeno (UFA/SFA do 2,6). Jetra i mozak pokazivali su vrijednosti između onih zabilježenih u mišićnom tkivu i srcu s jedne strane te masnom tkivu s druge strane. Jednostruko nezasićene masne kiseline bile su najzastupljenije u masnom tkivu, dok su višestruko PUFA bile najzastupljenije u jetri i mozgu. Najniži udjeli MUFA i PUFA zabilježeni su u srcu.



Slika 9. Udio zasićenih masnih kiselina (SFA) (a) i omjer nezasićenih prema zasićenim masnim kiselinama (UFA/SFA) (b) u pet analiziranih tkiva vrsta *P. melisellensis* i *P. siculus*. Kutije prikazuju medijan i interkvartilni raspon brkovi najmanju i najveću vrijednost unutar $1,5 \times$ interkvartilnog raspona, a točke odstupajuće vrijednosti. Statistički značajne razlike između vrsta unutar pojedinog tkiva nakon Benjamini–Hochbergove korekcije na višestruka testiranja (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$).

Mozak se izdvajao od ostalih analiziranih tkiva po udjelu n-3 masnih kiselina. Udio n-3 PUFA iznosio je približno 7 %, što je bilo višestruko više nego u ostalim tkivima ($\leq 1,9$ %), dok je omjer n-6/n-3 bio znatno niži (3–4 u odnosu na 18–37 u ostalim tkivima). Četiri omjera dugolančanih PUFA (AA/DHA; AA/EPA; EPA/DHA i VLn-3PUFA), analizirana isključivo u mozgu, pokazivala su vrlo male razlike između vrsta (Tablica 6.).

Tablica 6. Deskriptivni pokazatelji grupiranih indeksa masnokiselinskog sastava mozga (aritmetička sredina $\pm$ standardna devijacija) prema vrsti.

Pokazatelj	<i>P. melisellensis</i>	<i>P. siculus</i>
AA/DHA	0.63 $\pm$ 0.23	0.66 $\pm$ 0.12
AA/EPA	1.24 $\pm$ 0.59	1.09 $\pm$ 0.32
EPA/DHA	0.60 $\pm$ 0.19	0.64 $\pm$ 0.19
MUFA	33.19 $\pm$ 5.08	29.65 $\pm$ 6.86
PUFA	30.29 $\pm$ 7.40	32.60 $\pm$ 12.50
PUFA/SFA	0.86 $\pm$ 0.32	1.00 $\pm$ 0.73
SCDi14	31.19 $\pm$ 5.67	30.00 $\pm$ 5.10
SCDi16	24.69 $\pm$ 9.64	27.12 $\pm$ 10.58
SCDi18	79.04 $\pm$ 4.82	75.40 $\pm$ 5.58
SFA	36.52 $\pm$ 4.25	37.74 $\pm$ 6.95
UFA/SFA	1.74 $\pm$ 0.28	1.66 $\pm$ 0.37
VLn-3PUFA	5.08 $\pm$ 1.35	5.33 $\pm$ 1.32
n-3	7.19 $\pm$ 1.47	7.56 $\pm$ 2.17
n-6	23.10 $\pm$ 6.88	27.07 $\pm$ 12.19
n-6/n-3	3.31 $\pm$ 1.13	4.07 $\pm$ 2.68

Tablica 7. Deskriptivni pokazatelji grupiranih indeksa masnokiselinskog sastava mišićnog tkiva (aritmetička sredina $\pm$ standardna devijacija) prema vrsti.

Pokazatelj	<i>P. melisellensis</i>	<i>P. siculus</i>
MUFA	26.20 $\pm$ 4.47	26.96 $\pm$ 4.74
PUFA	27.36 $\pm$ 6.41	26.64 $\pm$ 6.59
PUFA/SFA	0.61 $\pm$ 0.19	0.59 $\pm$ 0.21
SCDi14	30.30 $\pm$ 3.42	31.78 $\pm$ 4.45
SCDi16	21.62 $\pm$ 8.26	20.93 $\pm$ 6.91
SCDi18	56.92 $\pm$ 8.59	58.56 $\pm$ 8.77
SFA	46.44 $\pm$ 5.25	46.40 $\pm$ 4.87
UFA/SFA	1.18 $\pm$ 0.23	1.18 $\pm$ 0.23
n-3	1.37 $\pm$ 0.51	1.27 $\pm$ 0.46
n-6	26.00 $\pm$ 6.46	25.36 $\pm$ 6.75
n-6/n-3	22.95 $\pm$ 13.21	23.49 $\pm$ 16.07

Tablica 8. Deskriptivni pokazatelji grupiranih indeksa masnokiselinskog sastava jetre (aritmetička sredina $\pm$ standardna devijacija) prema vrsti.

Pokazatelj	<i>P. melisellensis</i>	<i>P. siculus</i>
MUFA	29.82 $\pm$ 4.50	29.81 $\pm$ 4.36
PUFA	30.63 $\pm$ 5.76	35.61 $\pm$ 5.13
PUFA/SFA	0.79 $\pm$ 0.21	1.03 $\pm$ 0.25
SCDi14	59.35 $\pm$ 21.69	50.97 $\pm$ 19.63
SCDi16	17.29 $\pm$ 4.22	15.17 $\pm$ 4.86
SCDi18	63.78 $\pm$ 6.02	68.65 $\pm$ 6.94
SFA	39.26 $\pm$ 3.96	34.91 $\pm$ 5.12
UFA/SFA	1.57 $\pm$ 0.27	1.92 $\pm$ 0.43
n-3	1.28 $\pm$ 0.70	1.50 $\pm$ 0.79
n-6	28.90 $\pm$ 5.13	34.10 $\pm$ 4.86
n-6/n-3	28.82 $\pm$ 18.64	27.54 $\pm$ 15.12

Tablica 9. Deskriptivni pokazatelji grupiranih indeksa masnokiselinskog sastava masnog tkiva (aritmetička sredina $\pm$ standardna devijacija) prema vrsti.

Pokazatelj	<i>P. melisellensis</i>	<i>P. siculus</i>
MUFA	35.13 $\pm$ 5.07	42.07 $\pm$ 8.46
PUFA	32.04 $\pm$ 5.89	29.88 $\pm$ 6.68
PUFA/SFA	1.02 $\pm$ 0.28	1.09 $\pm$ 0.26
SCDi14	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00
SCDi16	7.91 $\pm$ 5.98	6.56 $\pm$ 2.97
SCDi18	80.29 $\pm$ 5.00	86.53 $\pm$ 4.38
SFA	32.83 $\pm$ 5.63	28.55 $\pm$ 5.24
UFA/SFA	2.12 $\pm$ 0.48	2.61 $\pm$ 0.60
n-3	1.41 $\pm$ 0.53	1.90 $\pm$ 0.91
n-6	30.52 $\pm$ 5.84	27.81 $\pm$ 6.64
n-6/n-3	23.98 $\pm$ 10.51	18.05 $\pm$ 11.28

Tablica 10. Deskriptivni pokazatelji grupiranih indeksa masnokiselinskog sastava srca (aritmetička sredina $\pm$ standardna devijacija) prema vrsti.

Pokazatelj	<i>P. melisellensis</i>	<i>P. siculus</i>
MUFA	31.43 $\pm$ 7.79	31.83 $\pm$ 9.71
PUFA	22.21 $\pm$ 6.43	26.29 $\pm$ 8.36
PUFA/SFA	0.51 $\pm$ 0.23	0.73 $\pm$ 0.47
SCDi16	20.89 $\pm$ 13.18	23.71 $\pm$ 18.67
SCDi18	67.59 $\pm$ 12.18	69.34 $\pm$ 13.77
SFA	46.36 $\pm$ 8.39	41.79 $\pm$ 11.30
UFA/SFA	1.21 $\pm$ 0.41	1.57 $\pm$ 0.83
n-3	0.87 $\pm$ 0.39	0.84 $\pm$ 0.33
n-6	21.33 $\pm$ 6.34	25.45 $\pm$ 8.39
n-6/n-3	30.93 $\pm$ 22.79	37.39 $\pm$ 27.45

U okviru ovako izražene tkivne specifičnosti, međuvrsne razlike bile su najizraženije u masnom tkivu i jetri. U masnom tkivu vrste *P. siculus* utvrđen je značajno različit sastav MUFA, s višim vrijednostima MUFA, SCDi18 i UFA/SFA te nižim udjelom SFA. U jetri *P. siculus* utvrđeno je više značajnih razlika u sastavu PUFA, s višim udjelima PUFA i n-6 PUFA te višim vrijednostima omjera PUFA/SFA, uz niži udio SFA. U srcu je zabilježen isti smjer promjena, ali manjeg intenziteta, dok je masnokiselinski sastav mišićnog tkiva bio gotovo jednak između vrsta. Jedina deskriptivna iznimka bio je nešto niži SCDi18 u mozgu vrste *P. siculus*.

Pokazatelji oksidativnog statusa bili su raspoređeni specifično za pojedina tkiva (Tablica 11.). Aktivnosti GSH-Px i SOD bile su znatno više u jetri nego u mišićnom tkivu, dok je BAP bio viši u mišićnom tkivu. Najizraženija deskriptivna međuvrsna razlika odnosila se na

aktivnost GSH-Px u jetri, koja je kod vrste *P. siculus* bila znatno niža nego kod vrste *P. melisellensis* (približno 150 U/g proteina u odnosu na 216 U/g proteina).

Tablica 11. Deskriptivni pokazatelji oksidativnog statusa (aritmetička sredina $\pm$ standardna devijacija) u jetri i mišićnom tkivu prema vrsti.

Parametar	Tkivo	<i>P. melisellensis</i>	<i>P. siculus</i>
BAP ($\mu\text{mol/L}$)	Mišićno tkivo	1337.83 $\pm$ 638.30	1661.45 $\pm$ 747.35
GPx (U/g protein)	Mišićno tkivo	33.71 $\pm$ 12.11	28.58 $\pm$ 8.75
ROM (U CARR)	Mišićno tkivo	17.76 $\pm$ 13.83	17.45 $\pm$ 24.60
SOD (U/g protein)	Mišićno tkivo	2359.91 $\pm$ 481.13	2412.87 $\pm$ 444.75
BAP ($\mu\text{mol/L}$)	Jetra	932.42 $\pm$ 250.19	1041.32 $\pm$ 246.31
GPx (U/g protein)	Jetra	216.41 $\pm$ 64.22	150.46 $\pm$ 56.69
ROM (U CARR)	Jetra	30.42 $\pm$ 20.15	34.03 $\pm$ 34.26
SOD (U/g protein)	Jetra	19591.18 $\pm$ 3666.36	17877.79 $\pm$ 3288.21

5.2. Interakcija tkiva i vrste

Prije interpretacije pojedinačnih učinaka ispitan je obrazac interakcija između analiziranih čimbenika (Tablica 12.). Od šest testiranih interakcija za svaki pokazatelj, statistički značajnom pokazala se samo interakcija tkivo $\times$ vrsta. Ova je interakcija bila značajna za osam od jedanaest analiziranih pokazatelja (SFA, MUFA, PUFA, n-6, UFA/SFA, PUFA/SFA, SCDi14 i SCDi18; Benjamini–Hochberg korigirani $P < 0,05$).

Tablica 12. Pregled testiranih interakcija za grupirane pokazatelje masnokiselinskog sastava: broj pokazatelja (od ukupno 11) kod kojih je utvrđena statistički značajna interakcija nakon Benjamini–Hochbergove korekcije unutar pojedinog tipa interakcije.

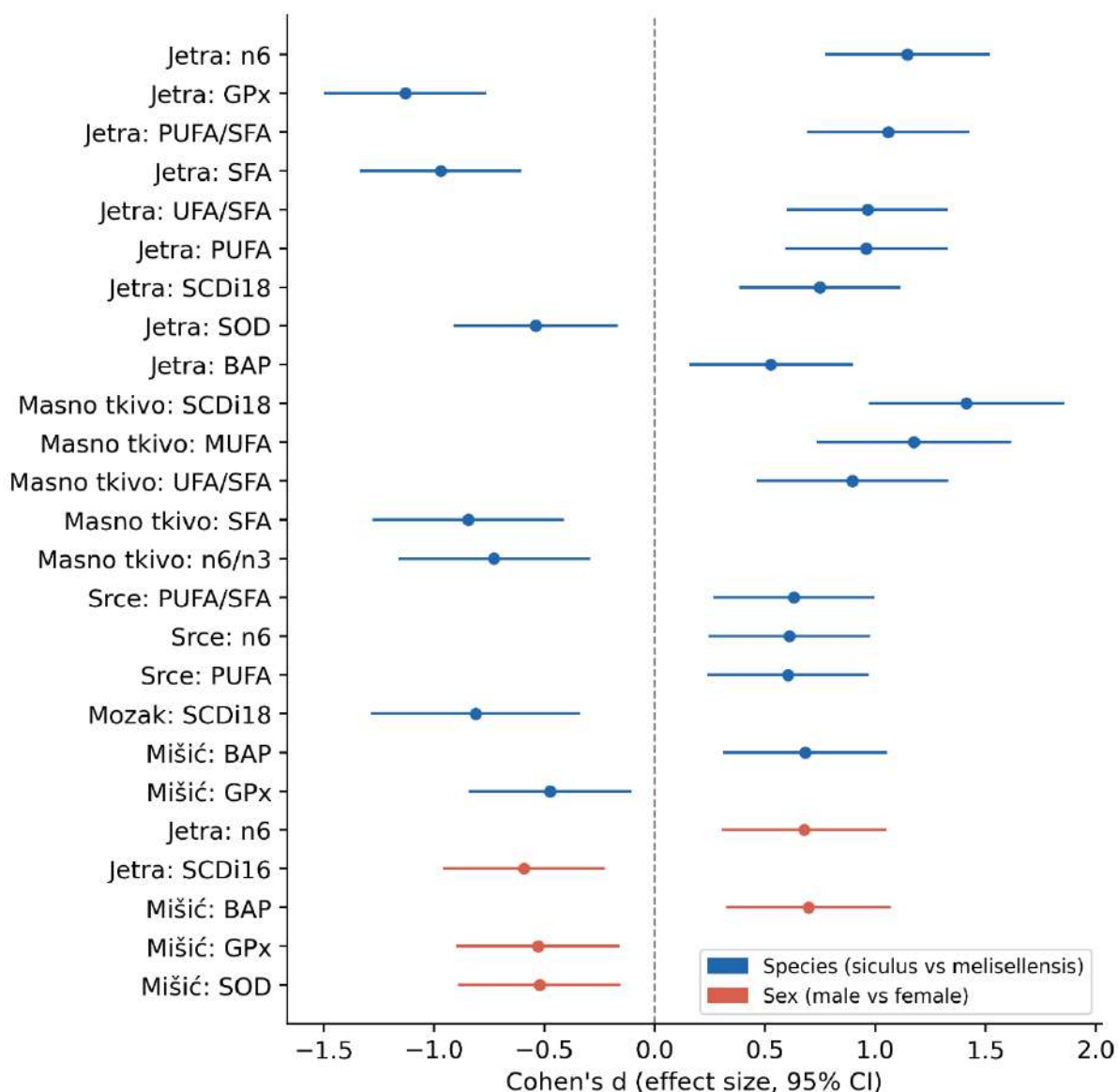
Tip interakcije	Broj analiziranih pokazatelja (n)	Značajni pokazatelji (n) (BH < 0.05)	Statistički značajni pokazatelji
Tkivo × vrsta	11	8	SFA, MUFA, PUFA, n-6, UFA/SFA, PUFA/SFA, SCDi14, SCDi18
Tkivo × spol	11	0	—
Vrsta × spol	11	0	—
Vrsta × lokalitet	11	0	—
Spol × lokalitet	11	0	—
Tkivo × vrsta × spol	11	0	—

Dvosmjerne interakcije tkivo × spol, vrsta × spol, vrsta × lokalitet i spol × lokalitet nisu bile statistički značajne niti za jedan pokazatelj. Također, nije utvrđena statistički značajna trosmjerna interakcija tkivo × vrsta × spol.

Dobiveni rezultati pokazuju da učinak vrste ovisi o analiziranom tkivu, odnosno da razlike između vrsta nisu jednoliko raspoređene među tkivima. Nasuprot tome, unutar pojedinog tkiva učinak vrste nije se razlikovao između spolova niti između lokaliteta te nisu utvrđene interakcije višeg reda. Veličine učinka vrste za sva tkiva i analizirane pokazatelje prikazane su na toplinskoj karti veličina učinka (Slika 10.), dok su svi statistički značajni učinci s pripadajućim intervalima pouzdanosti prikazani na dijagramu (Slika 11.).



Slika 10. Toplinska karta veličina učinka koja prikazuje međuvrsne razlike (Cohenov d za *P. siculus* u odnosu na *P. melisellensis*) za svaki grupirani pokazatelj masnokiselinskog sastava u pojedinom tkivu. Tople boje označavaju više vrijednosti kod vrste *P. siculus*, dok hladne boje označavaju više vrijednosti kod vrste *P. melisellensis*. Zvezdice označavaju statistički značajne razlike nakon Benjamini–Hochbergove korekcije (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$).

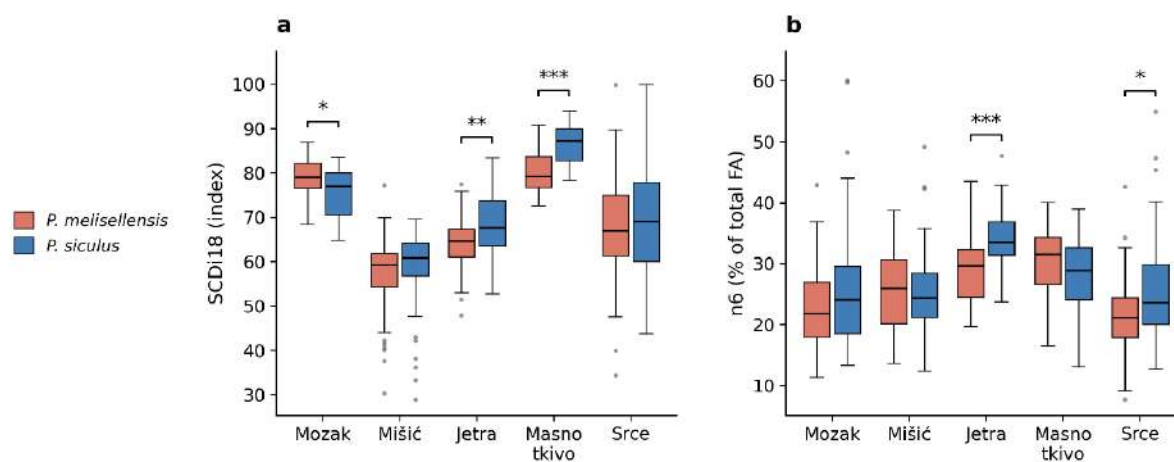


Slika 11. Šumski dijagram (engl. *forest plot*) svih statistički značajnih tkivno-specifičnih učinaka nakon Benjamini–Hochbergove korekcije ($P < 0,05$), prikazanih kao Cohenov d s približnim 95 %-tnim intervalima pouzdanosti. Plavom bojom prikazani su učinci vrste, a crvenom bojom učinci spola.

5.3. Masnokiselinski pokazatelji u jetri

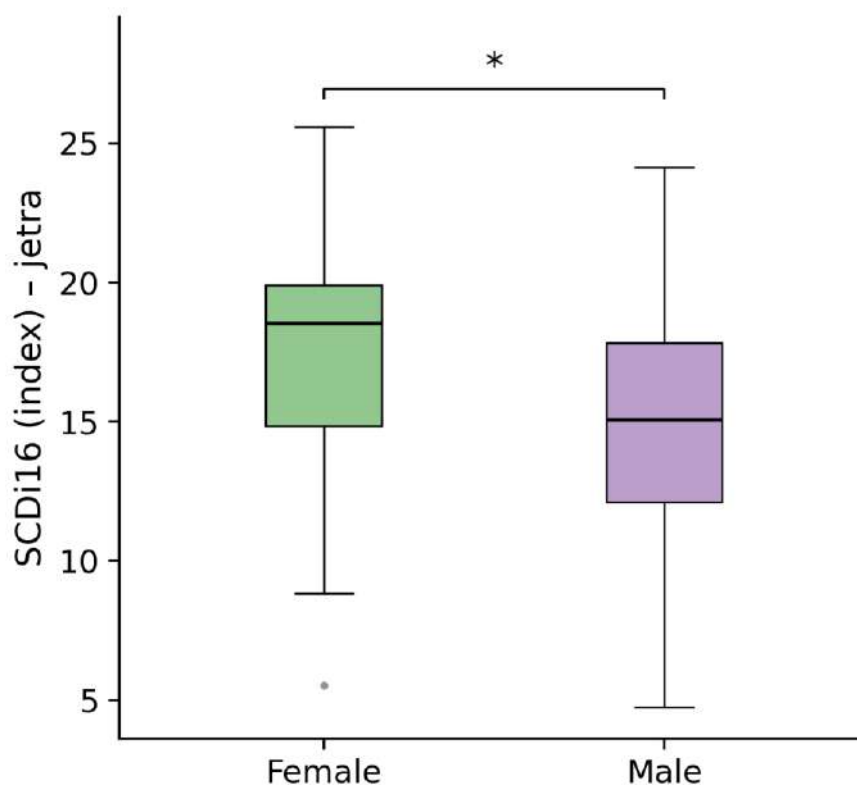
Jetra je pokazala najveći broj i najveću veličinu međuvrskih razlika među analiziranim tkivima (Tablica 13.). U usporedbi s vrstom *P. melisellensis*, vrsta u *P. siculus* utvrđen je viši udio n-6 PUFA (+5,35 postotnih bodova; 95 % CI: 3,52 do 7,19; Cohenov d = 1,15; parcijalni $\eta^2 = 0,25$; $P < 0,001$), viši ukupni udio PUFA (+5,03; 95 % CI: 3,00 do 7,06; d = 0,96; $P < 0,001$), viši omjer PUFA/SFA (+0,24; 95 % CI: 0,15 do 0,33; d = 1,06; $P < 0,001$) te viši omjer

UFA/SFA (na logaritamskoj skali +0,19; 95 % CI: 0,11 do 0,26; $d = 0,96$; $P < 0,001$). Istodobno je kod vrste *P. siculus* utvrđen niži udio SFA (na korijenskoj skali $-0,36$; 95 % CI: $-0,50$ do $-0,22$; $d = -0,97$; $P < 0,001$). Vrijednost indeksa desaturacije SCDi18 također je bila viša kod vrste *P. siculus* (+4,67; 95 % CI: 2,32 do 7,03; $d = 0,75$; $P = 0,004$). Većina utvrđenih međuvrskih razlika bila je velike veličine učinka, dok je učinak za SCDi18 bio srednje veličine. Raspodjela navedenih pokazatelja prikazana je na Slici 12.



Slika 12. Raspodjela indeksa desaturacije SCDi18 (a) i udjela n-6 višestruko nezasićenih masnih kiselina (n-6 PUFA) (b) u analiziranim tkivima vrsta *P. melisellensis* i *P. siculus*. Statistički značajne razlike između vrsta nakon Benjamini–Hochbergove korekcije (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$).

Jetra je bila jedino tkivo u kojem su utvrđene statistički značajne razlike između spolova u grupiranim pokazateljima masnokiselinskog sastava (Slika 13.). Mužjaci su imali viši udio n-6 PUFA (+3,17; $d = 0,68$; $P = 0,016$) te niže vrijednosti indeksa SCDi16 ($-2,51$; $d = -0,59$; $P = 0,024$). Oba učinka bila su srednje veličine.



Slika 13. Vrijednosti indeksa desaturacije SCDi16 u jetri prema spolu. Statistički značajnu razliku između spolova nakon Benjamini–Hochbergove korekcije; * $P < 0,05$.

5.4. Masnokiselinski pokazatelji u masnom tkivu

Masno tkivo pokazalo je jednako izražen obrazac međuvrskih razlika kao i jetra, ali s djelomično drugačijim rasporedom pokazatelja (Tablica 13.). U vrste *P. siculus* utvrđen je značajno viši indeks desaturacije SCDi18 (+6,64; 95 % CI: 4,37 do 8,90; Cohenov $d = 1,41$; parcijalni $\eta^2 = 0,33$; $P < 0,001$), što je predstavljalo najveći pojedinačni učinak zabilježen u ovom istraživanju. Također su utvrđeni viši udio MUFA (na korijenskoj skali +0,63; 95 % CI: 0,38 do 0,88; $d = 1,18$; $P < 0,001$) i viši omjer UFA/SFA (+0,50; 95 % CI: 0,24 do 0,76; $d = 0,90$; $P = 0,005$). Istodobno su kod vrste *P. siculus* zabilježeni niži udio SFA (na logaritamskoj skali -0,15; 95 % CI: -0,23 do -0,07; $d = -0,85$; $P = 0,011$) i niži omjer n-6/n-3 (na logaritamskoj skali -0,39; 95 % CI: -0,65 do -0,13; $d = -0,73$; $P = 0,049$). U masnom tkivu nisu utvrđeni statistički značajni učinci spola ni lokaliteta.

5.5. Masnokiselinski pokazatelji u srcu, mišićnom tkivu i mozgu

U srcu je utvrđen manji broj međuvrsnih razlika, no svi značajni učinci bili su usmjereni prema višem stupnju nezasićenosti lipida kod vrste *P. siculus*. Zabilježene su više vrijednosti omjera PUFA/SFA (na logaritamskoj skali +0,30; $d = 0,63$; $P = 0,029$), ukupnog udjela PUFA (na logaritamskoj skali +0,18; $d = 0,60$; $P = 0,031$) te udjela n-6 PUFA (na logaritamskoj skali +0,18; $d = 0,61$; $P = 0,031$). Svi navedeni učinci bili su srednje veličine.

U mozgu je utvrđena samo jedna statistički značajna međuvrsna razlika. Vrsta *P. siculus* imala je niže vrijednosti indeksa desaturacije SCDi18 ($-4,05$; 95 % CI: $-6,59$ do $-1,52$; $d = -0,81$; $P = 0,031$). Nijedan od četiri pokazatelja dugolančanih PUFA specifičnih za moždano tkivo (AA/EPA, AA/DHA, EPA/DHA i indeks vrlo dugolančanih n-3 PUFA) nije pokazao statistički značajne razlike s obzirom na vrstu, spol ili lokalitet.

U mišićnom tkivu nisu utvrđeni statistički značajni učinci vrste, spola ni lokaliteta ni za jedan od analiziranih grupiranih pokazatelja masnokiselinskog sastava.

5.6. Pokazatelji oksidativnog statusa

Ukupno je utvrđeno devet statistički značajnih učinaka za pokazatelje oksidativnog statusa (Tablica 13.). Najizraženiji učinak, ujedno i drugi najveći učinak zabilježen u cijelom istraživanju, odnosio se na aktivnost GSH-Px u jetri. Aktivnost GSH-Px bila je značajno niža kod vrste *P. siculus* ($-66,1$ U/g proteina; 95 % CI: $-88,4$ do $-43,9$; Cohenov $d = -1,13$; parcijalni $\eta^2 = 0,24$; $P < 0,001$).

Tablica 13. Statistički značajni učinci (Benjamini–Hochberg korigirani $P < 0,05$) dobiveni tkivno-specifičnim linearnim modelima za grupirane pokazatelje masnokiselinskog sastava i pokazatelje oksidativnog statusa. Procjene učinaka prikazane su na skali korištenoj u modelu (izvorna skala, osim ako je navedena transformacija), dok su standardne pogreške i P -vrijednosti izračunate primjenom HC3 heteroskedastično konzistentnih standardnih pogrešaka. Pozitivne procjene učinka vrste označavaju više vrijednosti kod vrste *P. siculus*.

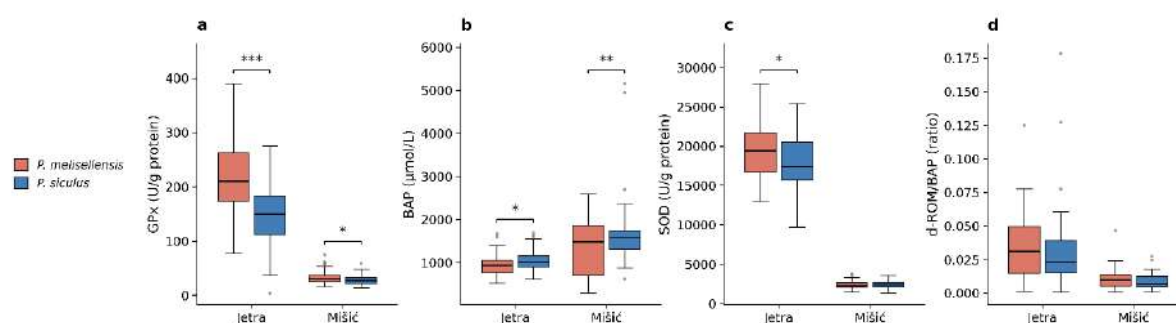
Tkivo	Pokazatelj	Transformacija	Učinak	Procjena (95% CI)	Cohen's d	Partial η^2	p (BH)
Mozak	SCDi18	none	Vrsta	-4.052 (-6.588, -1.516)	-0.812	0.141	0.031
Masno tkivo	SCDi18	none	Vrsta	6.635 (4.366, 8.904)	1.414	0.333	<0.001
Masno tkivo	MUFA	sqrt	Vrsta	0.627 (0.375, 0.879)	1.175	0.256	<0.001
Masno tkivo	UFA/SFA	none	Vrsta	0.500 (0.243, 0.758)	0.896	0.167	0.005
Masno tkivo	SFA	log	Vrsta	-0.145 (-0.225, -0.065)	-0.845	0.152	0.011
Masno tkivo	n-6/n-3	log	Vrsta	-0.387 (-0.646, -0.128)	-0.728	0.117	0.049
Srce	PUFA/SFA	log	Vrsta	0.296 (0.114, 0.478)	0.631	0.09	0.029
Srce	PUFA	log	Vrsta	0.175 (0.065, 0.285)	0.604	0.084	0.031
Srce	n-6	log	Vrsta	0.182 (0.069, 0.295)	0.611	0.085	0.031
Jetra	GPx (U/g protein)	none	Vrsta	-66.146 (-88.428, -43.864)	-1.131	0.242	<0.001
Jetra	n-6	none	Vrsta	5.355 (3.521, 7.189)	1.145	0.247	<0.001
Jetra	PUFA/SFA	none	Vrsta	0.239 (0.152, 0.326)	1.059	0.219	<0.001
Jetra	SFA	sqrt	Vrsta	-0.359 (-0.500, -0.218)	-0.97	0.19	<0.001

Tkivo	Pokazatelj	Transformacija	Učinak	Procjena (95% CI)	Cohen's d	Partial η^2	p (BH)
Jetra	UFA/SFA	log	Vrsta	0.188 (0.114, 0.262)	0.964	0.189	<0.001
Jetra	PUFA	none	Vrsta	5.032 (3.000, 7.064)	0.959	0.187	<0.001
Jetra	SCDi18	none	Vrsta	4.673 (2.318, 7.028)	0.749	0.123	0.004
Jetra	n-6	none	Spol	3.167 (1.337, 4.996)	0.677	0.103	0.016
Jetra	SCDi16	none	Spol	-2.513 (-4.113, -0.913)	-0.593	0.081	0.031
Jetra	BAP ($\mu\text{mol/L}$)	log	Spol	0.126 (0.035, 0.218)	0.527	0.065	0.032
Jetra	d-ROM (U CARR)	sqrt	Lokalitet (Sinj)	-1.475 (-2.557, -0.392)	-0.535	0.067	0.032
Jetra	SOD (U/g protein)	sqrt	Vrsta	-6.600 (-11.378, -1.822)	-0.539	0.068	0.032
Mišićno tkivo	BAP ($\mu\text{mol/L}$)	log	Spol	0.308 (0.140, 0.476)	0.698	0.109	0.007
Mišićno tkivo	BAP ($\mu\text{mol/L}$)	log	Vrsta	0.300 (0.131, 0.469)	0.681	0.104	0.007
Mišićno tkivo	GPx (U/g protein)	log	Spol	-0.154 (-0.266, -0.043)	-0.529	0.065	0.032
Mišićno tkivo	SOD (U/g protein)	sqrt	Spol	-2.357 (-4.086, -0.628)	-0.522	0.064	0.032
Mišićno tkivo	GPx (U/g protein)	log	Vrsta	-0.138 (-0.248, -0.029)	-0.475	0.053	0.048

U jetri je kod vrste *P. siculus* također utvrđen viši BAP (na logaritamskoj skali +0,13; $d = 0,53$; $P = 0,032$) te niža aktivnost SOD (na korijenskoj skali $-6,60$; $d = -0,54$; $P = 0,032$). Nadalje, za koncentraciju d-ROM utvrđen je učinak lokaliteta, pri čemu su vrijednosti na lokalitetu Sinj bile niže nego na lokalitetu Knin ($d = -0,54$; $P = 0,032$).

U mišićnom tkivu vrijednosti BAP-a bile su više kod vrste *P. siculus* (na logaritamskoj skali +0,30; $d = 0,68$; $P = 0,007$), kao i kod mužjaka u odnosu na ženke (+0,31; $d = 0,70$; $P = 0,007$). Aktivnosti GSH-Px i SOD bile su niže kod mužjaka nego kod ženki ($d = -0,53$ odnosno $d = -0,52$; $P = 0,032$). Također, aktivnost GSH-Px u mišićnom tkivu bila je niža kod vrste *P. siculus* ($d = -0,48$; $P = 0,048$).

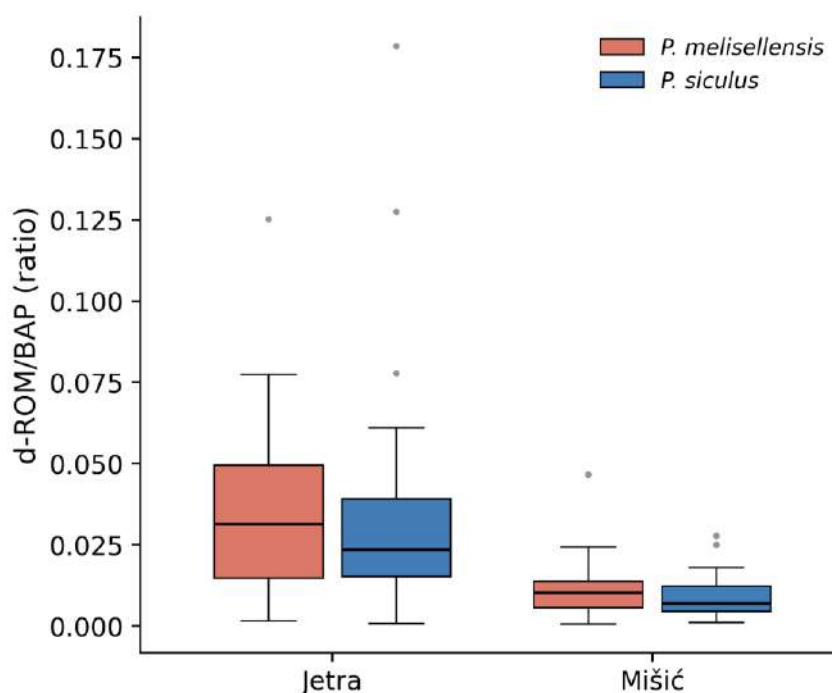
Raspodjela pokazatelja oksidativnog statusa među analiziranim tkivima prikazana je na Slici 14.



Slika 14. Vrijednosti pokazatelja oksidativnog statusa u jetri i mišićnom tkivu vrsta *P. melisellensis* i *P. siculus*: (a) glutation-peroksidaza (GSH-Px), (b) biološki antioksidativni potencijal (BAP); (c) superoksid-dismutaza (SOD) i (d) omjer derivata reaktivnih kisikovih metabolita (d-ROM) i BAP. Statistički značajne razlike između vrsta nakon Benjamini–Hochbergove korekcije (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$).

Dodatna analiza indeksa oksidativnog stresa (OSi), izračunatog kao omjer d-ROM/BAP, nije pokazala značajne međuvrsne razlike ni u jetri ni u mišićnom tkivu. Vrijednosti OSi nisu se razlikovale između vrsta u jetri ($PBH = 0,50$) ni u mišićnom tkivu ($PBH = 0,52$), a nisu utvrđene ni značajne razlike između spolova. Neovisno o vrsti, OSi je bio približno tri puta viši u jetri nego u mišićnom tkivu, što pokazuju objedinjeni medijani za oba tkiva (0,028 u jetri u odnosu na 0,009 u mišićnom tkivu) (Slika 15.).

Jedini statistički značajan učinak utvrđen je za lokalitet u jetri. Jedinke s lokaliteta Sinj imale su niže vrijednosti OSi u usporedbi s jedinkama s lokaliteta Knin (Cohenov $d = -0,57$; $PBH = 0,022$), što predstavlja učinak srednje veličine. Vrijednosti OSi na lokalitetu Pag nisu se značajno razlikovale od vrijednosti na lokalitetu Knin, a u mišićnom tkivu nisu utvrđeni značajni učinci vrste, spola ni lokaliteta.



Slika 15. Vrijednosti indeksa oksidativnog stresa (OSi; d-ROM/BAP) u jetri i mišićnom tkivu vrsta *Podarcis melisellensis* i *Podarcis siculus*. Kutije prikazuju medijan i interkvartilni raspon. Nisu utvrđene statistički značajne međuvrsne razlike unutar pojedinog tkiva.

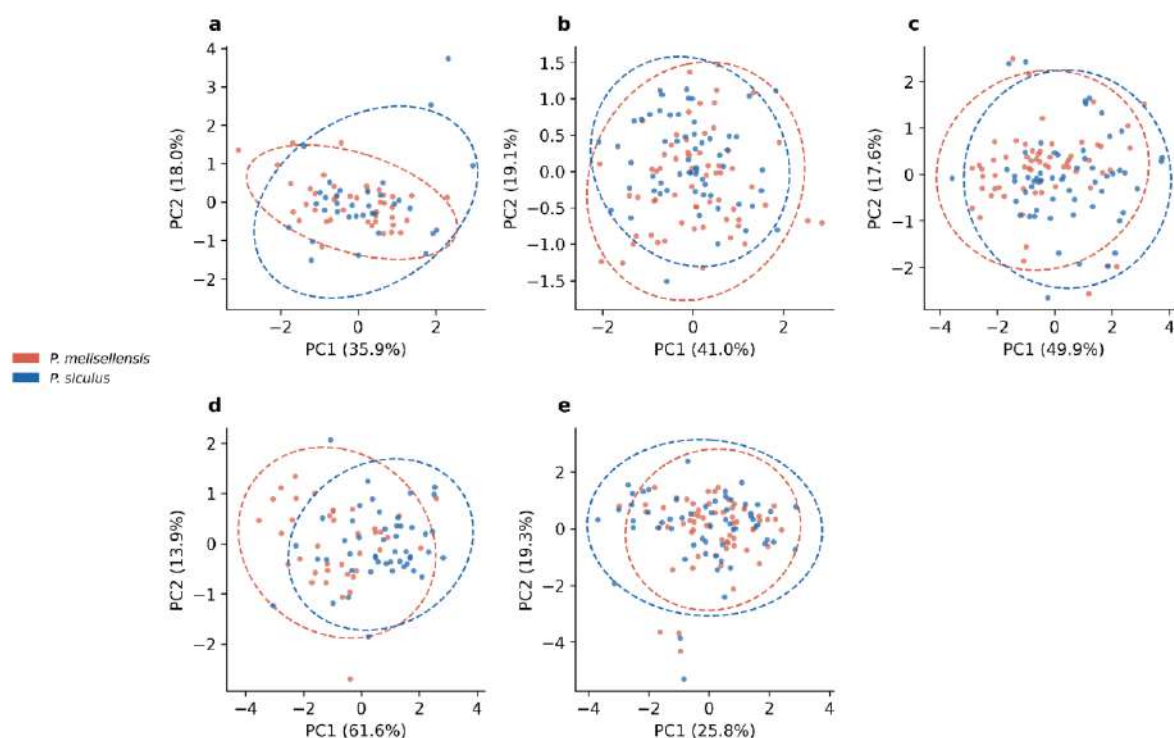
5.7. Kompozicijska analiza pojedinačnih masnih kiselina

Multivarijatna analiza profila pojedinačnih masnih kiselina potvrdila je obrazac dobiven analizom grupiranih pokazatelja (Tablica 14.). PERMANOVA analiza pokazala je statistički značajne razlike u ukupnom masnokiselinskom sastavu između vrsta samo u masnom tkivu ($R^2 = 0,154$; $F = 15,14$; $P = 0,001$) i jetri ($R^2 = 0,049$; $F = 6,12$; $P = 0,002$). U mozgu, mišićnom tkivu i srcu nisu utvrđene statistički značajne međuvrsne razlike u ukupnom sastavu masnih kiselina ($R^2 \leq 0,017$; $P \geq 0,09$).

Tablica 14. Rezultati PERMANOVA analize pojedinačnog masnokiselinskog sastava (učinak vrste) i pripadajuće analize multivarijatne disperzije (PERMDISP) prema tkivu. Vrijednost R^2 predstavlja udio varijabilnosti masnokiselinskog sastava objašnjen vrstom, dok su P -vrijednosti korigirane Benjamini–Hochbergovim postupkom između analiziranih tkiva.

Tkivo	R^2 (species)	F	p (vrsta)	PERMDISP p	p (BH)
Mozak	0.015	1.12	0.312	0.106	0.312
Mišićno tkivo	0.017	2	0.099	0.231	0.165
Jetra	0.049	6.12	0.002	0.883	0.005
Masno tkivo	0.154	15.14	0.001	0.91	0.005
Srce	0.012	1.47	0.158	0.027	0.198

Spol i lokalitet objašnjavali su vrlo mali dio varijabilnosti masnokiselinskog sastava u svim analiziranim tkivima (sve vrijednosti $R^2 \leq 0,025$; svi Benjamini–Hochberg korigirani $P > 0,3$). Analiza multivarijatne disperzije (PERMDISP) nije pokazala razlike između vrsta ni u masnom tkivu ni u jetri (PERMDISP $P = 0,91$ odnosno $0,88$), što upućuje da su razlike utvrđene PERMANOVA analizom povezane s razlikama u prosječnom sastavu masnih kiselina između vrsta. Analiza glavnih komponenti masnokiselinskog sastava prikazana je na Slici 16.



Slika 16. Analiza glavnih komponenti centrirano logaritamski transformiranog (CLR) masnokiselinskog sastava unutar pojedinog tkiva prema vrsti (95 %-tne elipse pouzdanosti): (a) mozak, (b) mišićno tkivo, (c) jetra, (d) masno tkivo i (e) srce. Najizraženije razdvajanje vrsta zabilježeno je u masnom tkivu (d) i jetri (c).

Na razini pojedinačnih masnih kiselina identificirano je jedanaest masnih kiselina koje su značajno doprinijele razlikama između vrsta, pri čemu su sve utvrđene u masnom tkivu i jetri (Tablica 15.). U masnom tkivu vrsta *P. siculus* imala je niže udjele kratkolančanih zasićenih masnih kiselina C8:0 i C10:0 te arahidinske kiseline (C20:0), a više udjele palmitinske (C16:0) i miristinske kiseline (C14:0), arahidonske kiseline (C20:4n-6) i α -linolenske kiseline (C18:3n-3). U jetri je kod vrste *P. siculus* utvrđen viši udio oleinske (C18:1c9), linolne (C18:2n-6) i arahidonske kiseline (C20:4n-6), dok je udio miristoleinske kiseline (C14:1) bio niži.

Tablica 15. Pojedinačne masne kiseline koje statistički značajno doprinose razlikama u masnokiselinskom sastavu između vrsta (CLR linearni modeli, HC3 heteroskedastično konzistentne standardne pogreške, Benjamini–Hochberg korigirani $P < 0,05$). CLR učinak predstavlja koeficijent centrirano logaritamski transformiranih podataka (CLR) za vrstu *P. siculus* u odnosu na *P. melisellensis*.

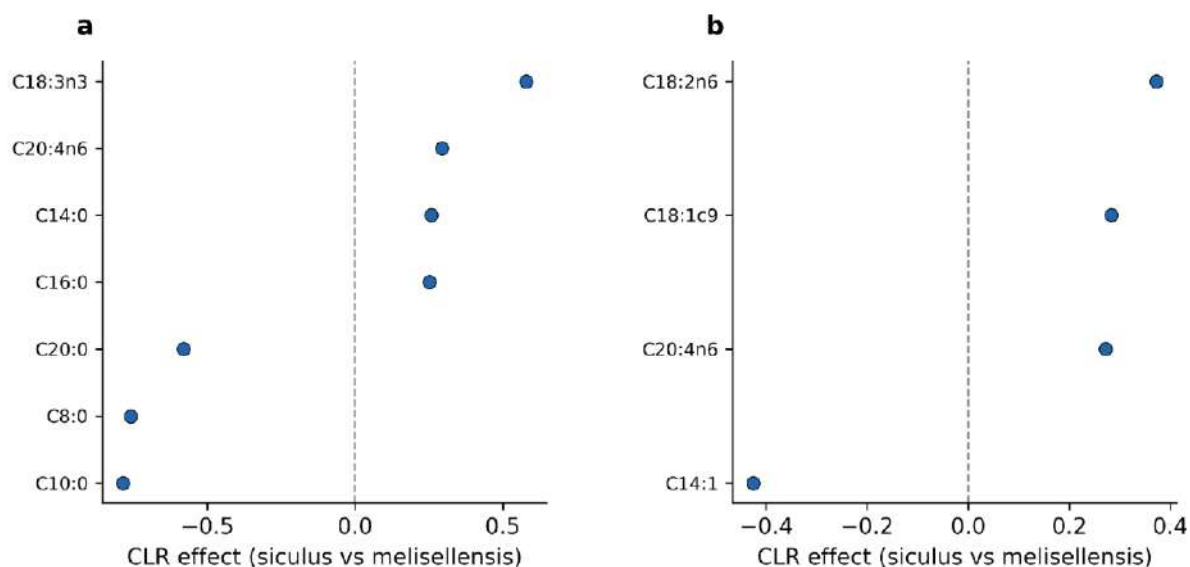
Tkivo	Masna kiselina	CLR učinak	Smjer učinka	p (BH)
Masno tkivo	C10:0	-0.785	niža u <i>P. siculus</i>	0.002
Masno tkivo	C20:4n-6	+0.294	viša u <i>P. siculus</i>	0.002
Masno tkivo	C8:0	-0.759	niža u <i>P. siculus</i>	0.010
Masno tkivo	C16:0	+0.252	viša u <i>P. siculus</i>	0.010
Masno tkivo	C18:3n-3	+0.580	viša u <i>P. siculus</i>	0.010
Masno tkivo	C14:0	+0.258	viša u <i>P. siculus</i>	0.019
Masno tkivo	C20:0	-0.580	niža u <i>P. siculus</i>	0.021
Jetra	C18:1c9	+0.283	viša u <i>P. siculus</i>	0.002
Jetra	C18:2n-6	+0.373	viša u <i>P. siculus</i>	0.002
Jetra	C14:1	-0.426	niža u <i>P. siculus</i>	0.024
Jetra	C20:4n-6	+0.272	viša u <i>P. siculus</i>	0.029

U skladu s navedenim rezultatima, linearna diskriminantna analiza (LDA) pokazala je najbolje razdvajanje vrsta na temelju masnokiselinskog sastava masnog tkiva i jetre (točnost unakrsne validacije „izostavi jednog” = 0,71 za oba tkiva). Točnost razdvajanja bila je najniža u mozgu (0,51), dok je u mišićnom tkivu i srcu iznosila 0,57 odnosno 0,58 (Tablica 16.).

Pojedinačne masne kiseline koje su najviše doprinijele razlikama između vrsta prikazane su na Slici 17.

Tablica 16. Točnost klasifikacije vrsta dobivena linearnom diskriminantnom analizom (LDA) CLR-transformiranog masnokiselinskog sastava uz primjenu unakrsne validacije metodom „izostavi jednog” (engl. *leave-one-out cross-validation*). Vrijednost 0,50 predstavlja očekivanu točnost slučajne klasifikacije.

Tkivo	n	LOO accuracy
Mozak	76	0.513
Mišićno tkivo	121	0.57
Jetra	120	0.708
Masno tkivo	86	0.709
Srce	120	0.583



Slika 17. Pojedinačne masne kiseline koje značajno doprinose razlikama u masnokiselinskom sastavu između vrsta (CLR učinci, *P. siculus* u odnosu na *P. melisellensis*) u (a) masnom tkivu i (b) jetri, jedina dva tkiva u kojima je utvrđena statistički značajna međuvrsna razlika u ukupnom masnokiselinskom sastavu. Pozitivne vrijednosti označavaju više udjele kod vrste *P. siculus*. Sve prikazane masne kiseline ostale su statistički značajne nakon Benjamini–Hochbergove korekcije.

5.8. Provjera robusnosti rezultata i analiza osjetljivosti

Svi statistički značajni učinci ostali su značajni i nakon primjene HC3 robusnih standardnih pogrešaka, što pokazuje da prisutna heteroskedastičnost u pojedinim modelima nije utjecala na dobivene rezultate.

Ponovna procjena svih učinaka na cjelovitom, nefiltriranom skupu podataka uz paralelnu analizu osjetljivosti primjenom Tukeyevog kriterija (engl. *Tukey fence*) potvrdila je stabilnost rezultata. Analize provedene na izvornom skupu podataka i nakon uklanjanja odstupajućih vrijednosti dale su podudarne rezultate za 41 od ukupno 44 analizirana učinka.

Rezultati PERMANOVA analize bili su jednaki neovisno o primijenjenoj metodi zamjene nultih vrijednosti. Statistički značajne međuvrsne razlike zadržane su u masnom tkivu ($P = 0,001$) i jetri ($P = 0,002–0,003$) pri primjeni multiplikativne zamjene nultih vrijednosti kao i metode zamjene polovinom minimalne vrijednosti.

Od ukupno 53 tkivno-specifična modela, samo su dva (omjer $n-6/n-3$ u jetri i indeks SCDi16 u masnom tkivu) pokazivala odstupanje od normalne raspodjele reziduala. Oba modela

odnosila su se na pokazatelje koji sadržavaju strukturne nulte vrijednosti, a ni u jednom slučaju nisu utvrđeni statistički značajni učinci.

6. RASPRAVA

6.1. Tkivna specifičnost masnokiselinskog sastava

Istraživanja na ektotermnim kralježnjacima, posebno oviparnim gušterima, slična ovoj studiji, relativno su rijetka. Stoga će sljedeća rasprava o komparativnim podacima biti uglavnom ograničena na rezultate ove studije.

Rezultati ovog istraživanja jasno ukazuju na tkivnu specifičnost masnokiselinskog sastava kod obje istraživane vrste guštera. U obje vrste utvrđene su konzistentne razlike među analiziranim tkivima, što upućuje na dominantan utjecaj funkcionalne uloge pojedinog tkiva na masnokiselinski sastav, a ne isključivo na prehrambeni unos. Slična tkivno-specifična organizacija lipida prethodno je opisana i kod drugih gmazova, pri čemu su jetra i mišić identificirani kao glavna metabolički aktivna tkiva uključena u sintezu, oksidaciju i preraspodjelu lipida, dok je za mozak karakterističan izrazito reguliran membranski lipidni sastav (SHEN i GAO, 2005.).

Mišićno tkivo i srce u ovom su istraživanju sadržavali najviši udio SFA (Slika 9.). Povećani udio SFA povezuje se s većom strukturnom stabilnošću bioloških membrana te smanjenom osjetljivošću lipida na oksidativnu degradaciju, što može biti funkcionalno značajno u tkivima s kontinuiranom kontraktilnom aktivnošću i visokim metaboličkim zahtjevima (HULBERT i ELSE, 2005.; HULBERT, 2008.). Regulacija lipidnog metabolizma kod poikilotermnih kralježnjaka snažno je povezana s energetske potrebama i fiziološkim statusom organizma, pri čemu su jetra i mišić ključna mjesta metabolizma i preraspodjele lipida (SHEN i GAO, 2005.).

Abdominalno masno tkivo, uzorkovano iz masnih tijela koja kod gmazova predstavljaju primarno mjesto pohrane energije, pokazalo je najviši udio ukupnih UFA. Povećana zastupljenost UFA u depo tkivu može odražavati potrebu za većom metaboličkom fleksibilnošću te učinkovitijom mobilizacijom pohranjenih masnih kiselina tijekom razdoblja povećanih energetske zahtjeva (PRICE, 2010.; HULBERT, 2008.). U ektotermnih organizama zabilježeno je da promjene u udjelu nezasićenih masnih kiselina imaju važnu ulogu u prilagodbi metaboličkim i okolišnim izazovima (SHEN i GAO, 2005.).

Mozak je, očekivano, pokazao relativno visok udio PUFA, osobito n-3 masnih kiselina te niži omjer n-6/n-3 u odnosu na ostala analizirana tkiva (Tablica 6.), što je u skladu s funkcionalnim zahtjevima živčanog tkiva (SAMBRA i sur., 2021.). Fosfolipidi živčanog tkiva podliježu strogoj regulaciji jer sastav masnih kiselina izravno utječe na fluidnost membrane,

funkcionalnost ionskih kanala i učinkovitost sinaptičke transmisije (STILLWELL i WASSALL, 2003.; HULBERT, 2008.). Kod ektotermnih kralježnjaka povećanje udjela nezasićenih masnih kiselina u membranama predstavlja klasičan mehanizam fiziološke prilagodbe promjenama okolišnih uvjeta, poznat kao homeoviskozna adaptacija (SHEN i GAO, 2005.).

Posebno je istaknuta uloga oleinske (C18:1c-9) i drugih UFA u modulaciji fizikalnih svojstava fosfolipida membrana (SHEN i GAO, 2005.). U ovom istraživanju tkiva su se razlikovala ne samo u omjeru SFA i UFA, već i u raspodjeli pojedinih skupina nezasićenih masnih kiselina. MUFA su bile najzastupljenije u masnom tkivu (Tablica 9.), dok su PUFA bile najzastupljenije u jetri i mozgu (Tablice 6. i 8.), a najniži udjeli obje skupine masnih kiselina zabilježeni su u srcu (Tablica 10.). Ovakav raspored upućuje na to da se tkivna specifičnost masnokiselinskog sastava očituje kroz razlike u stupnju zasićenosti lipida, ali i kroz različitu zastupljenost pojedinih skupina nezasićenih masnih kiselina, u skladu s funkcionalnom ulogom pojedinog tkiva.

Ukupno gledano, dobiveni rezultati potvrđuju da masnokiselinski sastav kod istraživanih guštera nije uniforman unutar organizma, već odražava specifične fiziološke zahtjeve pojedinog tkiva, poput membranske stabilnosti, energetskog metabolizma i pohrane lipida (HULBERT i sur., 2005.). Tako su tkiva s visokom metaboličkom aktivnošću, poput jetre i mišića, pokazivala drugačiji masnokiselinski profil u odnosu na mozak, u kojem prevladava strogo reguliran sastav membranskih lipida važan za održavanje neuronske funkcije. Takva tkivna diferencijacija predstavlja temelj za interpretaciju daljnjih međuvrskih razlika i potencijalnih adaptivnih strategija u kontekstu metaboličke fleksibilnosti i ekološke prilagodbe.

6.1. Regulacija omjera UFA/SFA i PUFA/SFA kao pokazatelj metaboličkog profila

Omjer nezasićenih i zasićenih masnih kiselina (UFA/SFA), kao i omjer višestruko nezasićenih i zasićenih masnih kiselina (PUFA/SFA), smatraju se važnim pokazateljima funkcionalnih svojstava bioloških membrana i metaboličke fleksibilnosti tkiva (CHEN i LIU, 2020). Promjene u stupnju zasićenosti lipida izravno utječu na fluidnost membrane, stabilnost fosfolipidnog dvosloja te osjetljivost na oksidativna oštećenja (HULBERT, 2008.). Kod ektotermnih kralježnjaka prilagodba omjera UFA i SFA predstavlja jedan od ključnih mehanizama fiziološke prilagodbe promjenjivim okolišnim uvjetima, osobito temperaturi i energetskom statusu organizma (HAZEL i WILLIAMS, 1990.; SHEN i GAO., 2005.).

U ovom istraživanju uočene su razlike u UFA/SFA i PUFA/SFA omjerima među tkivima, pri čemu je u masnom tkivu utvrđena najviša vrijednost UFA/SFA (Tablica 9.), dok su mišićno tkivo i srce imali najviši udio SFA (Tablice 7. i 10.). Jetra i mozak zauzimali su intermedijaran položaj, pri čemu se mozak dodatno izdvajao višim udjelom n-3 PUFA i nižim omjerom n-6/n-3 u odnosu na ostala analizirana tkiva (Tablice 6. i 8.). Ovakav raspored odražava kompromis između membranske fluidnosti i otpornosti na lipidnu peroksidaciju. Viši udio UFA povećava fluidnost membrane, ali istodobno povećava podložnost oksidativnim oštećenjima, dok veći udio SFA doprinosi većoj strukturnoj stabilnosti i manjoj reaktivnosti lipida (PAMPLONA i sur., 2002.; HULBERT, 2008.).

Kod ektotermnih organizama promjene u omjeru UFA i SFA često se interpretiraju u kontekstu homeoviskozne adaptacije (PAMPLONA i sur., 2002.), pri čemu povećanje stupnja nezasićenosti omogućuje održavanje optimalne funkcije membrana pri promjenama temperature (HAZEL i WILLIAMS, 1990.). Slični obrasci sastava masnih kiselina opisani su kod drugih gmazova, gdje lipidi različitih tkiva pokazuju dominantnu zastupljenost oleinske, palmitinske i linolne kiseline, uz relativno visoke udjele UFA u skladišnim tkivima (GREENBERG i sur., 1984.; VEGA PARRY i sur., 2014.).

Budući da su jetra i masna tijela kod gmazova ključna mjesta sinteze, preraspodjele i pohrane lipida, a masna tijela predstavljaju glavni energetske depo organizma (DERICKSON, 1976.; GREENBERG i sur., 1984.), varijacije u omjerima PUFA/SFA u tim tkivima mogu odražavati razlike u regulaciji lipidnog metabolizma. Stabilniji profil mozga, s druge strane, sugerira strožu funkcionalnu kontrolu membranskog sastava živčanog tkiva (ROMANO i sur., 2017.).

S obzirom na to da viši PUFA/SFA omjer potencijalno povećava osjetljivost membrana na oksidativni stres (PAMPLONA i sur., 2002.; HULBERT, 2008.), interpretacija ovih rezultata zahtijeva integraciju s pokazateljima oksidativnog statusa (vidi 6.6.). Upravo odnos između stupnja nezasićenosti lipida i razine oksidativnih oštećenja može pružiti dublji uvid u adaptivne strategije istraživanih vrsta.

6.2. Međuvrsne razlike u masnokiselinskom sastavu tkiva

6.2.1. Jetra

Jetra je u ovom istraživanju pokazala najveći broj značajnih međuvrsnih razlika u masnokiselinskom sastavu, dok su razlike između lokaliteta i spolova nisu bile značajne. Takav

raspored sugerira da je lipidni profil jetre primarno određen vrstom, odnosno intrinzičnim metaboličkim svojstvima, a u manjoj mjeri okolišnim čimbenicima (Tablica 8.). Budući da je jetra centralno mjesto sinteze, elongacije i desaturacije masnih kiselina te regulacije lipidne homeostaze kod poikilotermnih kralježnjaka (SHEN i GAO, 2005.), razlike u jetrenom masnokiselinskom sastavu mogu odražavati temeljne razlike u metaboličkom profilu između vrsta.

U vrste *P. melisellensis* utvrđen je viši ukupni udio SFA u odnosu na *P. siculus* (Slika 9.). Povećana zastupljenost SFA može upućivati na veću otpornost na lipidnu peroksidaciju. Zasićene masne kiseline kemijski su stabilnije i manje podložne oksidativnim oštećenjima, što može predstavljati zaštitni mehanizam u uvjetima povećane proizvodnje reaktivnih kisikovih vrsta (PAMPLONA i sur., 2002.; HULBERT, 2008.).

Suprotno tome, u *P. siculus* je utvrđen viši udio PUFA i n-6 PUFA, više vrijednosti UFA/SFA i PUFA/SFA omjera te viši indeks desaturacije SCDi18 (Slika 9. i 10.). Na razini pojedinačnih masnih kiselina kod *P. siculus* su u jetri utvrđeni viši udjeli oleinske (C18:1c9), linolne (C18:2n-6) i arahidonske masne kiseline (C20:4n-6), dok je udio miristoleinske kiseline (C14:1) bio niži (Tablica 15.). Povećani stupanj nezasićenosti membranskih lipida povezuje se s većom membranskom fluidnošću i potencijalno većom metaboličkom fleksibilnošću, ali istodobno i s većom osjetljivošću na oksidativna oštećenja (STILLWELL i WASSALL, 2003.). Kod ektotermnih organizama promjene u stupnju nezasićenosti lipida često su povezane s prilagodbom energetske potrebe i temperaturnim uvjetima okoliša (HAZEL i WILLIAMS, 1990.; SHEN i GAO, 2005.). Slični obrasci dominacije oleinske, palmitinske (C16:0) i linolne kiseline opisani su i u drugim tkivima gmazova (GREENBERG i sur., 1984.).

Zanimljivo je da su razlike između vrsta bile izražene i u indeksima desaturacije (SCDi16), što dodatno upućuje na različitu aktivnost enzima stearoil-CoA desaturaze. Ovaj enzim katalizira desaturaciju palmitinske kiseline (C16:0) u palmitoleinsku kiselinu (C16:1), pri čemu ima važnu ulogu u regulaciji omjera zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina te u kontroli sastava membranskih lipida i energetske homeostaze (BEHROUZIAN i sur., 2002.). Takve razlike potencijalno utječu na membransku dinamiku, energetske metabolizam i otpornost na oksidativne procese (NTAMBI i MIYAZAKI, 2004.; HULBERT, 2008.).

Ukupno gledano, rezultati upućuju na to da *P. siculus* posjeduje jetreni lipidni profil obilježen većim stupnjem nezasićenosti, dok *P. melisellensis* pokazuje profil s većim stupnjem zasićenosti. Ovaj raspored može odražavati različite metaboličke strategije, pri čemu jedna

vrsta favorizira veću membransku fluidnost i potencijalno bržu metaboličku prilagodbu, dok druga pokazuje stabilniji i oksidativno otporniji lipidni sastav. Interpretacija ovih razlika u kontekstu ekološke prilagodbe zahtijeva integraciju s podacima o oksidativnom statusu, koji mogu razjasniti predstavlja li viši stupanj nezasićenosti funkcionalnu prednost ili potencijalni gubitak.

6.2.2. Masno tkivo

Masno tkivo, uzorkovano iz abdominalnih masnih tijela, pokazalo je izražene međuvrsne razlike, dok su razlike između lokaliteta i spolova nisu bile izražene. Budući da masna tijela kod gmazova predstavljaju primarno mjesto pohrane energije i ključnu komponentu sezonske energetske strategije, razlike u njihovom masnokiselinskom sastavu mogu odražavati temeljne razlike u energetske metabolizmu i regulaciji lipidne homeostaze između vrsta (DERICKSON, 1976.; VEGA PARRY i sur., 2014.).

U ovom istraživanju u *P. melisellensis* utvrđen je viši ukupni udio SFA u masnom tkivu u odnosu na *P. siculus* (Slika 9. i 10.). Povećana zastupljenost SFA u skladišnom tkivu može upućivati na stabilniju, strukturno otporniju energetske rezervu. S obzirom na to da su SFA manje podložne oksidativnim procesima (NAKAMURA i sur., 2019.), takav profil može predstavljati strategiju smanjenja oksidativnog troška tijekom dugotrajne pohrane lipida (PAMPLONA i sur., 2002.; HULBERT, 2008.).

Suprotno tome, u *P. siculus* utvrđeni su viši udio MUFA, viši omjer UFA/SFA te viši indeks desaturacije SCDi18, uz niži ukupni udio SFA (Slika 9., 10. i 12.). Povećani udio UFA u masnom tkivu može biti povezan s većom metaboličkom fleksibilnošću i bržom mobilizacijom energetske rezervi. Nezasićene masne kiseline imaju nižu temperaturu taljenja i veću membransku fluidnost, što može olakšati njihovu mobilizaciju tijekom razdoblja povećanih energetske zahtjeva (HAZEL i WILLIAMS, 1990.; HULBERT, 2008.). Kod ektotermnih kralježnjaka regulacija stupnja nezasićenosti pohranjenih lipida povezana je s prilagodbom metaboličkom statusu i okolišnim uvjetima (HAZEL i WILLIAMS, 1990.; SHEN i GAO, 2005.).

Zanimljivo je da su razlike između vrsta bile vidljive i u SCDi18 indeksu (Slika 11.), što upućuje na različitu procijenjenu aktivnost stearoil-CoA desaturaze u masnom tkivu. Ovaj enzim katalizira desaturaciju stearinske kiseline (C18:0) u oleinsku kiselinu (C18:1), pri čemu ima važnu ulogu u regulaciji omjera zasićenih i mononezasićenih masnih kiselina

(BEHROUZIAN i sur., 2002.). Dakle, razlike u SCD indeksu mogu sugerirati da dvije vrste mogu primjenjivati različite strategije regulacije skladišnih lipida. Viša aktivnost desaturacije može povećati fluidnost pohranjenih lipida, ali istodobno potencijalno povećati njihovu oksidativnu osjetljivost (NTAMBI i MIYAZAKI, 2004.).

U *P. melisellensis* utvrđen je viši omjer n-6/n-3 u masnom tkivu u odnosu na *P. siculus* (Tablica 13.). Budući da omjer n-6/n-3 masnih kiselina utječe na sintezu različitih skupina eikozanoida, uključujući proinflamatorne i protuupalne medijatore, promjene u tom omjeru mogu imati važne fiziološke posljedice povezane s regulacijom upalnih procesa i metaboličkog odgovora organizma (SIMOPOULOS, 2002.; SCHMITZ i ECKER, 2008.).

Ukupno gledano, rezultati upućuju na to da masno tkivo vrste *P. siculus* karakterizira nezasićeni profil, dok je kod *P. melisellensis* utvrđen zasićeniji lipidni profil. Budući da stupanj nezasićenosti pohranjenih lipida utječe na njihova fizikalna svojstva, mobilizaciju i metaboličku iskoristivost, dobivene razlike mogu odražavati različite strategije regulacije energetske rezervi između istraživanih vrsta (HAZEL i WILLIAMS, 1990.; HULBERT, 2008.). Takve razlike potencijalno mogu utjecati na sezonsku dinamiku metabolizma, reproduktivna ulaganja i odgovor organizma na okolišne stresore.

6.3.3. Mozak

Za razliku od jetre i masnog tkiva, mozak je pokazao manji broj značajnih razlika u masnokiselinskom sastavu između analiziranih skupina, pri čemu su vrijednosti glavnih skupina masnih kiselina i pripadajućih omjera bile relativno ujednačene (Slika 10. i Tablica 6.). Takav obrazac ukazuje na stabilniji sastav lipida u živčanom tkivu u odnosu na metabolički aktivnija tkiva poput jetre i masnog tkiva. Budući da je analiziran homogenat cijelog mozga, dobiveni sastav odražava ukupni sastav membranskih lipida živčanih stanica, pri čemu dominantnu lipidnu frakciju čine fosfolipidi bogati višestruko nezasićenim masnim kiselinama. U skladu s time, u obje istraživane vrste utvrđen je relativno visok udio PUFA, osobito n-3 masnih kiselina, te niži omjer n-6/n-3 u odnosu na ostala analizirana tkiva, što je karakteristično za živčano tkivo i povezano s održavanjem membranske fluidnosti i neuronske funkcije (STILLWELL i WASSALL, 2003.; ROMANO i sur., 2017.). Kod ektotermnih kralježnjaka lipidni sastav mozga općenito je relativno stabilan, jer promjene u stupnju nezasićenosti mogu utjecati na strukturu i funkciju staničnih membrana (STILLWELL i WASSALL, 2003; SHEN i GAO, 2005.).

U ovom istraživanju nisu utvrđene značajne razlike u ukupnom masnokiselinskom sastavu mozga između vrsta, spolova ni lokaliteta. Također, četiri pokazatelja dugolančanih PUFA specifičnih za moždano tkivo nisu se značajno razlikovala između analiziranih skupina. Jedina statistički značajna međuvrsna razlika odnosila se na indeks desaturacije SCDi18, koji je bio niži kod vrste *P. siculus*. Iako ovaj nalaz upućuje na moguću razliku u metabolizmu jednostruko nezasićenih masnih kiselina u moždanom tkivu, izostanak značajnih razlika u ukupnim skupinama masnih kiselina i pripadajućim omjerima upućuje na relativno očuvan masnokiselinski profil mozga kod obje vrste. Posebno je važno održavanje višestruko nezasićenih masnih kiselina, osobito n-3 i n-6 masnih kiselina, budući da one predstavljaju ključne komponente fosfolipida membrana živčanog tkiva te sudjeluju u membranskoj fluidnosti i staničnoj signalizaciji (STILLWELL i WASSALL, 2003.; SAMBRA i sur., 2021.). Minimalne međuvrsne, spolne i lokalitetne razlike dodatno podupiru pretpostavku o relativno ujednačenom lipidnom sastavu moždanog tkiva. Dobiveni rezultati djelomično su u skladu s istraživanjem SHEN i sur. (2005.), koji su također utvrdili da mozak guštera pokazuje manju varijabilnost masnokiselinskog sastava u odnosu na jetru i mišićno tkivo te visok udio fosfolipida i višestruko nezasićenih masnih kiselina važnih za održavanje funkcije živčanog tkiva.

Ukupno gledano, rezultati ovog istraživanja upućuju na to da je masnokiselinski sastav mozga u obje istraživane vrste relativno stabilan i strogo reguliran, s ograničenim međuvrsnim razlikama. Takav obrazac razlikuje mozak od jetre i masnog tkiva, u kojima su međuvrsne razlike bile znatno izraženije, te potvrđuje važnost funkcionalne kontrole lipidnog sastava živčanog tkiva.

6.3. Vrstno specifične razlike u masnokiselinskom sastavu i njihova moguća funkcionalna uloga

Najveći broj značajnih razlika u ovom istraživanju odnosio se na međuvrsne razlike u pojedinim masnim kiselinama i pripadajućim omjerima, pri čemu je učinak vrste bio tkivno specifičan i najizraženiji u jetri i masnom tkivu. Razlike između lokaliteta nisu bile izražene, dok su spolne razlike u masnokiselinskom sastavu bile ograničene na pojedine pokazatelje u jetri. Budući da su jedinke tijekom eksperimentalnog razdoblja bile hranjene istovjetnom prehranom i držane u jednakim uvjetima, utvrđene razlike vjerojatno odražavaju inherentne

fiziološke i metaboličke karakteristike vrsta. Sličan obrazac tkivno-specifičnog masnokiselinskog sastava opisan je i kod guštera *Phrynocephalus przewalskii*, pri čemu su razlike među tkivima bile izraženije od promjena uzrokovanih okolišnim uvjetima (SHEN i sur., 2005.).

U istraživanju SHEN i sur. (2005.) jetra i mišić pokazivali su visoke udjele PUFA, dok su srce i mozak sadržavali veće udjele MUFA, osobito oleinske kiseline (C18:1n-9). U svim analiziranim tkivima dominantne masne kiseline bile su palmitinska (C16:0), stearinska (C18:0), oleinska (C18:1n-9) i linolna (C18:2n-6) kiselina, što je u skladu i s rezultatima ovog istraživanja. Autori su također pokazali da smanjenje okolišne temperature dovodi do povećanja stupnja nezasićenosti membranskih lipida, pri čemu se povećavaju udjeli MUFA i PUFA te vrijednosti UFA/SFA omjera, što je povezano s održavanjem membranske fluidnosti u uvjetima nižih temperatura.

U jetri i masnom tkivu u ovom istraživanju u vrste *P. melisellensis* utvrđen je viši udio SFA, dok je u *P. siculus* utvrđen viši udio PUFA i n-6 masnih kiselina, više vrijednosti omjera UFA/SFA i PUFA/SFA te viši indeks desaturacije SCDi18 (Slika 10. i Tablice 8. i 9.). U masnom tkivu obrazac međuvrsta razlika bio je djelomično drukčiji: *P. siculus* je imala viši udio MUFA, viši omjer UFA/SFA i viši SCDi18, dok je *P. melisellensis* imala viši ukupni udio SFA i viši omjer n-6/n-3 (Tablica 9.). Takav raspored upućuje na tkivno specifično viši stupanj nezasićenosti kod vrste *P. siculus*, osobito u jetri i masnom tkivu. Sličnu povezanost višeg stupnja nezasićenosti s fiziološkom prilagodbom opisali su i SHEN i sur. (2005.), koji navode da povećani udio nezasićenih masnih kiselina doprinosi održavanju funkcionalnih svojstava membrana u promjenjivim okolišnim uvjetima.

Viši udio nezasićenih masnih kiselina često se povezuje s većom fleksibilnošću lipidnih membrana i potencijalno većom metaboličkom prilagodljivošću organizma, što može olakšati prilagodbu promjenama temperature i energetske zahtjeva (HAZEL i WILLIAMS, 1990.; HULBERT, 2008.). S druge strane, viši udio SFA, kakav je zabilježen kod *P. melisellensis* u jetri i masnom tkivu, može biti povezan sa stabilnijom i kemijski otpornijom organizacijom membranskih lipida te manjom podložnošću lipidnoj peroksidaciji (PAMPLONA i sur., 2002.). Razlike u desaturaznim indeksima dodatno podupiru mogućnost da se vrste razlikuju u regulaciji sinteze i remodeliranja masnih kiselina. Viši SCDi18 indeks u jetri i masnom tkivu vrste *P. siculus* upućuju na potencijalno veću konverziju SFA u MUFA, što može doprinositi povećanoj fluidnosti membrana i metaboličkoj dinamici lipida (NTAMBI i MIYAZAKI, 2004.; BEHROUZIAN i sur., 2002.).

U mozgu su međuvrsne razlike bile manje izražene nego u jetri i masnom tkivu, što je u skladu s rezultatima SHEN i sur. (2005.), koji su također pokazali relativno stabilan lipidni sastav moždanog tkiva u usporedbi s ostalim analiziranim tkivima. U njihovom istraživanju moždano tkivo bilo je bogato DHA (22:6n-3), dok su promjene u stupnju nezasićenosti bile manje izražene nego u perifernim tkivima. Autori navode da takav sastav odražava važnost održavanja membranskih svojstava neurona i stabilnosti živčanog tkiva. Slično tome, i u ovom istraživanju mozak obje vrste pokazivao je relativno visok udio PUFA, osobito n-3 masnih kiselina, te niži omjer n-6/n-3 u odnosu na ostala tkiva. Jedina značajna međuvrsna razlika u mozgu odnosila se na niži SCDi18 kod vrste *P. siculus*, dok ukupni masnokiselinski profil mozga nije pokazao izraženo međuvrsno razdvajanje.

U širem ekološkom kontekstu, uočene razlike mogu biti povezane s razlikama u fiziološkoj fleksibilnosti i sposobnosti prilagodbe okolišnim uvjetima. Vrsta *P. siculus* poznata je po izraženoj ekološkoj plastičnosti i uspješnom širenju izvan prirodnog areala rasprostranjenosti te se u brojnim područjima smatra invazivnom vrstom (OSKYRKO i sur., 2022.). Iako se izravna povezanost između lipidnog sastava i invazivnog potencijala ne može potvrditi na temelju ovog istraživanja, povećani stupanj nezasićenosti lipida u jetri i masnom tkivu te viši udio UFA mogu predstavljati jednu od fizioloških karakteristika povezanih s većom prilagodljivošću promjenjivim okolišnim uvjetima.

Ukupno gledano, rezultati ovog istraživanja upućuju na to da se *P. melisellensis* i *P. siculus* razlikuju u obrascima lipidnog metabolizma i organizaciji membranskih lipida. Dok *P. melisellensis* pokazuje stabilniji i zasićeniji lipidni profil, *P. siculus* karakterizira viši stupanj nezasićenosti, osobito u jetri i masnom tkivu, što može biti povezano s većom metaboličkom fleksibilnošću i prilagodljivošću okolišnim promjenama.

6.4. Integrativna interpretacija tkivnih obrazaca masnokiselinskog sastava

Analiza masnokiselinskog sastava različitih tkiva pokazala je dosljednu tkivno-specifičnu organizaciju lipida, pri čemu su razlike između vrsta bile izraženije u metabolički aktivnim i skladišnim tkivima, poput jetre i masnog tkiva. U srcu su je zabilježen manji broj međuvrsnih značajnih razlika, dok u mišićnom tkivu nisu utvrđene značajne razlike u grupiranim pokazateljima masnokiselinskog sastava. U mozgu je varijabilnost bila dodatno ograničena, što upućuje na strožu funkcionalnu kontrolu lipidnog sastava živčanog tkiva. Takva raspodjela upućuje na to da se međuvrsne razlike primarno očituju u regulaciji lipidnog

metabolizma i energetske rezervi, dok funkcionalno specijalizirana tkiva, poput živčanog i mišićnog tkiva, održavaju stabilniji lipidni sastav. Jetra i masno tkivo pritom pokazuju veću metaboličku dinamiku jer sudjeluju u procesima sinteze, pohrane, mobilizacije i preraspodjele masnih kiselina, zbog čega su promjene u sastavu lipida u tim tkivima izraženije (SHEN i sur., 2005.; HULBERT, 2008., Tablice 8. i 9.).

U jetri je kod vrste *P. siculus* utvrđen viši stupanj nezasićenosti lipida, uključujući viši udio PUFA i n-6 PUFA te više vrijednosti UFA/SFA i PUFA/SFA omjera, dok je kod vrste *P. melisellensis* zabilježen viši udio SFA. U masnom tkivu obrazac je također upućivao na veću nezasićenost kod vrste *P. siculus*, ali ponajprije kroz viši udio MUFA, viši omjer UFA/SFA i viši indeks SCDi18, uz niži ukupni udio SFA (Slika 10. i Slika 12.). Takva raspodjela sugerira potencijalno različite metaboličke profile između vrsta. Profil obilježen većom nezasićenošću može biti povezan s većom fleksibilnošću lipidnih membrana i potencijalno bržom metaboličkom prilagodbom organizma, osobito u uvjetima promjenjivih energetske i temperaturnih zahtjeva (HAZEL i WILLIAMS, 1990.; HULBERT, 2008.; SHEN i sur., 2005.). S druge strane, viši udio SFA može pridonositi većoj strukturnoj stabilnosti lipida i manjoj podložnosti oksidativnim oštećenjima, budući da su SFA manje osjetljive na lipidnu peroksidaciju od PUFA (PAMPLONA i sur., 2002.; NAKAMURA i sur., 2019.).

Kod ektotermnih kralježnjaka stupanj nezasićenosti membranskih lipida često se povezuje s prilagodbom metaboličkim i okolišnim izazovima, pri čemu fino podešavanje omjera SFA i UFA predstavlja važan regulator fiziološke fleksibilnosti (HAZEL i WILLIAMS, 1990.; SHEN i sur., 2005.). Iako u ovom istraživanju okolišni čimbenici nisu bili eksperimentalno manipulirani, činjenica da su obje vrste analizirane na istim lokalitetima i pod istim prehranbenim uvjetima upućuje na to da uočene razlike vjerojatno proizlaze iz intrinzičnih bioloških svojstava vrsta. Slična opažanja opisana su i u drugim istraživanjima kralježnjaka, gdje su razlike u lipidnom sastavu tkiva zabilježene unatoč ujednačenim uvjetima hranidbe i držanja, što upućuje na važnost genetski i fiziološki uvjetovanih mehanizama regulacije lipidnog metabolizma (MALDONADO i sur., 2002.; SHEN i sur., 2005.).

Relativna stabilnost moždanog lipidnog sastava dodatno potvrđuje da se funkcionalno kritična tkiva održavaju unutar uskog raspona varijabilnosti, dok se veća plastičnost očituje u jetri i depo tkivu, gdje su procesi sinteze, elongacije i desaturacije masnih kiselina metabolički najaktivniji.

Ukupno gledano, rezultati ukazuju na to da se dvije vrste razlikuju u stupnju regulacije zasićenosti lipida, pri čemu *P. siculus* pokazuje izraženiji stupanj nezasićenosti u jetri i masnom tkivu te djelomično u srcu, dok *P. melisellensis* u jetri i masnom tkivu pokazuje zasićeniji lipidni profil. Takva raspodjela može imati implikacije na metaboličku dinamiku, energetske strategije i otpornost na oksidativne procese, što zahtijeva daljnju interpretaciju u kontekstu pokazatelja oksidativnog stresa.

6.5. Međuvrsne razlike u enzimskim antioksidansima

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je aktivnost enzimskog antioksidansa glutathion peroksidaze (GSH-Px) u jetri i mišićnom tkivu bila viša kod vrste *P. melisellensis* u usporedbi s vrstom *P. siculus*, dok je aktivnost superoksid-dismutaze (SOD) bila viša kod vrste *P. melisellensis* samo u jetri (Slika 14.). Ovi enzimi predstavljaju ključne komponente antioksidativnog obrambenog sustava: SOD katalizira dismutaciju superoksidnog radikala u vodikov peroksid, dok GSH-Px sudjeluje u njegovoj daljnjoj redukciji i time sprječava nastanak oksidativnih oštećenja staničnih struktura (HERMES-LIMA i STOREY, 1993., HALLIWELL, 1999.). Zbog njihove funkcionalne povezanosti, aktivnosti ovih enzima često su međusobno povezane te zajedno odražavaju učinkovitost enzimskog antioksidativnog sustava u neutralizaciji reaktivnih kisikovih spojeva.

Slična povezanost između aktivnosti SOD i GSH-Px opisana je i u drugim istraživanjima na gmazovima, gdje povećana aktivnost jednog antioksidativnog enzima često prati povećanu aktivnost drugih enzima kao dio koordiniranog odgovora organizma na oksidativne procese (HERMES-LIMA i STOREY, 1993.; ZHANG i sur., 2015.). Zhang i sur. (2015.) istraživali su oksidativni status kod guštera vrste *Phrynocephalus vlangalii* iz populacija različite nadmorske visine te su utvrdili izraženu tkivnu specifičnost antioksidativnog odgovora. U njihovom istraživanju mozak i jetra pokazivali su veću otpornost na oksidativni stres i stabilnije vrijednosti antioksidativnih pokazatelja, dok je mišićno tkivo pokazivalo višu razinu lipidne peroksidacije i smanjenu aktivnost pojedinih antioksidativnih enzima pri višoj nadmorskoj visini. Autori su zaključili da različita tkiva imaju različitu sposobnost prilagodbe oksidativnim izazovima, što odražava njihove specifične metaboličke funkcije i energetske aktivnosti. Slično tome, i u ovom istraživanju utvrđene su razlike u antioksidativnim pokazateljima između analiziranih tkiva i vrsta, pri čemu su vrijednosti SOD i GSH-Px pokazivale međusobno povezane obrasce promjena. Također je poznato da se

aktivnosti antioksidativnih enzima mogu značajno razlikovati između vrsta, populacija i okolišnih uvjeta, što odražava razlike u metabolizmu, razini aktivnosti i fiziološkoj regulaciji oksidativnog stresa (COSTANTINI, 2008.; SPEAKMAN i SELMAN, 2015.; RITCHIE i FRIESEN, 2022.).

Prethodno istraživanje provedeno na tkivu vrste *P. siculus* pokazalo je snažnu povezanost aktivnosti GSH-Px i SOD, što potvrđuje važnu ulogu ovih enzima u održavanju redoks ravnoteže i antioksidativne obrane kod gmazova (SHEK i sur., 2025.). Povišene aktivnosti ovih enzima kod vrste *P. melisellensis* u ovom istraživanju stoga mogu ukazivati na izraženiji enzimski antioksidativni odgovor, što može odražavati veću početnu proizvodnju reaktivnih kisikovih spojeva, ali i učinkovitiju aktivaciju mehanizama antioksidativne obrane u usporedbi s vrstom *P. siculus*.

Takva raspodjela može upućivati na razlike u regulaciji oksidativno-redukcijskih procesa između vrsta, budući da promjene u stvaranju reaktivnih kisikovih spojeva i aktivnosti antioksidativnih enzima predstavljaju međusobno povezane komponente sustava antioksidativne obrane (MONAGHAN i sur., 2009.; SPEAKMAN i SELMAN, 2015.).

6.6. Neenzimski antioksidativni kapacitet i oksidativno oštećenje

Za razliku od aktivnosti enzimskih antioksidansa, rezultati ovog istraživanja pokazali su da je biološki antioksidativni potencijal (BAP) bio viši kod vrste *P. siculus* u jetri i mišićnom tkivu u usporedbi s vrstom *P. melisellensis* (Slika 14.). Biološki antioksidativni potencijal predstavlja mjeru ukupnog neenzimskog antioksidativnog kapaciteta organizma te uključuje djelovanje različitih antioksidativnih molekula, poput mokraćne kiseline, bilirubina, vitamina i drugih redukcijskih spojeva koji sudjeluju u neutralizaciji reaktivnih kisikovih spojeva (KILK i sur., 2014.). Za razliku od enzimskih antioksidansa, koji djeluju unutar specifičnih metaboličkih putova, neenzimski antioksidansi predstavljaju širi kemijski obrambeni sustav koji može relativno brzo reagirati na promjene u redoks ravnoteži organizma (COSTANTINI, 2008.; HALLIWELL i GUTTERIDGE, 2015.). U istraživanjima na različitim skupinama kralježnjaka pokazano je da povećane vrijednosti ukupnog antioksidativnog kapaciteta mogu odražavati višu bazalnu razinu antioksidativne zaštite ili veću dostupnost antioksidativnih molekula u tkivima i tjelesnim tekućinama (MONAGHAN i sur., 2009.; SPEAKMAN i SELMAN, 2015.). U kontekstu ovog istraživanja, viši BAP u jetri i mišićnom tkivu vrste *P.*

siculus može upućivati na veći doprinos neenzimskih antioksidativnih mehanizama u održavanju redoks ravnoteže.

U ovom istraživanju koncentracija d-ROM, koji predstavljaju pokazatelj oksidativnog oštećenja biomolekula (KAWAI i sur., 2021.), nisu bile značajno različite između vrsta. Slične rezultate su dobili ZHANG i sur. (2015.), koji su istraživali oksidativni status guštera vrste *Phrynocephalus vlangalii* iz populacija različite nadmorske visine te su utvrdili značajne promjene pojedinih antioksidativnih pokazatelja, uključujući aktivnosti antioksidativnih enzima i ukupni antioksidativni kapacitet, dok razine oksidativnog oštećenja nisu pokazivale jednako izražene promjene u svim tkivima. U njihovom istraživanju koncentracija malondialdehida, kao pokazatelja lipidne peroksidacije, nije se razlikovala u jetri između populacija, unatoč promjenama pojedinih komponenti antioksidativnog sustava. Autori su zaključili da prilagodbe antioksidativne obrane mogu omogućiti održavanje oksidativnog oštećenja na relativno stabilnoj razini unatoč promjenama okolišnih uvjeta i metaboličkih zahtjeva. Slično tome, i u ovom istraživanju razlike u aktivnostima antioksidativnih enzima i biološkom antioksidativnom potencijalu nisu bile praćene odgovarajućim razlikama u vrijednostima d-ROM-a. Takav nalaz može upućivati na učinkovitu regulaciju redoks ravnoteže, pri čemu promjene u jednoj komponenti antioksidativnog sustava bivaju kompenzirane aktivacijom drugih zaštitnih mehanizama te se razina oksidativnog oštećenja održava unutar relativno uskog raspona vrijednosti (COSTANTINI, 2008.; SPEAKMAN i SELMAN, 2015.).

Integrirani pokazatelj oksidativnog stresa, izražen kao omjer d-ROM/BAP (OSi), također u većini analiziranih slučajeva nije pokazao značajne razlike između vrsta (Slika 15.). Ovakav rezultat sugerira da, unatoč razlikama u pojedinim komponentama antioksidativnog sustava, ukupna ravnoteža između prooksidativnih i antioksidativnih procesa ostaje relativno stabilna. Slični obrasci opisani su u brojnim istraživanjima na kralježnjacima, gdje različite komponente antioksidativne obrane, uključujući enzimske i neenzimske antioksidanse, mogu djelovati komplementarno i međusobno se nadopunjavati u održavanju funkcionalne redoks ravnoteže organizma (COSTANTINI, 2008.; SPEAKMAN i SELMAN, 2015.). U tom kontekstu, rezultati ovog istraživanja sugeriraju da dvije istraživane vrste mogu koristiti različite strategije antioksidativne zaštite, pri čemu se razlike u pojedinim komponentama sustava ne odražavaju nužno na ukupnu razinu oksidativnog oštećenja.

6.7. Integrativna interpretacija oksidativnog statusa i potencijalne fiziološke implikacije

Usporedba rezultata enzimskih i neenzimskih komponenti antioksidativnog sustava u ovom istraživanju ukazuje na razlike u obrascima antioksidativne obrane između vrsta *P. melisellensis* i *P. siculus*. Kod vrste *P. melisellensis* zabilježena je viša aktivnost GSH-Px u jetri i mišićnom tkivu te viša aktivnost SOD u jetri, dok su kod vrste *P. siculus* utvrđene više vrijednosti BAP-a u oba analizirana tkiva (Slika 14.). Takav obrazac sugerira da se održavanje redoks ravnoteže kod istraživanih vrsta može temeljiti na različitom relativnom doprinosu enzimskih i neenzimskih komponenti antioksidativnog sustava. Sličan koncept opisan je i kod visokoplaninskog guštera *Phrynocephalus vlangalii*, kod kojeg su ZHANG i sur. (2015.) utvrdili da se promjene aktivnosti antioksidativnih enzima ne odvijaju nužno paralelno s promjenama ukupnog antioksidativnog kapaciteta. Njihovi rezultati pokazali su izraženu tkivnu specifičnost antioksidativnog odgovora te različit doprinos pojedinih komponenti antioksidativnog sustava u održavanju redoks ravnoteže. U skladu s time, rezultati ovog istraživanja upućuju na mogućnost da se vrste *P. melisellensis* i *P. siculus* razlikuju u relativnom oslanjanju na enzimске i neenzimske mehanizme antioksidativne obrane, pri čemu obje strategije mogu učinkovito doprinositi održavanju stabilnog oksidativnog statusa tkiva. Slične razlike u strategijama regulacije oksidativnog stresa opisane su i kod drugih kralježnjaka, gdje različite vrste mogu koristiti različite kombinacije antioksidativnih mehanizama kako bi održale stabilnu redoks ravnotežu u organizmu (COSTANTINI, 2008.; MONAGHAN i sur., 2009.; SPEAKMAN i SELMAN, 2015.).

Važno je naglasiti da povećana aktivnost antioksidativnih enzima ne mora nužno značiti bolju antioksidativnu zaštitu, već može predstavljati kompenzacijski odgovor na povećanu proizvodnju reaktivnih kisikovih spojeva u tkivima (COSTANTINI, 2008.; MONAGHAN i sur., 2009.). Takav obrazac opisan je i kod visokoplaninskog guštera *Phrynocephalus vlangalii*, kod kojeg su ZHANG i sur. (2015.) utvrdili povećane aktivnosti pojedinih antioksidativnih enzima i drugih komponenti antioksidativnog sustava u uvjetima hipoksije i na većim nadmorskim visinama, što su autori protumačili kao prilagodbeni odgovor na povećani oksidativni izazov.

U tom kontekstu, viša aktivnost GSH-Px u jetri i mišićnom tkivu te viša aktivnost SOD u jetri vrste *P. melisellensis* mogu upućivati na intenzivniju proizvodnju reaktivnih kisikovih spojeva ili na snažniju aktivaciju enzimskih mehanizama obrane od oksidativnog stresa. S druge strane, viši ukupni antioksidativni kapacitet zabilježen kod vrste *P. siculus* može ukazivati na

veći doprinos neenzimskih antioksidansa u održavanju redoks ravnoteže. Slični obrasci opisani su i kod drugih kralježnjaka, gdje povećani ukupni antioksidativni kapacitet može omogućiti učinkovitu neutralizaciju reaktivnih kisikovih spojeva bez potrebe za izrazitom aktivacijom enzimskih antioksidativnih sustava (COSTANTINI, 2014.; SPEAKMAN i SELMAN, 2015.).

Takvi rezultati mogu biti povezani s razlikama u fiziološkoj organizaciji antioksidativnog sustava između vrsta. Međutim, budući da u ovom istraživanju nisu izravno mjereni metabolička aktivnost, stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva niti pojedinačne neenzimske antioksidativne molekule, navedene interpretacije treba promatrati kao potencijalna objašnjenja uočenih obrazaca, a ne kao izravno potvrđene mehanizme.

6.8. Integrativna interpretacija lipidnog metabolizma i oksidativnog statusa u kontekstu ekoloških strategija vrsta

Kada se rezultati masnokiselinskog sastava tkiva promatraju zajedno s pokazateljima oksidativnog statusa, uočava se obrazac međuvrsnih razlika između istraživanih guštera koji je izražen ponajprije u metabolički aktivnim i skladišnim tkivima. Kod vrste *P. siculus* utvrđen je viši stupanj nezasićenosti lipida u jetri i masnom tkivu, pri čemu je u jetri bio izražen viši udio PUFA i n-6 PUFA te više vrijednosti UFA/SFA i PUFA/SFA omjera, dok su u masnom tkivu bile izraženije više vrijednosti MUFA, UFA/SFA i SCDi18. Kod vrste *P. melisellensis* u istim je tkivima zabilježen viši ukupni udio SFA. Istodobno, kod vrste *P. melisellensis* utvrđena je viša aktivnost GSH-Px u jetri i mišićnom tkivu te viša aktivnost SOD u jetri, dok su kod vrste *P. siculus* zabilježene više vrijednosti BAP-a u jetri i mišićnom tkivu (Slika 11. i 15.).

Takav obrazac upućuje na mogućnost da se istraživane vrste razlikuju u relativnom doprinosu pojedinih sastavnica antioksidativnog sustava održavanju redoks ravnoteže. Kod vrste *P. melisellensis* veći značaj mogu imati enzimske mehanizmi obrane, dok kod vrste *P. siculus* važniju ulogu mogu imati neenzimske antioksidativne komponente. Zanimljivo je da se ove razlike nisu odrazile na vrijednosti d-ROM-a, koje u većini slučajeva nisu pokazivale značajne međuvrsne razlike. To upućuje na zaključak da obje vrste, unatoč razlikama u organizaciji antioksidativnog sustava, uspješno održavaju oksidativno oštećenje biomolekula unutar sličnog raspona vrijednosti.

Takav nalaz ukazuje da međuvrsne razlike nisu nužno povezane s različitom razinom oksidativnog stresa, već prije s različitim načinima njegove regulacije. U tom kontekstu rezultati sugeriraju postojanje različitih fizioloških obrazaca održavanja redoks homeostaze, pri

čemu obje vrste postižu sličan krajnji rezultat – očuvanje stabilnog oksidativnog statusa tkiva – korištenjem djelomično različitih metaboličkih i antioksidativnih mehanizama.

U širem ekološkom kontekstu, utvrđene razlike u masnokiselinskom sastavu i oksidativnom statusu mogu odražavati različite fiziološke strategije kojima istraživane vrste održavaju funkcionalnu stabilnost organizma. Vrsta *P. siculus* poznata je po izraženoj ekološkoj plastičnosti i uspješnom širenju izvan prirodnog areala rasprostranjenosti, zbog čega se u mnogim područjima smatra invazivnom vrstom (OSKYRKO i sur., 2022.). Iako rezultati ovog istraživanja ne omogućuju izravno povezivanje pojedinih fizioloških pokazatelja s invazivnim potencijalom vrste, zanimljivo je da su slične povezanosti između antioksidativne zaštite i ekološkog uspjeha opisane i kod drugih organizama. Tako su PAVÍA i sur. (2026.) pokazali da invazivna vrsta puža *Pomacea canaliculata* posjeduje snažniji enzimski i neenzimski antioksidativni sustav te višu sposobnost toleriranja povišenih razina reaktivnih kisikovih spojeva u usporedbi s blisko srodnom neinvazivnom vrstom *Pomacea scalaris*, što su autori povezali s većom fiziološkom otpornošću i sposobnošću prilagodbe novim okolišnim uvjetima.

U ovom istraživanju u *P. siculus* utvrđen je viši stupanj nezasićenosti lipida u jetri i masnom tkivu te više vrijednosti neenzimskog antioksidativnog kapaciteta u jetri i mišićnom tkivu, dok je u *P. melisellensis* utvrđen izraženija enzimsku komponenta antioksidativnog odgovora. Istodobno, izostanak dosljednih razlika u pokazateljima oksidativnog oštećenja između vrsta upućuje na to da obje vrste uspješno održavaju redoks ravnotežu, ali potencijalno različitim fiziološkim mehanizmima. Takvi rezultati sugeriraju da razlike u organizaciji lipidnog metabolizma i antioksidativnog sustava mogu predstavljati dio šireg skupa fizioloških obilježja koja doprinose prilagodbi organizma okolišnim izazovima. Međutim, za potvrdu njihove uloge u ekološkoj uspješnosti i adaptivnom potencijalu istraživanih vrsta potrebna su dodatna istraživanja koja bi uključila veći broj populacija, različite okolišne uvjete te funkcionalne pokazatelje metaboličke aktivnosti.

6.10. Ograničenja istraživanja i smjernice za buduća istraživanja

Prilikom interpretacije dobivenih rezultata potrebno je uzeti u obzir određena ograničenja ovog istraživanja. Iako su sve jedinice tijekom istraživanja držane u ujednačenim uvjetima i hranjene istom prehranom, takav eksperimentalni pristup istodobno ograničava mogućnost izravnog ekstrapoliranja rezultata na prirodne populacije, koje su tijekom života izložene promjenjivim okolišnim uvjetima, sezonskim promjenama i razlikama u dostupnosti

hrane. Stoga dobiveni rezultati prvenstveno odražavaju intrinzične fiziološke razlike između istraživanih vrsta u kontroliranim uvjetima.

Dodatno, u ovom istraživanju korišteni su indirektni pokazatelji lipidnog metabolizma i oksidativnog statusa, uključujući masnokiselinski sastav tkiva, aktivnosti enzima GSH-Px i SOD, BAP te d-ROM. Iako navedeni pokazatelji pružaju vrijedan uvid u fiziološko stanje organizma, oni ne omogućuju izravno mjerenje metaboličkih procesa, stvaranja reaktivnih kisikovih spojeva niti molekularnih mehanizama koji reguliraju lipidni metabolizam i antioksidativnu obranu. Također, istraživanje je provedeno na jedinkama prikupljenima s ograničenog broja lokaliteta, zbog čega je mogućnost generalizacije rezultata na cjelokupne populacije istraživanih vrsta djelomično ograničena.

Buduća istraživanja trebala bi uključiti veći broj populacija i lokaliteta te istraživanja provedena u prirodnim uvjetima tijekom različitih sezonskih razdoblja. Dodatni uvid u mehanizme koji povezuju lipidni metabolizam i oksidativni status mogli bi pružiti pokusi manipulacije prehranom i temperaturom, kao i primjena izravnijih pokazatelja oksidativnog oštećenja, poput određivanja koncentracije malondialdehida ili drugih produkata lipidne peroksidacije. Nadalje, uključivanje molekularnih analiza, poput određivanja ekspresije gena uključenih u metabolizam masnih kiselina i antioksidativnu obranu, omogućilo bi bolje razumijevanje mehanizama koji stoje u podlozi uočenih međuvrskih razlika.

7. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja mogu se donijeti sljedeći zaključci:

1. Masnokiselinski sastav analiziranih tkiva pokazuje izraženu tkivnu specifičnost kod obje istraživane vrste guštera, pri čemu su međuvrsne razlike izraženije od razlika povezanih sa spolom i lokalitetom.
2. Najizraženije međuvrsne razlike u masnokiselinskom sastavu utvrđene su u jetri i masnom tkivu. Vrsta *P. melisellensis* pokazuje zasićeniji lipidni profil i višu procijenjenu aktivnost desaturacijskih procesa, dok vrsta *P. siculus* pokazuje viši stupanj nezasićenosti lipida što upućuje na veću membransku fluidnost. U jetri je taj obrazac bio obilježen višim udjelima PUFA i n-6 PUFA te višim vrijednostima omjera UFA/SFA i PUFA/SFA, dok su u masnom tkivu kod vrste *P. siculus* bile izraženije više vrijednosti MUFA, UFA/SFA i SCDi18 što može sugerirati različite strategije regulacije energetske rezervi.
3. U mišićnom tkivu, srcu i mozgu međuvrsne razlike u masnokiselinskom sastavu manje su izražene nego u jetri i masnom tkivu, što upućuje na veću stabilnost lipidnog sastava funkcionalno specijaliziranih tkiva.
4. Oksidativni status razlikuje se između istraživanih vrsta. U vrste *P. melisellensis* utvrđena je viša aktivnost GSH-Px u jetri i mišićnom tkivu te viša aktivnost SOD u jetri, dok je u vrste *P. siculus* utvrđen viši BAP u jetri i mišićnom tkivu, što upućuje na visoku mjeru ukupnog neenzimskog antioksidativnog kapaciteta tih organa.
5. Unatoč razlikama u antioksidativnom odgovoru, ukupno oksidativno opterećenje procijenjeno pomoću d-ROM i OSi pokazatelja uglavnom se ne razlikuje između istraživanih vrsta, što upućuje na učinkovito održavanje redoks ravnoteže različitim fiziološkim mehanizmima.
6. Međuvrsne razlike u stupnju nezasićenosti masnih kiselina praćene su razlikama u aktivnostima antioksidativnih enzima i biološkom antioksidativnom potencijalu, što upućuje na povezanost masnokiselinskog sastava tkiva i oksidativnog statusa u istraživanim vrstama guštera.
7. Dobiveni rezultati doprinose boljem razumijevanju povezanosti lipidnog metabolizma i oksidativnog statusa u gmazova te predstavljaju temelj za daljnja istraživanja fizioloških mehanizama prilagodbe u ektotermnih kralježnjaka.

8. LITERATURA

- ABEYRATHNE, E. D. N. S., K. NAM, X. HUANG, D. U. AHN (2022): Plant- and animal-based antioxidants' structure, efficacy, mechanisms, and applications: a review. *Antioxidants* 11, 1025.
- ABUELO, A., J. HERNANDEZ, J. L. BENEDITO, C. CASTILLO (2013): Oxidative stress index (OSi) as a new tool to assess redox status in dairy cattle during the transition period. *Animal* 7, 1374-1378.
- ADAMS, L., M. C. FRANCO, A. G. ESTEVEZ (2015): Reactive nitrogen species in cellular signaling. *Exp. Biol. Med.* 240, 711–717.
- AJTIC, R., W. BÖHME, P. LYMBERAKIS, J. CRNOBRNJA-ISAILOVIĆ, R. SINDACO (2009): *Podarcis melisellensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2009. International Union for Conservation of Nature, Gland, Switzerland.
- ALEKSIUK, M., K. W. STEWART (1971): Seasonal changes in the body composition of the garter snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*) at northern latitudes. *Ecology* 52, 485-490.
- ALVAREZ, J. G., J. C. TOUCHSTONE, L. BLASCO, B. T. STOREY (1987): Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa. Superoxide dismutase as major enzyme protectant against oxygen toxicity. *J. Androl.* 8, 338 - 348.
- ALVES, S. P., K. RAUNDRUP, A. CABO, R. J. B. BESSA, A. M. ALMEIDA (2015): Fatty acid composition of muscle, adipose tissue and liver from muskoxen (*Ovibos moschatus*) living in West Greenland. *PLoS One* 10, e0145241.
- ANDRÉS, C. M. C., J. M. PÉREZ DE LA LASTRA, C. ANDRÉS JUAN, F. J. PLOU, E. PÉREZ-LEBEÑA (2023): Superoxide anion chemistry—its role at the core of the innate immunity. *Int. J. Mol. Sci.* 24, 1841.
- ANGILLETTA, M. J. JR., P. H. NIEWIAROWSKI, C. A. NAVAS (2002): The evolution of thermal physiology in ectotherms. *J. Therm. Biol.* 27, 249–268.
- ARNOLD, E. N., O. ARRIBAS, S. CARRANZA (2007): Systematics of the Palaearctic and Oriental lizard tribe Lacertini (Squamata: Lacertidae: Lacertinae), with descriptions of eight new genera. *Zootaxa* 1430, 1–86.

ARNOLD, N., D. OVENDEN (2002): A field guide to the reptiles and amphibians of Britain and Europe. HarperCollins Publishers, London.

AVERY, R. A. (1970): Utilization of caudal fat by hibernating common lizards, *Lacerta vivipara*. Comp. Biochem. Physiol. B 37, 119-121.

AVERY, R. A., A. MYNOTT (1990): The effects of temperature on prey handling time in the common lizard, *Lacerta vivipara*. Amphibia-Reptilia 11, 111–122.

AVERY, R. A., D. J. BOND (1989): Movement patterns of lacertid lizards: effects of temperature on speed, pauses and gait in *Lacerta vivipara*. Amphibia-Reptilia 10, 77–84.

AYALA, A., M. F. MUÑOZ, S. ARGÜELLES (2014): Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxid. Med. Cell. Longev., 360438.

BAGARDI, M., M. ORLANDI, F. CERRI, G. ZAGO, E. GIACOMETTI, G. BERTI, F. SPADOLA, M. VIGNOLI (2021): Two-dimensional and doppler echocardiographic evaluation in twenty-one healthy *Python regius*. Veterinary Medicine and Science 7, 1006–1014.

BATES, D., M. MÄCHLER, B. BOLKER, S. WALKER (2015): Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. Stat. Softw.* 67, 1–48.

BEHROUZIAN, B., C. K. SAVILE, B. DAWSON, P. H. BUIST, J. SHANKLIN (2002): Exploring the hydroxylation-dehydrogenation connection: Novel catalytic activity of castor stearyl-ACP $\Delta 9$ desaturase. *J. Am. Chem. Soc.* 124, 3277–3283.

BEJAKOVIĆ, D., M. L. KALEZIĆ, I. ALEKSIĆ, G. DŽUKIĆ, J. CRNOBRNJA-ISAILOVIĆ (1995): Female reproductive cycle and clutch traits in the Dalmatian wall lizard (*Podarcis melisellensis*). *Folia Zool.* 44, 371–380.

BENZIE, I. F. F., J. J. STRAIN (1996): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239, 70-76.

BENJAMINI, Y., Y. HOCHBERG (1995): Controlling the false discovery rate: A practical and powerful approach to multiple testing. *J. R. Stat. Soc. B* 57, 289–300.

BERG, J. M., J. L. TYMOCZKO, L. STRYER (2013): Lipidi i stanične membrane. U: Biokemija (G. BUKAN, ur.). Školska knjiga, Zagreb, 326–350.

- BIAGGINI, M., R. BERTI, C. CORTI (2010): Different habitats, different pressures? Analysis of escape behaviour and ectoparasite load in *Podarcis sicula* (Lacertidae) populations in different agricultural habitats. *Amphib.-Reptil.* 30, 453–461.
- BISHOP, P. J., M. WRIGHT, S. E. PIERCE (2021): Whole-limb scaling of muscle mass and force-generating capacity in amniotes. *PeerJ* 9, e12574.
- BLACKBURN, T. M., P. PYŠEK, S. BACHER, J. T. CARLTON, R. P. DUNCAN, V. JAROŠÍK, J. R. U. WILSON, D. M. RICHARDSON (2011): A proposed unified framework for biological invasions. *Trends Ecol. Evol.* 26, 333–339.
- BLAIR, T. A., A. CREE, C. M. SKEAFF, N. M. GRIMMOND (2000): Physiological effects of a fish oil supplement on captive juvenile tuatara (*Sphenodon punctatus*). *Physiol. Biochem. Zool.* 73(2), 177–191.
- BOROVAC ŠTEFANOVIĆ, L. (2015): Sadržaj lipida i sastav masnih kiselina u serumu hrvatskih veterana oboljelih od post-traumatskoga stresnoga poremećaja. PhD Thesis, University of Zagreb, Zagreb, Croatia.
- BOTHAM, K. M., P. A. MAYES (2011): Biosinteza masnih kiselina i eikozanoida. In: *Harperova ilustrirana enciklopedija* (K. R. MURRAY, A. BENDER, K. M. BOTHAM, P. J. KENNELLY, V. W. RODWELL, P. WEIL, eds), Medicinska naklada, Zagreb, 112–124.
- BRIAN, B. L., F. G. GAFFNEY, L. C. FITZPATRICK, V. E. SCHOLLES (1972): Fatty acid distribution of lipids from carcass, liver and fat bodies of the lizard, *Cnemidophorus tigris*, prior to hibernation. *Comp. Biochem. Physiol. B* 41, 661–664.
- BRIGELIUS-FLOHÉ, R., M. MAIORINO (2013): Glutathione peroxidases. *Biochim. Biophys. Acta* 1830, 3289–3303.
- BRITO, M. (2010): Conservation biology for all. Oxford University Press, Oxford.
- BRODIN, T., M. I. LIND, M. K. WIBERG, F. JOHANSSON (2013): Personality trait differences between mainland and island populations in the common frog (*Rana temporaria*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 67, 135–143.
- BROWN, R. P., V. PEREZ-MELLADO (1994): Ecological energetics and food acquisition in dense Menorcan islet populations of the lizard *Podarcis lilfordi*. *Funct. Ecol.* 8, 427–434.
- BULTE, G., G. BLOUIN-DEMERS (2006): Cautionary notes on the descriptive analysis of performance curves in reptiles. *J. Therm. Biol.* 31, 287–291.

- CAI, Q., L. GUO, H. GAO, X. LI (2013): Caveolar fatty acids and acylation of caveolin-1. *PLoS ONE* 8(4), e60884.
- CALDER, P. C. (2001): Omega-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *World Rev. Nutr. Diet* 88, 109-116.
- CAMPOS CHISTE, R., M. FREITAS, A. ZERLOTTI MERCADANTE, E. FERNANDES (2015): Superoxide anion radical: generation and detection in cellular and non-cellular systems. *Curr. Med. Chem.* 22, 4234–4256.
- CAPULA, M. (2002): Genetic evidence of natural hybridization between *Podarcis sicula* and *Podarcis tiliguerta* (Reptilia: Lacertidae). *Amphib.-Reptil.* 23, 313–321.
- CAPULA, M., L. LUISELLI, L. RUGIERO (1993): Comparative ecology in sympatric *Podarcis muralis* and *P. sicula* (Reptilia: Lacertidae) from the historical centre of Rome: What about competition and niche segregation in an urban habitat? *Boll. Zool.* 60, 287–291.
- CARRETERO, M. A. (2002): Sources of colour pattern variation in Mediterranean *Psammodromus algirus*. *Neth. J. Zool.* 52, 43–60.
- CARTLAND-SHAW, L. K., A. CREE, C. M. SKEAFF, N. M. GRIMMON (1998): Differences in dietary and plasma fatty acids between wild and captive populations of a rare reptile, the tuatara (*Sphenodon punctatus*). *J. Comp. Physiol. B* 168, 569-580.
- CASSEY, P., T. M. BLACKBURN, D. SOL, R. P. DUNCAN, J. L. LOCKWOOD (2004): Global patterns of introduction effort and establishment success in birds. *Proc. R. Soc. B* 271 (Suppl. 6), 405–408.
- CASTILLO, C., J. HERNANDEZ, A. BRAVO, M. LOPEZ-ALONSO, V. PEREIRA, J. L. BENEDITO (2005): Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *Vet. J.* 169, 286-292.
- CATALÁ, A. (2009): Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chem. Phys. Lipids* 157, 1-11.
- CAVALLO, P., F. VINALE, I. SEPE, G. GALASSO, F. L. FEDELE, A. SICARI, M. LORITO (2019): Reinforced olive pâté as a source of antioxidants with positive effects on young smokers. *Medicina* 55(10), 680.

- CHAPPLE, D. G., S. M. SIMMONDS, B. B. M. WONG (2011): Know when to run, know when to hide: can behavioral differences explain the divergent invasion success of two sympatric lizards? *Ecol. Evol.* 1, 278–289.
- CHAPPLE, D. G., S. M. SIMMONDS, B. B. M. WONG (2012): Can behavioral and personality traits influence the success of unintentional species introductions? *Trends Ecol. Evol.* 27, 57–64.
- CHAUDIERE, J., E. C. WILHELMSSEN, A. L. TAPPEL (1984): Mechanism of selenium-glutathione peroxidase and its inhibition by mercaptocarboxylic acids and other mercaptans. *J. Biol. Chem.* 259, 1043 - 1050.
- CHEN, J., H. LIU (2020): Nutritional indices for assessing fatty acids: A mini-review. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 5695.
- CHEN, L., J. DIAO, Z. TIAN, D. WANG, W. ZHANG, L. ZHANG, Z. WANG, Z. ZHOU, S. DI (2024): Gender-specific toxic effects of s-metolachlor and its metabolite on hibernating lizards: implications for reproductive health and ecosystem vulnerability. *Toxics* 12(11), 834.
- CHRISTIE, W. W., X. HAN (2010): Lipid analysis: Isolation, separation, identification and lipidomic analysis. 4th ed. The Oily Press, Bridgwater.
- CHURCH, G. (1962): The reproductive cycles of the Javanese house geckos, *Cosymbotus platyurus*, *Hemidactylus frenatus*, and *Peropus mutilatus*. *Copeia* 1962, 262-269.
- CLAUSS, M., C. GRUM, J. M. HATT (2007): Fatty acid status of captive wild animals: a review. *Zool. Gart.* 76, 382-401.
- CLINTON, B. K., C. L. CUNNINGHAM, A. R. KRIEGSTEIN, S. C. NOCTOR, V. MARTÍNEZ-CERDEÑO (2014): Radial glia in the proliferative ventricular zone of the embryonic and adult turtle, *Trachemys scripta elegans*. *Neurogenesis* 1(1), e970905.
- COLLI, G. R., D. O. MESQUITA, P. V. RODRIGUES, K. KITAYAMA (2003): Ecology of the gecko *Gymnodactylus geckoides amarali* in a Neotropical savanna. *J. Herpetol.* 37, 694–706.
- COLLOMB, M., A. SCHMID, R. SIEBER, D. WECHSLER, E. L. RYHÄNEN (2006): Conjugated linoleic acids in milk fat: Variation and physiological effects. *Int. Dairy J.* 16, 1347-1361.

- COOPER, W. E. JR. (1999): Tradeoffs between courtship, fighting, and antipredatory behavior by a lizard, *Eumeces laticeps*. Behav. Ecol. Sociobiol. 47, 54–59.
- CORTI, C., P. L. CASCIO (2002): The lizards of Italy and adjacent areas (Vol. 14). Edition Chimaira, Frankfurt am Main.
- COSTANTINI, D. (2008): Oxidative stress in ecology and evolution: lessons from avian studies. Ecol. Lett. 11, 1238–1251.
- COSTANTINI, D. (2014): Oxidative stress and hormesis in evolutionary ecology and physiology: a marriage between mechanistic and evolutionary approaches. Springer, Berlin, 362 pp.
- COSTANTINI, D., F. HELFENSTEIN (2017): Oxidative stress and signal honesty. Front. Ecol. Evol. 5, 32.
- ČVORIŠČEC, D., I. ČEPELAK (2009): Štrausova medicinska biokemija. Medicinska naklada, Zagreb.
- DAMAS-MOREIRA, I., J. L. RILEY, D. J. HARRIS, M. J. WHITING (2019): Can behaviour explain invasion success? A comparison between sympatric invasive and native lizards. Anim. Behav. 151, 195–202.
- DAMAS-MOREIRA, I., J. L. RILEY, M. A. CARRETERO, D. J. HARRIS, M. J. WHITING (2020): Getting ahead: exploitative competition by an invasive lizard. Behav. Ecol. Sociobiol. 74, 1–11.
- DASS, K., G. A. LEWBART, J. P. MUÑOZ-PÉREZ, M. I. YÉPEZ, A. LOYOLA, E. CHEN, D. PÁEZ-ROSAS (2021): Whole blood fatty acid concentrations in the San Cristóbal Galápagos tortoise (*Chelonoidis chathamensis*). PeerJ 9, e11582.
- DEAN, R. T., S. FU, R. STOCKER, M. J. DAVIES (1997): Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. Biochem. J. 324, 1 - 18.
- DERICKSON, W. K. (1976): Lipid storage and utilization in reptiles. Am. Zool. 16, 711–723.
- DEVASAGAYAM, T. P. A., J. C. TILAK, K. K. BOLOOR, K. S. SANE, S. S. GHASKADBI, R. D. LELE (2004): Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. J. Assoc. Physicians India, 52, 794–804.
- DOHI, K., K. MIYAMOTO, K. FUKUDA, S. NAKAMURA, M. HAYASHI, H. OHTAKI, S. SHIODA, T. ARUGA (2013): Status of systemic oxidative stress during therapeutic

hypothermia in patients with post-cardiac arrest syndrome. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2013, 1-8.

DONG, T., L. YU, D. GAO, X. YU, C. MIAO, Y. ZHENG, J. LIAN, T. LI, S. CHEN (2015): Direct quantification of fatty acids in wet microalgal and yeast biomass via a rapid *in situ* fatty acid methyl ester derivatization approach. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 99(23), 10237-10247.

DOS SANTOS, R. L., C. F. MARIZ JR., P. B. MASCARENHAS-JÚNIOR, R. S. L. BARBOZA, E. M. DOS SANTOS, J. M. DE SOUSA CORREIA, P. S. M. DE CARVALHO (2024): Nondestructive evaluation of metal bioaccumulation and biochemical biomarkers in blood of broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*) from Northeastern Brasil. *Environ. Toxicol. Chem.* 43, 878–895.

DOUGHTY, P., R. SHINE (1995): Life in two dimensions: natural history of the southern leaf-tailed gecko, *Phyllurus platurus*. *Herpetologica* 51, 193–201.

DOWNES, S., D. BAUWENS (2002): An experimental demonstration of direct behavioural interference in two Mediterranean lacertid lizard species. *Anim. Behav.* 63(6), 1037–1046.

EL-DEIB, S. (2005): Lipid changes in blood serum and tissues of the Egyptian cobra *Naja haje haje* during the hibernation cycle. *J. Therm. Biol.* 30, 51–59.

ENGEL, K., R. TOLLRIAN, J. M. JESCHKE (2011): Integrating biological invasions, climate change and phenotypic plasticity. *Commun. Integr. Biol.* 4, 247–250.

ETHERIDGE, K., L. C. WIT, J. C. SELLERS, S. E. TRAUTH (1986): Seasonal changes in reproductive condition and energy stores in *Cnemidophorus sexlineatus*. *J. Herpetol.* 20, 554-559.

FALCONE, C. (2022): Evolution of astrocytes: from invertebrates to vertebrates. *Front. Cell Dev. Biol.* 10, 931311.

FEI, Z., W. GAO, X. XU, H. SHENG, S. QU, R. CUI (2021): Serum superoxide dismutase activity: a sensitive, convenient, and economical indicator associated with the prevalence of chronic type 2 diabetic complications, especially in men. *Free Radic. Res.* 55(3), 275-281.

FOLCH, J., M. LEES, G. S. STANLEY (1957): A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497–509.

FORSTER, M. J., A. DUBEY, K. M. DAWSON, W. A. STUTTS, H. LAL, R. S. SOHAL (1996): Age-related losses of cognitive function and motor skills in mice are associated with

oxidative protein damage in the brain. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 93, 4765–4769.

FRIDOVICH, I. (1995): Superoxide radical and superoxide dismutases. Annu. Rev. Biochem. 64, 97 - 112.

FÜRST, P. (1996): The role of antioxidants in nutritional support. Proc. Nutr. Soc. 55, 945 - 961.

GAVRIĆ, J. P., M. D. PROKIĆ, S. G. DESPOTOVIĆ, B. R. GAVRILOVIĆ, T. B. RADOVANOVIĆ, S. BORKOVIĆ-MITIĆ, Z. S. SAIČIĆ (2015): Biomarkers of oxidative stress and acetylcholinesterase activity in the blood of grass snake (*Natrix natrix* L.) during prehibernation and posthibernation periods. Braz. Arch. Biol. Technol. 58(3), 443-453.

GIORDANO, M., D. COSTANTINI, J. L. PICK, B. TSCHIRREN (2015): Female oxidative status, egg antioxidant protection and eggshell pigmentation: a supplemental feeding experiment in great tits. Behav. Ecol. Sociobiol. 69, 777–785.

GIROTTI, A. W. (1998): Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. J. Lipid Res. 39, 1529 - 1542.

GLOGOŠKI, M. (2023): Behavioural traits of Italian wall lizard, *Podarcis siculus* (Rafinesque-Schmaltz, 1810). PhD Thesis, University of Zagreb, Zagreb, Croatia.

GLOGOŠKI, M., K. HOCENSKI, T. GOJAK, S. A. BLAŽEVIĆ, D. HRANILOVIĆ, D. LISIČIĆ (2024): Behavioural traits for success: comparison between two sympatric lacertid lizard species. Anim. Behav. 218, 263–273.

GORMAN, G. C., M. SOULÉ, S. Y. YANG, E. NEVO (1975): Evolutionary genetics of insular Adriatic lizards. Evolution 29, 52-71.

GRANO, M., C. CATTANEO, A. CATTANEO (2011): A case of cannibalism in *Podarcis siculus campestris* De Betta, 1857 (Reptilia, Lacertidae). Biodivers. J. 2, 151–152.

GRBAC, I., D. BAUWENS (2001): Constraints on temperature regulation in two sympatric *Podarcis* lizards during autumn. Copeia 1(1), 178–186.

GREENBERG, D. S., J. RAINEY, D. H. GIST (1984): Fatty acid composition of lizard tissue lipids and the effects of estradiol on serum free fatty acids. Comp. Biochem. Physiol. B 78, 151–155.

- GREENBERG, R., C. METTKE-HOFMANN (2001): Ecological aspects of neophobia and neophilia in birds. *Curr. Ornithol.* 16, 119–178.
- GREENE, H. W. (1969): Fat storage in females of an introduced lizard, *Hemidactylus turcicus*, from Texas. *Tex. J. Sci.* 21, 233-235.
- GREER, A. E. (1986): On the absence of visceral fat bodies within a major lineage of scincid lizards. *J. Herpetol.* 20, 267–269.
- GRUNDY, S., H. BREWER, J. CLEEMAN, S. SMITH, C. LENFANT (2004): Definition of the metabolic syndrome – report of the National Heart, Lung and Blood Institute/American Heart Association Conference on scientific issues related to definition. *Circ.* 109, 433-438.
- GUÉRAUD, F., M. ATALAY, N. BRESGEN, A. CIPAK, P. M. ECKL, L. HUC, I. JOUANIN, W. SIEMS, K. UCHIDA (2010): Chemistry and biochemistry of lipid peroxidation products. *Free Radical Res.* 44, 1098 - 1124.
- HADDAD, L. S. (2007): The role of lipids in the metabolic reorganization associated with seasonal dormancy in tegu lizards, *Tupinambis merianae* (Sauria, Teiidae). Doctoral Thesis, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.
- HALLIWELL, B. (1999): Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic. Res.* 31, 261–272.
- HALLIWELL, B., J. M. C. GUTTERIDGE (2015): Free radicals in biology and medicine. 5th ed. Oxford University Press, Oxford.
- HAMAZAKI, T., S. SAWAZAKI, M. ITOMURA, Y. NAGAO, A. THIENPRASERT, T. NAGASAWA, S. WATANABE (2001): Effect of docosahexaenoic acid on hostility. *World Rev. Nutr. Diet.* 88, 47-52.
- HAN, X., X. HAO, Y. WANG, X. WANG, L. TENG, Z. LIU, F. ZHANG, Q. ZHANG (2020): Experimental warming induces oxidative stress and immunosuppression in a viviparous lizard, *Eremias multiocellata*. *J. Therm. Biol.* 90, 102595.
- HAZEL, J. R., E. E. WILLIAMS (1990): The role of alterations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment. *Prog. Lipid Res.* 29, 167–227.
- HERCZEG, G., A. GONDA, J. SAARIKIVI, J. MERILÄ (2006): Experimental support for the cost–benefit model of lizard thermoregulation. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 60, 405–414.

HERMES-LIMA, M., J. STOREY, K. STOREY (2001): Antioxidant defenses and animal adaptation to oxygen availability during environmental stress. *Cell. Mol. Response Stress* 2, 263–287.

HERMES-LIMA, M., K. B. STOREY (1993): Antioxidant defenses in the tolerance of freezing and anoxia by garter snakes. *Am. J. Physiol.* 265, R646–R652.

HERMES-LIMA, M., T. ZENTENO-SAVÍN (2002): Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp. Biochem. Physiol. C* 133, 537–556.

HERREL, A., K. HUYGHE, B. VANHOOYDONCK, T. BACKELJAU, K. BREUGELMANS, I. GRBAC, R. VAN DAMME, D. J. IRSCHICK (2008): Rapid large-scale evolutionary divergence in morphology and performance associated with exploitation of a different dietary resource. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105(12), 4792–4795.

HEWITT, O. H., S. M. DEGNAN (2023): Antioxidant enzymes that target hydrogen peroxide are conserved across the animal kingdom, from sponges to mammals. *Sci. Rep.* 13, 2510.

HIBBELN, J. R., L. R. NIEMINEN, W. E. LANDS (2004): Increasing homicide rates and linoleic acid consumption among five western countries, 1961 - 2000. *Lipids* 39, 1207-1213.

HITSUMOTO, T. (2017): Arterial velocity pulse index as a novel marker of atherosclerosis using pulse wave analysis on high sensitivity troponin T in hypertensive patients. *Cardiol. Res.* 8, 36-43.

HOLWAY, D. A. (1999): Competitive mechanisms underlying the displacement of native ants by the invasive Argentine ant. *Ecology* 80, 238–251.

HORTON, J. W. (2003): Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy. *Toxicology*, 189, 75 - 88.

HUDINA, S., K. ŽGANEC, K. HOCK (2015): Differences in aggressive behaviour along the expanding range of an invasive crayfish: an important component of invasion dynamics. *Biol. Invasions* 17, 3101–3112.

HUEY, R. B. (1982): Phylogenetic and ontogenetic determinants of sprint performance in some diurnal Kalahari lizards. *Koedoe* 25, 43–48.

HUEY, R. B., A. F. BENNETT (1987): Phylogenetic studies of coadaptation: preferred temperatures versus optimal performance temperatures of lizards. *Evolution* 41, 1098–1115.

- HUEY, R. B., E. R. PIANKA (1977): Patterns of niche overlap among broadly sympatric versus narrowly sympatric Kalahari lizards (Scincidae: *Mabuya*). *Ecology* 58, 119–128.
- HULBERT, A. J. (2008): The links between membrane composition, metabolic rate and lifespan. *Ageing Res. Rev.* 7, 136–147.
- HULBERT, A. J., P. L. ELSE (2005): Membranes and the setting of energy demand. *J. Exp. Biol.* 208, 1593–1599.
- HULBERT, A., N. TURNER, L. H. STORLIEN, P. L. ELSE (2005): Dietary fats and membrane function: implications for metabolism and disease. *Biol. Rev.* 80, 155–169.
- HUYGHE, K., B. VANHOOYDONCK, A. HERREL, Z. TADIĆ, R. VAN DAMME (2007): Morphology, performance, behavior and ecology of three color morphs in males of the lizard *Podarcis melisellensis*. *Integr. Comp. Biol.* 47(2), 211–220.
- HUYGHE, K., J. F. HUSAK, A. HERREL, Z. TADIĆ, I. T. MOORE, R. VAN DAMME, B. VANHOOYDONCK (2009): Relationships between hormones, physiological performance and immunocompetence in a color-polymorphic lizard species, *Podarcis melisellensis*. *Horm. Behav.* 55, 488–494.
- INTERNATIONAL STANDARD ISO 5509 (2000): Animal and vegetable fats and oils – Preparation of methyl esters of fatty acids. International Organization for Standardization (ISO), Geneva.
- JACOB, C., P. G. WINYARD (2009): Redox signaling and regulation in biology and medicine. Wiley-VCH, Weinheim.
- JAKOBSSON, A., R. WESTERBERG, A. JAKOBSSON (2006): Fatty acid elongases in mammals: Their regulation and roles in metabolism. *Prog. Lipid Res.* 45, 237–249.
- JELIĆ, D., M. KULJERIĆ, T. KOREN, D. TREER, D. ŠALAMON, M. LONČAR, M. PODNAR-LEŠIĆ, B. JANEV-HUTINEC, T. BOGDANOVIĆ, S. MEKINIĆ, K. JELIĆ (2015): Crvena knjiga vodozemaca i gmazova Hrvatske. Ministarstvo zaštite okoliša i prirode, Državni zavod za zaštitu prirode, Zagreb.
- JONES, S., R. SWAIN (2006): Placental transfer of 3H-oleic acid in three species of viviparous lizards: a route for supplementation of embryonic fat bodies? *Herpetol. Monogr.* 20(1), 186–93.

- JOSEPH, J. D., R. G. ACKMAN, G. T. SEABORN (1985): Effect of diet on depot fatty acid composition in the green turtle *Chelonia mydas*. *Comp. Biochem. Physiol. B* 80, 5-22.
- KAWAI, T., R. SAKAKIBARA, H. BUJO (2017): CSF biological antioxidant potentials may differentiate neurodegenerative diseases—a preliminary report. *Neurol. Clin. Neurosci.* 6(2), 45-47.
- KAWAI, T., R. SAKAKIBARA, Y. AIBA, F. TATENO, T. OGATA, S. SAWAI (2021): Increased biological antioxidant potential in the cerebrospinal fluid of transient global amnesia patients. *Sci. Rep.* 11, 15861.
- KEHRER, J. P. (2000): The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology* 149, 43 - 50.
- KHATUN, S., P. RAJAK (2026): *In silico* study unveils catalase and superoxide dismutase-1 as the potential sub-cellular targets of microplastic-associated compounds and their relevance to oxidative stress. *J. Hazard. Mater.: Plast.* 100049.
- KILK, K., R. MEITERN, O. HÄRMSON, U. SOOMETS, P. HÕRAK (2014): Assessment of oxidative stress in serum by d-ROMs test. *Free Radic. Res.* 48, 883–889.
- KIYATKIN, E. A. (2010): Brain temperature homeostasis: physiological fluctuations and pathological shifts. *Front. Biosci.* 15, 73.
- KNOTKOVA, Z., S. PEJRILOVA, S. TRNKOVA, O. MATOUSKOVA, Z. KNOTEK (2005): Influence of reproductive season upon plasma biochemistry values in green iguanas. *Acta Vet. Brno* 74, 515-520.
- KOLBE, J. J., B. R. LAVIN, R. L. BURKE, L. RUGIERO, M. CAPULA, L. LUISELLI (2013): The desire for variety: Italian wall lizard (*Podarcis siculus*) populations introduced to the United States via the pet trade are derived from multiple native-range sources. *Biol. Invasions* 15, 775–783.
- KOTANI, K., H. KOIBUCHI, M. MIYAMOTO, T. YAMADA, N. TANIGUCHI (2010): Relationship between reactive oxygen metabolites and carotid intima-media thickness in subjects with hypercholesterolemia. *Med. Princ. Pract.* 19(6), 496-498.
- KUZNETSOVA, A., P. B. BROCKHOFF, R. H. B. CHRISTENSEN (2017): lmerTest package: tests in linear mixed effects models. *J. Stat. Softw.* 82, 1–26.

- KWAN, D. (1994): Fat reserves and reproduction in the green turtle, *Chelonia mydas*. Wild. Res. 21, 257-266.
- LADAGE, L. D., B. J. RIGGS, B. SINERVO, V. V. PRAVOSUDOV (2009): Dorsal cortex volume in male side-blotched lizards, *Uta stansburiana*, is associated with different space use strategies. Anim. Behav. 78(1), 91-96.
- LANDIS, G. N., J. TOWER (2005): Superoxide dismutase evolution and life span regulation. Mech. Ageing Dev. 126, 365 - 379.
- LEIVA, P. M., F. E. VALLI, C. I. PIÑA, M. GONZÁLEZ, M. S. SIMONCINI (2022): Chemical characterization and potential use of reptile fat from sustainable programs. Ethnobiol. Conserv. 11.
- LIMNIOS, A., C. ADAMOPOULOU, M. A. CARRETERO, P. PAFILIS (2022): Invasive Italian wall lizards outcompete native congeneric species in finding food in a Y-maze. Acta Ethol. 25(1), 43–55.
- LISIČIĆ, D. (2009): Biologija vrste kućnog macaklina (*Hemidactylus turcicus*) i zidnog macaklina (*Tarentola mauritanica*) na otocima Hvaru i Visu. PhD Thesis, University of Zagreb, Zagreb, Croatia.
- LIU, C., R. LI, Z. LIU, S. YIN, Z. WANG (2006): The role of prostaglandins and the hypothalamus in thermoregulation in the lizard *Phrynocephalus przewalskii* (Agamidae). J. Comp. Physiol. B 176, 321–328.
- LONG, J. S., L. H. ERVIN (2000): Using heteroscedasticity consistent standard errors in the linear regression model. Am. Stat. 54, 217–224.
- LUCEK, K., A. SIVASUNDAR, O. SEEHAUSEN (2014): Disentangling the role of phenotypic plasticity and genetic divergence in contemporary ecotype formation during a biological invasion. Evolution 68, 2619–2632.
- MACKINNON, J. G., H. WHITE (1985): Some heteroskedasticity-consistent covariance matrix estimators with improved finite sample properties. J. Econometrics 29, 305–325.
- MAČÁT, Z., M. VESELY, D. JABLONSKI (2015): New case of fruit eating observation in *Podarcis siculus* (Rafinesque-Schmaltz, 1810) (Lacertidae) from Croatia. Biharean Biologist 9, 158–159.

- MADEIRA, D., L. NARCISO, H. N. CABRAL, C. VINAGRE, M. S. DINIZ (2013): Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. *Comp. Biochem. Physiol. A* 166, 237–243.
- MALDONADO, E. N., N. E. FURLAND, G. L. PENNACCHIOTTI, M. I. AVELDANO (2002): Reversibility of the changes induced by n-3 fatty acids in mouse plasma, liver and blood cell lipids. *J. Nutr. Biochem.* 13, 36–46.
- MARQUET, P. A., F. BOZINOVIĆ, R. G. MEDEL, Y. L. WERNER, F. M. JAKSIĆ (1990): Ecology of *Garthia gaudichaudi*, a gecko endemic to the semiarid region of Chile. *J. Herpetol.* 24, 431–434.
- MARTIN, A. K., K. V. ROOT (2020): Challenges and opportunities for *Terrapene carolina carolina* under different climate scenarios. *Remote Sens.* 12, 836.
- MARTINOVIĆ, J., V. DOPSAJ, M. DOPSAJ, J. KOTUR-STEVLJEVIĆ, A. VUJOVIĆ, A. STEFANOVIĆ, G. NEŠIĆ (2009): Long-term effects of oxidative stress in volleyball players. *Int. J. Sports Med.* 30(12), 851-856.
- MATES, J. M., F. SÁNCHEZ-JIMÉNEZ (1999): Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front. Biosci.* 4, D339 - 345.
- MCCUE, M. D. (2008): Fatty acid analyses may provide insight into the progression of starvation among squamate reptiles. *Comp. Biochem. Physiol. A* 151, 239-246.
- MEESTER, G. D., S. BAECKENS (2021): Reinstating reptiles: from clueless creatures to esteemed models of cognitive biology. *Behaviour* 158(12-13), 1057-1076.
- MILJKOVIĆ, J., A. SHEK VUGROVEČKI, S. MILINKOVIĆ TUR, D. ĐURIČIĆ, S. A. BLAŽEVIĆ, S. FARAGUNA, I. ŽURA ŽAJA (2025): Oxidation-antioxidation processes and thermal effects on oxidative stress in reptiles. *Vet. Stanica* 56, 145–159.
- MILJKOVIĆ, J., I. ŽURA ŽAJA, L. PAĐEN, J. ALADROVIĆ, L. BASTIANČIĆ, D. LISIČIĆ, S. A. BLAŽEVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI (2024): Značaj masti i masnih kiselina u gmazova. *Hrvat. Vet. Vjesn.* 32 (2), 42-49.
- MOLTEDO, G., G. MARTUCCIO, B. CATALANO, G. SIMBULA, L. VIGNOLI (2023): The use of tail as a minimal-invasive method to detect a large set of biochemical responses in the Italian wall lizard *Podarcis siculus* (Rafinesque, 1810). *Environments* 10(9), 148.

- MONAGHAN, P., N. B. METCALFE, R. TORRES (2009): Oxidative stress as a mediator of life history trade-offs: mechanisms, measurements and interpretation. *Ecol. Lett.* 12, 75–92.
- MONCADA, S., A. HIGGS (1993): The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.* 329, 2002–2012.
- NAKAMURA, H., H. TSUJIGUCHI, Y. KAMBAYASHI, A. HARA, S. MIYAGI, Y. YAMADA, T. T. T. NGUYEN, Y. SHIMIZU, D. HORI, H. NAKAMURA (2019): Relationship between saturated fatty acid intake and hypertension and oxidative stress. *Nutrition* 61, 8–15.
- NAUMANN, R. K., J. M. ONDRACEK, S. REITER, M. SHEIN-IDELSON, M. A. TOSCHES, T. M. YAMAWAKI, G. LAURENT (2015): The reptilian brain. *Curr. Biol.* 25(8), R317-R321.
- NAYA, D. E., C. VELOSO, F. BOZINOVIC (2008): Physiological flexibility in the Andean lizard *Liolaemus bellii*: seasonal changes in energy acquisition, storage and expenditure. *J. Comp. Physiol. B* 178, 1007-1015.
- NENTWIG, W. (2008): Biological invasions: why it matters. In: *Biological invasions* (W. NENTWIG, ed.), Springer, Berlin, 1–6.
- NESTEL, P. (2001): Fish oil fatty acids beneficially modulate vascular function. *World Rev. Nutr. Diet* 88, 86-89.
- NEVO, E., G. GORMAN, M. SOULÉ, S. Y. YANG, R. CLOVER, V. JOVANOVIĆ (1972): Competitive exclusion between insular *Lacerta* species (Sauria, Lacertidae) - Notes on experimental introductions. *Oecologia* 10(2), 183–190.
- NIEDER, R., D. K. BENBI (2022): Reactive nitrogen compounds and their influence on human health: an overview. *Rev. Environ. Health* 37, 229–246.
- NOBLE, R. C., R. J. MCCARTNEY, M. W. J. FERGUSON (1993): Lipid and fatty acid compositional differences between eggs of wild and captive-breeding alligators (*Alligator mississippiensis*): an association with reduced hatchability? *J. Zool.*
- NOBLE, R., R. MCCARTNEY, M. FERGUSON (1993): Lipid and fatty acid compositional differences between eggs of wild and captive-breeding alligators (*Alligator mississippiensis*): an association with reduced hatchability? *J. Zool.* 230, 639–649.
- NTAMBI, J. M., M. MIYAZAKI (2004): Regulation of stearyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Prog. Lipid Res.* 43, 91–104.

- OETTL, K., R. BIRNER-GRUENBERGER, W. SPINDELBOECK, H. P. STUEGER, L. DORN, V. STADLBAUER, C. PUTZ-BANKUTI, P. KRISPER, I. GRAZIADEI, W. VOGEL, C. LACKNER, R. E. STAUBER (2013): Oxidative albumin damage in chronic liver failure: relation to albumin binding capacity, liver dysfunction and survival. *J. Hepatol.* 59, 978–983.
- OGBUEWU, I. P., N. O. ALADI, I. F. ETUK, M. N. OPARA, M. C. UCHEGBU, I. C. OKOLI, M. U. ILOEJE (2010): Relevance of oxygen free radicals and antioxidants in sperm production and function. *Res. J. Vet. Sci.* 3, 138 - 164.
- OIKONOMIDI, I. L., E. A. KIOSIS, C. N. BROZOS, M. G. KRITSEPI-KONSTANTINOOU (2017): Reference intervals for serum reactive oxygen metabolites, biological antioxidant potential, and oxidative stress index in adult rams. *Am. J. Vet. Res.* 78, 274-278.
- OK, E. J., K. KIM, S. B. PARK (2018): Association between serum uric acid and oxidative stress in Korean adults. *Korean J. Fam. Med.* 39(5), 295-299.
- OKSANEN, J., F. G. BLANCHET, M. FRIENDLY, R. KINDT, P. LEGENDRE, D. MCGLINN, P. R. MINCHIN, R. B. O'HARA, G. L. SIMPSON, P. SOLYMOS, M. H. H. STEVENS, E. SZOECS, H. WAGNER (2022): *vegan: Community Ecology Package*. Comprehensive R Archive Network (CRAN), R package version 2.6-4.
- OLIVEIRA SANTOS, M., M. DE CARVALHO (2024): Profiling tofersen as a treatment of superoxide dismutase 1 amyotrophic lateral sclerosis. *Expert Rev. Neurother.* 24, 549–553.
- OLIVEIRA, M. R. D., F. M. BRAGHIROLI, L. E. K. LANÉS, L. VERRASTRO, G. T. OLIVEIRA (2021): Evaluation of the seasonal variation of parameters of oxidative status of *Tropidurus catalanensis* Gudynas and Skuk, 1983. *S. Am. J. Herpetol.* 19(1), 12-21.
- OSKYRKO, O., L. B. SREELATHA, I. SILVA-ROCHA, T. SOS, S. E. VLAD, D. COGĂLNICEANU, M. A. CARRETERO (2022): Molecular analysis of recently introduced populations of the Italian wall lizard (*Podarcis siculus*). *Acta Herpetol.* 17, 147–157.
- OWAGBORIAYE, F., R. OLADUNJOYE, O. N. ADEKUNLE, M. ADELEKE, T. SALISU, A. ADENEKAN, O. A. LAWAL (2022): First report on atrazine monitoring in drinking water from Ijebu-North, South-West Nigeria: human health risk evaluation and reproductive toxicity studies. *Front. Toxicol.* 4, 975636.
- PAĐEN, L., I. DELAŠ, J. MILJKOVIĆ, I. ŽURA ŽAJA, A. SHEK VUGROVEČKI, D. HORVATEK TOMIĆ, L. ČAKIĆ, J. ALADROVIĆ (2021): Blood fatty acid composition of

corn snakes (*Pantherophis guttatus*) – a preliminary study. Proceedings of 2nd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals “Reptilia”, 52–57.

PAMPLONA, R., G. BARJA, M. PORTERO-OTÍN (2002): Membrane fatty acid unsaturation, protection against oxidative stress, and maximum life span: a homeoviscous-longevity adaptation? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 959, 475–490.

PARSONS, J. B., M. W. FRANK, P. JACKSON, C. SUBRAMANIAN, C. O. ROCK (2014): Incorporation of extracellular fatty acids by a fatty acid kinase-dependent pathway in *Staphylococcus aureus*. *Mol. Microbiol.* 92(2), 234-245.

PASQUINI, A., E. LUCHETTI, V. MARCHETTI, G. CARDINI, E. L. IORIO (2007): Analytical performances of d-ROMs test and BAP test in canine plasma. Definition of the normal range in healthy Labrador dogs. *Vet. Res. Commun.* 32(2), 137-143.

PAVÍA, I., H. HERAS, M. Y. PASQUEVICH (2026): Early-stage invasive apple snails exhibit elevated ROS levels and enhanced oxidative stress defenses compared to non-invasive species. *Biol. Invasions* 28, 11.

PEET, M., C. STOKES (2005): Omega-3 fatty acids in the treatment of psychiatric disorders. *Drugs* 65, 1051–1059.

PEREIRA, A. G., V. ABDALA, T. KOHLSDORF (2015): Function and position determine relative proportions of different fiber types in limb muscles of the lizard *Tropidurus psammonastes*. *Zoology* 118, 27–33.

PÉREZ I DE LANUZA, G., P. CARAZO, E. FONT (2014): Colours of quality: structural (but not pigment) coloration informs about male quality in a polychromatic lizard. *Anim. Behav.* 90, 73–81.

PERNI, S., M. CLOSE, C. FRANZINI-AMSTRONG (2015): Design principles of reptilian muscles: calcium cycling strategies. *Anat. Rec.* 299(3), 352-360.

PHAM-HUY, L. A., H. HE, C. PHAM-HUY (2008): Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int. J. Biomed. Sci.* 4, 89-96.

PINTOR, L. M., A. SIH (2009): Differences in growth and foraging behavior of native and introduced populations of an invasive crayfish. *Biol. Invasions* 11, 1895–1902.

PODNAR, M., W. MAYER, N. TVRTKOVIĆ (2005): Phylogeography of the Italian wall lizard, *Podarcis sicula*, as revealed by mitochondrial DNA sequences. *Mol. Ecol.* 14, 575–588.

- POLETTA, G. L., M. F. SIMONIELLO, M. D. MUDRY (2016): Biomarkers of oxidative damage and antioxidant defense capacity in *Caiman latirostris* blood. *Comp. Biochem. Physiol. C* 179, 29-36.
- POND, C. M. (1978): Morphological aspects and the ecological and mechanical consequences of fat deposition in wild vertebrates. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 9, 519-570.
- PÖRTNER, H. O. (2002): Physiological basis of temperature-dependent biogeography: Tradeoffs in muscle design and performance in polar ectotherms. *J. Exp. Biol.* 205, 2217–2230.
- POUGH, F. H. (2001): *Herpetology*. 2nd ed., Prentice Hall, New Jersey, USA.
- PRICE, E. R. (2010): Dietary lipid composition and avian migratory flight performance: development of a theoretical framework for avian fat storage. *Comp. Biochem. Physiol. A* 157, 297–309.
- RAYNOR, R. G. (1989): Ecological segregation between *Podarcis sicula* and *Podarcis melisellensis* in Yugoslavia. *Herpetol. J.* 1, 418–420.
- REGUERA, S., F. J. ZAMORA-CAMACHO, E. MELERO, S. GARCÍA-MESA, C. E. TRENZADO, M. J. CABRERIZO, A. SANZ, G. MORENO-RUEDA (2015): Ultraviolet radiation does not increase oxidative stress in the lizard *Psammodromus algirus* along an elevational gradient. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 183, 20–26.
- RENAUD, S. C., D. LANZMANN-PETITHORY (2001): Alpha-Linolenic acid in the prevention of cardiovascular diseases. *World Rev. Nutr. Diet* 88, 79-85.
- RITCHIE, D. J., C. R. FRIESEN (2022): Thermal effects on oxidative stress in vertebrate ectotherms. *Comp. Biochem. Physiol. A* 263, 111082.
- ROBERTS, J. D., D. L. EDWARDS (2018): The evolution, physiology and ecology of the Australian arid-zone frog fauna. In: *On the Ecology of Australia's Arid Zone*. (Lambers, H., Ed.), Springer, Cham, pp. 149–180.
- ROCHA, I. (2022): '*Podarcis siculus* (Italian wall lizard)'. In: *CABI Compendium*. CAB International, Wallingford.
- ROMANO, A., J. B. KOCZWARA, C. A. GALLELLI, D. VERGARA, M. V. M. DI BONAVENTURA, S. GAETANI, A. M. GIUDETTI (2017): Fats for thoughts: An update on brain fatty acid metabolism. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 84, 40–45.

- ROTH, T. C., A. R. KROCHMAL, L. D. LADAGE (2019): Reptilian cognition: a more complex picture via integration of neurological mechanisms, behavioral constraints, and evolutionary context. *BioEssays* 41(8).
- RUGIERO, L. (1994): Food habits of the ruin lizard, *Podarcis sicula* (Rafinesque-Schmaltz, 1810), from a coastal dune in Central Italy (Squamata: Sauria: Lacertidae). *Herpetozoa* 7, 71–73.
- SAMEE, S. M., N. MANTIEGHI, A. ESTEVEZ (2019): Zebrafish as a model to screen the potential fatty acids in reproduction. *Zebrafish* 16(1), 47-64.
- SANTOS, U. G. D., C. R. R. QUEIROZ, L. Q. L. HIRANO, M. V. SANTOS, A. K. D. S. CAVALCANTE, J. T. MACÊDO, P. M. O. PEDROSO (2022): Anatomopathological findings of testudines necropsied in the Distrito Federal, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 42.
- SANTOS, X., G. A. LLORENTE (2004): Lipid dynamics in the viperine snake, *Natrix maura*, from the Ebro Delta (NE Spain). *Oikos* 105, 132-140.
- SCHAFFNER, F. (1998): The liver. In: *Biology of the Reptilia*, Vol. 19 (C. GANS, A. S. GAUNT, eds), SSAR Press, Ithaca, 297–374.
- SCHLUETER, A. K., C. S. JOHNSTON (2011): Vitamin C: overview and update. *J. Evid.-Based Complementary Altern. Med.* 16, 49–57.
- SCHMITZ, G., J. ECKER (2008): The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. *Prog. Lipid Res.* 47, 147–155.
- SCHNEIDER, C. (2005): Chemistry and biology of vitamin E. *Mol. Nutr. Food Res.* 49, 7–30.
- SCOTT, D. E., R. U. FISCHER, J. D. CONGDON, S. A. BUSA (1995): Whole body lipid dynamics and reproduction in the eastern cottonmouth, *Agkistrodon piscivorus*. *Herpetol.* 51, 472-487.
- SEEBACHER, F. (2005): A review of thermoregulation and physiological performance in reptiles: what is the role of phenotypic flexibility? *J. Comp. Physiol. B* 175, 453–461.
- SELCER, K.W. (1992): Lipid storage during formation of early- and late-season clutches in the gecko *Hemidactylus turcicus*. *J. Herpetol.* 26, 209–213.
- SHEK VUGROVEČKI, A., J. MILJKOVIĆ, I. ŽURA ŽAJA, L. PAĐEN, D. ŠIKIĆ, T. GOJAK, M. GLOGOŠKI, D. LISIČIĆ, S. A. BLAŽEVIĆ, J. ALADROVIĆ (2025):

Antioxidant capacity and reactive oxygen metabolites in lizard (*Podarcis siculus*) skeletal muscle tissues – preliminary results. Vet. Stanica 56, 57–69.

SHEN, J.-M., F.-Y. GAO (2005): Effects of ambient temperature on lipid and fatty acid composition in the oviparous lizards, *Phrynocephalus przewalskii*. Comp. Biochem. Physiol. B 142, 293–301.

SHERIDAN, M. A. (1994): Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. Comp. Biochem. Physiol. B 107, 495-508.

SHINDE, A., J. GANU, P. NAIK (2012): Effect of free radicals and antioxidants on oxidative stress. J. Dent. Allied Sci. 1, 63–66.

SHONO, S., A. GIN, F. MINOWA, K. OKUBO, M. MOCHIZUKI (2020): The oxidative stress markers of horses—the comparison with other animals and the influence of exercise and disease. Animals 10, 617.

SIES, H. (2017): Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. Redox Biol. 11, 613–619.

SIES, H., C. BERNDT, D. P. JONES (2017): Oxidative stress. Annu. Rev. Biochem. 86(1), 715-748.

SILVA-ROCHA, I., D. SALVI, D. J. HARRIS, S. FREITAS, C. DAVIS, J. FOSTER, G. DEICHSEL, C. ADAMOPOULOU, M. CARRETERO (2014): Molecular assessment of *Podarcis sicula* populations in Britain, Greece and Turkey reinforces a multiple-origin invasion pattern in this species. Acta Herpetol. 9, 253–258.

SIMANDLE, E. T., R. E. ESPINOZA, K. E. NUSSEAR, C. R. TRACY (2001): Lizards, lipids, and dietary links to animal function. Physiol. Biochem. Zool. 74, 625–640.

SIMOPOULOS, A. P. (2002): The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. Biomed. Pharmacother. 56, 365–379.

SOOMRO, M. S., S. A. MAHAR, A. A. QURESHI, M. N. SOOMRO (2014): Thermal dependency of electrical excitability of gastrocnemius (skeletal) muscle in the desert-reptile, *Uromastix hardwickii*. Biol. Rhythm Res. 45(4), 515-522.

SOOMRO, M. S., Z. L. AWAN, M. ALI, M. W. SOOMRO (2016): Seasonal comparison of active v/s passive electrical characteristics of skeletal muscle fiber membranes of the reptile, *Uromastix hardwickii*. MOJ Anat. Physiol. 2(2), 00036.

- SOUZA, S. C. R., J. E. CARVALHO, A. S. ABE, J. E. P. W. BICUDO, M. S. C. BIANCONCINI (2004): Seasonal metabolic depression, substrate utilisation and changes in scaling patterns during the first year cycle of tegu lizards (*Tupinambis merianae*). J. Exp. Biol. 207, 307-318.
- SPEAKE, B. K., J. C. HERBERT (2004): Comparison of the fatty-acid compositions of prey items and yolks of Australian insectivorous scincid lizards. J. Comp. Physiol. B. 174, 393–397.
- SPEAKMAN, J. R., G. SELMAN (2015): The free-radical damage theory: accumulating evidence against a simple link of oxidative stress to ageing and lifespan. BioEssays 33, 255–259.
- SPEYBROECK, J., W. BEUKEMA, B. BOK, J. VAN DER VOORT (2016): Field guide to the amphibians and reptiles of Britain and Europe. Bloomsbury Publishing, London.
- STAHLSCHMIDT, Z. R., S. S. FRENCH, A. AHN, A. WEBB, M. W. BUTLER (2017): A simulated heat wave has diverse effects on immune function and oxidative physiology in the corn snake (*Pantherophis guttatus*). Physiol. Biochem. Zool. 90, 434–444.
- STARCK, J. M., A. P. CRUZ-NETO, A. S. ABE (2007): Physiological and morphological responses to feeding in broad-nosed caiman (*Caiman latirostris*). J. Exp. Biol. 210, 2033–2045.
- STATON, M. A., H. M. EDWARDS, I. L. BRISBIN, L. McNEASE, T. JOANEN (1990): Dietary energy sources for the American alligator, *Alligator mississippiensis* (Daudin). Aquaculture 89(3-4), 245-261.
- STEVANOVIĆ, J., S. BOROZAN, S. JOVIĆ, I. IGNJATOVIĆ (2011): Fiziologija slobodnih radikala. Vet. glasnik 65, 95 - 107.
- STILLWELL, W., S. R. WASSALL (2003): Docosaehaenoic acid: membrane properties of a unique fatty acid. Chem. Phys. Lipids 126, 1–27.
- SUGANO, M., I. IKEDA (1996): Metabolic interactions between essential and trans-fatty acids. Curr. Opin. Lipidol. 7, 38–42.
- SURAI, P. F. (2006): Selenium in nutrition and health. Nottingham University Press, Nottingham.
- SUZUKI, H., Y. MORIKAWA, H. TAKAHASHI (2001): Effect of DHA oil supplementation on intelligence and visual acuity in the elderly. World Rev. Nutr. Diet. 88, 68–71.

- SUZUKI, S., S. MATSUKURA, H. TAKEUCHI, M. KAWAGUCHI, K. IEKI, M. ODAKA, S. WATANABE, T. HOMMA, K. DOHI, T. ARUGA, M. SATO, M. KUROKAWA, F. KOKUBU, M. ADACHI (2008): Increase in reactive oxygen metabolite level in acute exacerbations of asthma. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 146(Suppl. 1), 67-72.
- ŠTEFAN, L., T. TEPŠIĆ, T. ZAVIDIĆ, M. URUKALO, D. TOTA, R. DOMITROVIĆ (2007): Lipidna peroksidacija - uzroci i posljedice. *Medicina* 43, 84 - 93.
- ŠVERKO, A. (2011): Povezanost pojavnosti i proširenosti bubrežnog karcinoma i tkivne ekspresije citokroma P450. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska.
- TIEDEMANN, F., K. HENLE (1986): *Podarcis melisellensis* (BRAUN, 1877) – Adriatische Mauereidechse, Karstläufer. Aula Verlag, Wiesbaden.
- TVRZICKA, E., L. S. KREMMYDA, B. STANKOVA, A. ZAK (2011): Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease – a review. Part 1: Classification, dietary sources and biological functions. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czech Republic* 155, 117–130.
- VALDIVIA, P. A., T. ZENTENO-SAVÍN, S. C. GARDNER, A. A. AGUIRRE (2007): Basic oxidative stress metabolites in eastern Pacific green turtles (*Chelonia mydas agassizii*). *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 146(1-2), 111-117.
- VALERO, K. C. W., R. PATHAK, I. PRAJAPATI, S. BANKSTON, A. THOMPSON, J. USHER, R. D. ISOKPEHI (2014): A candidate multimodal functional genetic network for thermal adaptation. *PeerJ* 2, e578.
- VALKO, M., C. J. RHODES, J. MONCOL, M. IZAKOVIC, M. MAZUR (2006): Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact.* 160, 1 - 40.
- VAN DAMME, R., K. QUICK (2001): Use of predator chemical cues by three species of lacertid lizards (*Lacerta bedriagae*, *Podarcis tiliguerta*, and *Podarcis sicula*). *J. Herpetol.* 35, 27-36.
- VEGA PARRY, H., T. ALONSO, H. CALDIRONI, M. E. MANES (2014): Composition of neutral lipids and phospholipids in tegu lizard *Tupinambis merianae* fat bodies. *Rev. Argent. Prod. Anim.* 33, 129–137.
- VENABLES, W. N., B. D. RIPLEY (2002): Spatial statistics. In: *Modern Applied Statistics with S-PLUS* (4th ed.). Springer, New York, pp. 433–447.

- VERVUST, B., I. GRBAC, R. VAN DAMME (2007): Differences in morphology, performance and behaviour between recently diverged populations of *Podarcis sicula* mirror differences in predation pressure. *Oikos* 116, 1343–1352.
- VRANKOVIĆ, L., I. DELAŠ, S. RELJIĆ, Đ. HUBER, N. MALTAR-STRMEČKI, K. KLOBUČAR, G. KRIVIĆ, Z. STOJEVIĆ, J. ALADROVIĆ (2017): The Lipid Composition of Subcutaneous Adipose Tissue of Brown Bears (*Ursus arctos*) in Croatia. *Physiol. Biochem. Zool.* 90; 399-406.
- WEINSTEIN, R. B., R. J. FULL (1999): Intermittent locomotion increases endurance in a gecko. *Physiol. Biochem. Zool.* 72, 732–739.
- ZBIKOWSKA, A. (2010): Formation and properties of trans fatty acids – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 60, 107–114.
- ZHANG, L., X. NING, L. CHEN, C. LI, F. LIU, Q. WANG, H. WU, J. ZHAO (2012): Molecular cloning and expression analysis of a selenium-independent glutathione peroxidase identified from Manila clam *Venerupis philippinarum*. *Aquacult. Res.* 43, 1176 - 1183.
- ZHANG, Y., S. LIANG, J. HE, Y. BAI, Y. NIU, X. TANG, D. LI, Q. CHEN (2015): Oxidative stress and antioxidant status in a lizard *Phrynocephalus vlangalii* at different altitudes or acclimated to hypoxia. *Comp. Biochem. Physiol. A* 190, 9–14.
- ZIBOH, V. A. (1996): The significance of polyunsaturated fatty acids in cutaneous biology. *Lipids* 31, 249-253.
- ZINELLU, E., A. ZINELLU, M. C. PAU, B. PIRAS, A. G. FOIS, S. MELLINO, C. CARRU, A. A. MANGONI, P. PIRINA (2021): Glutathione peroxidase in stable chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *Antioxidants* 10, 1745.
- ZUFFI, M. A. L., C. GIANNELLI (2013): Trophic niche and feeding biology of the Italian wall lizard, *Podarcis siculus campestris* (De Betta, 1857) along western Mediterranean coast. *Acta Herpetol.* 8, 35-39.
- ŽURA ŽAJA, I. (2015): Pokazatelji antioksidacijskoga sustava u sjemenoj plazmi i spermijima rasplodnih nerasta različitih pasmina. PhD Thesis, University of Zagreb, Zagreb, Croatia.
- ŽURA ŽAJA, I., A. SLUGANOVIĆ, M. SAMARDŽIJA, S. MILINKOVIĆ TUR, T. DOBRANIĆ, S. STRELEC, D. ĐURIČIĆ, H. VALPOTIĆ, S. VINCE (2019): Učinci oksidacijskog stresa na muški spolni sustav i mehanizmi antioksidacijske zaštite. *Vet. Stanica* 50, 43–54.

ŽURA ŽAJA, I., M. SAMARDŽIJA, S. VINCE, I. LJUBIČIĆ, L. RADIN, J. PEJAKOVIĆ HLEDE, D. ĐURIČIĆ, H. VALPOTIĆ, N. ROŠIĆ, S. MILINKOVIĆ TUR (2016): Pozitivni i negativni učinci reaktivnih kisikovih spojeva na oplodnu sposobnost spermija. Vet. Stanica 47, 161–173.

ŽURA ŽAJA, I., M. VILIĆ, I. TOMULIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI, K. MALARIĆ, P. TUCAK, I. TLAK GAJGER (2021): The effects of radiofrequency radiation on humans and animals, with special reference to honey bees (*Apis mellifera*). Vet. Stanica 52, 347–357.

ŽURA ŽAJA, I., P. MARTINEC, I. BUTKOVIĆ, M. VILIĆ, S. MILINKOVIĆ-TUR, S. VINCE, N. ŽURA, A. SLUGANOVIĆ, M. SAMARDŽIJA, J. PEJAKOVIĆ HLEDE, I. FOLNOŽIĆ (2023): Učinci radiofrekvencijskog elektromagnetskog zračenja na mušku plodnost. Vet. stanica 54, 541–555.

9. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH RADOVA

Životopis

Josip Miljković, dr. med. vet., rođen je 1994. godine u Zadru. Godine 2020. diplomirao je na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija dobitnik je Rektorove nagrade za individualni znanstveni rad u akademskoj godini 2019./2020. za istraživanje proteinskog sastava otrova poskoka (*Vipera ammodytes*) te Rektorove nagrade za društveno koristan rad iste godine za projekt „Upoznajmo pasmine pasa“.

Godine 2021. zapošljava se kao asistent na Zavodu za fiziologiju i radiobiologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu te iste godine upisuje poslijediplomski doktorski studij Veterinarske znanosti. Aktivno je sudjelovao u izvedbi nastave na Integriranom preddiplomskom i diplomskom studiju Veterinarska medicina na hrvatskom i engleskom jeziku iz dva obvezna, jednog obveznog izbornog i tri izborna predmeta.

Tijekom studija i stručnog usavršavanja sudjelovao je u međunarodnim mobilnostima, uključujući boravak na Klinici za egzotične životinje Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Lousiani, Baton Rouge, SAD (2019.) te na Veterinarskom fakultetu i Oporavilištu za morske životinje Sveučilišta u Parani, Curitiba, Brazil (2025.). U sklopu Erasmus+ programa dodatno se usavršavao u Oporavilištu za gmazove i vodozemce „CRARC – Centre de Recuperació d'Amfibis i Rèptils de Catalunya“, Masquefa, Španjolska (2024.) te na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Parmi, Parma, Italija (2025.).

Aktivno sudjeluje na međunarodnim znanstvenim i stručnim skupovima s predavanjima iz područja herpetologije te sudjeluje u znanstveno-istraživačkom radu vezanom uz egzotične životinje, posebice gmazove. Za svoja usmena i poster izlaganja na međunarodnim kongresima višestruko je nagrađivan.

Trenutno se nalazi na stručnoj specijalizaciji European College of Zoological Medicine (Herpetological Medicine and Surgery) na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Gentu, Belgija, gdje sudjeluje u radu sa studentima, znanstvenim istraživanjima i radu Klinike za egzotične životinje.

Aktivan je u području kinologije kao kinološki sudac te se rekreativno bavi triatlonom.

Autor je i koautor 17 znanstvenih, stručnih i preglednih radova te 33 kongresna priopćenja iz područja egzotičnih životinja i peradi.

Popis objavljenih relevantnih radova u posljednjih pet godina:

ALADROVIĆ, J., **J. MILJKOVIĆ**, A. SHEK VUGROVEČKI, S. A. BLAŽEVIĆ, D. LISIČIĆ, T. GOJAK, D. ŠIKIĆ, B. BEER LJUBIĆ, L. PAĐEN (2023): Lipid indices in abdominal fat and ovaries in *Podarcis siculus* and *Podarcis melisellensis*. 16th Annual Meeting of Croatian Physiological Society with International Participation, 33–33.

BUDICIN, E., L. LOZICA, D. HORVATEK TOMIĆ, G. KONTREC, I. SABOLEK, **J. MILJKOVIĆ**, M. OSTOVIĆ, A. SHEK-VUGROVEČKI, J. ALADROVIĆ, Ž. GOTTSTEIN (2022): Promjene u krvnoj slici kokoši nesilica lake pasmine nakon primjene fluralanera u terapiji tekuti. Proceedings of “Poultry Days 2022”, 148–154.

DEVČIĆ, L., S. MENČIK, A. SHEK-VUGROVEČKI, I. LEHUNŠEK PANIĆ, **J. MILJKOVIĆ**, H. CAPAK, I. ŽURA ŽAJA (2025): Histological tissue preparation in reptiles: practical aspects and challenges. *Animalia Exotica: Book of Abstracts*, 29–30.

ĐURIČIĆ, D., **J. MILJKOVIĆ**, K. SEVERIN, D. PRIŠĆAN, I. ŠMIT (2026): Systems-Level Proteomic and Biochemical Profiling of Plasma from Captive Indian Star Tortoise with Reactome Pathway Enrichment Analysis. *Metabolites* 16(6), 398.

ĐURIČIĆ, D., M. LUKAČ, I. ŽURA ŽAJA, **J. MILJKOVIĆ**, E. BUDICIN, Ž. GOTTSTEIN, D. HORVATEK-TOMIĆ, M. SAMARDŽIJA (2024): Utjecaj okolišnih čimbenika na hormonalni status guštera – pregledni rad. *Vet. Stanica* 56, 121–127.

ĐURIČIĆ, D., M. LUKAČ, **J. MILJKOVIĆ** (2025): Hepatic lipidosis in psittacine birds—a review. *Academia Biology* 3, 1–10.

ĐURIČIĆ, D., M. LUKAČ, S. FARAGUNA, A. JAVOR, **J. MILJKOVIĆ** (2025): Right hemithorax pneumonia in red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*, Wied-Neuwied, 1839). *Int. J. Vet. Sci. Anim. Husb.* 10, 262–265.

ĐURIČIĆ, D., M. LUKAČ, Ž. GOTTSTEIN, I. ŽURA ŽAJA, E. BUDICIN, **J. MILJKOVIĆ** (2025): Retrospective analysis of reptilian cases at the Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb. *Animalia Exotica: Book of Abstracts*, 12–13.

ĐURIČIĆ, D., M. SABLIĆ, D. CVITKOVIĆ, E. BUDICIN, **J. MILJKOVIĆ** (2024): Ježevi kao potencijalni prenosioci zoonoza. *Zdravlje životinja* 4, 128–132.

GOTTSTEIN, Ž., L. LOZICA, D. HORVATEK TOMIĆ, **J. MILJKOVIĆ**, J. ALADROVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI, D. BEDEKOVIĆ, K. BÜHLER (2022): Hematological parameters

in broiler breeder flock fed diet supplemented with natural 1,25(OH)₂D₃-glycosides. 26th World's Poultry Congress – Book of Abstracts, 75–75.

GOTTSTEIN, Ž., L. LOZICA, I. SABOLEK, **J. MILJKOVIĆ**, M. OSTOVIĆ, J. ALADROVIĆ, A. SHEK-VUGROVEČKI, D. HORVATEK TOMIĆ (2021): Učinkovitost pripravka fluralanera u kontroli tekuti na farmama peradi. Hrvat. Vet. Vjesn. 29, 41–46.

HELLEBUYCK, T., F. SOLANES-VILANOVA, B. DECORTE, **J. MILJKOVIĆ**, E. CLAEREBOU (2025): Patent pulmonary infection with the invasive pentastomid *Raillietiella orientalis* in a panther chameleon (*Furcifer pardalis*) in Belgium. Animals 15, 3433.

LOZICA, L., I. KEČA, T. ĐORĐEVIĆ, E. BUDICIN, D. ĐURIČIĆ, **J. MILJKOVIĆ**, M. LUKAČ, Ž. GOTTSTEIN (2025): Prevalence of Beak and Feather Disease Virus in samples received at the Department of Poultry Diseases with Clinic, FVMUZ, Croatia (2021–2025). ESVV 2025: 13th International Congress for Veterinary Virology: Abstract Book, 133–133.

LUKAČ, M., **J. MILJKOVIĆ**, K. POPOVIĆ, T. MATAUŠIĆ, D. HUBER, M. BELIĆ, A. JAVOR, D. ĐURIČIĆ (2026): Incidental finding of ovarian dysgerminoma in a red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*) undergoing ovariosalpingectomy. ICARE2026 Proceedings of 7th International Conference on Avian, Herpetological, Exotic Mammal, Zoo and Wildlife Medicine, 429–429.

MATAUŠIĆ, T., **J. MILJKOVIĆ**, A. SHEK VUGROVEČKI, M. VILIĆ, M. OSTOVIĆ, M. RUŽIĆ, I. ŽURA ŽAJA (2021): Limb regeneration in axolotl (*Ambystoma mexicanum*). Proceedings of the 2nd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals “Reptilia”, 107–111.

MILJKOVIĆ, J., A. JONKER, D. ĐURIČIĆ, D. HORVATEK TOMIĆ, M. BELIĆ, S. FARAGUNA, M. PAVIĆ VULINOVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI, M. LUKAČ, I.-C. ŠOŠTARIĆ-ZUCKERMANN et al. (2025): Systemic CD3⁺ T-cell lymphoblastic leukemia in a bearded dragon (*Pogona vitticeps*): Clinical, therapeutic, and pathological findings. Animals 15, 2736–2746.

MILJKOVIĆ, J., A. SHEK VUGROVEČKI, S. MILINKOVIĆ TUR, D. ĐURIČIĆ, S. A. BLAŽEVIĆ, S. FARAGUNA, I. ŽURA ŽAJA (2024): Oxidation-antioxidation processes and thermal effects on oxidative stress in reptiles. Vet. Stanica 56, 145–159.

MILJKOVIĆ, J., A. VUGROVEČKI SHEK, I. ŽURA ŽAJA, M. PAVIĆ (2021): Are there any intraspecific variabilities in snake venom? Proceedings of the 2nd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals “Reptilia”, 72–75.

MILJKOVIĆ, J., D. ĐURIČIĆ (2025): Local skin reaction to intramuscular administration of enrofloxacin in pythons. Vet. Stanica 56, 847–853.

MILJKOVIĆ, J., D. LISIČIĆ, S. FARAGUNA, M. CRNOJA, D. ĐURIČIĆ, Ž. GOTTSTEIN (2026): *Pseudomonas aeruginosa* skin infection after long-term captivity of a Dalmatian wall lizard, *Podarcis melisellensis* (Braun, 1877). Herpetol. Notes 19, 269–272.

MILJKOVIĆ, J., I. ŽURA ŽAJA, L. PAĐEN, J. ALADROVIĆ, L. BASTIANČIĆ, D. LISIČIĆ, S. A. BLAŽEVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI (2024): Značaj masti i masnih kiselina u gmazova. Hrvat. Vet. Vjesn. 32, 42–49.

MILJKOVIĆ, J., I. ŽURA ŽAJA, P. SRUK, M. PAVIĆ VULINOVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI (2024): Effects of lithium heparin and dipotassium ethylenediaminetetraacetic acid on packed cell volume of blood samples of Indian star tortoise (*Geochelone elegans*). Proceedings of 3rd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals “Reptilia”, 170–170.

MILJKOVIĆ, J., J. ALADROVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI, S. A. BLAŽEVIĆ, D. LISIČIĆ, L. PAĐEN (2024): Brain fatty acid composition in two species of wall lizard – a preliminary study. Book of Abstracts of 17th Annual Symposium of the Croatian Physiological Society, 17–17.

MILJKOVIĆ, J., J. ALADROVIĆ, L. PAĐEN, D. ŠIKIĆ, M. GLOGOŠKI, T. GOJAK, D. LISIČIĆ, S. A. BLAŽEVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI (2024): Comparison of the antioxidative and oxidative status in muscle tissue of Dalmatian wall lizard (*Podarcis melisellensis*) and Italian wall lizard (*Podarcis siculus*). ICARE2024 International Conference on Avian, Herpetological, Exotic Mammal, Zoo and Wildlife Medicine, 454–454.

MILJKOVIĆ, J., L. PAĐEN, I. LOŠIĆ, D. BEDEKOVIĆ, K. BÜHLER, L. LOZICA, D. HORVATEK TOMIĆ, Ž. GOTTSTEIN, J. ALADROVIĆ (2022): Prirodni 1,25(OH)₂D₃-glikozid ublažava posljedice stresa i povećava koncentraciju kalcija i magnezija u serumu kokoši teške pasmine u završnoj fazi proizvodnje. Proceedings of “Poultry Days 2022”, 162–168.

MILJKOVIĆ, J., M. CRNOJA, D. BOŠKOVIĆ, L. HANNAN, H. POTET, N. N. PARASCANDOLO, H. CAPAK, A. SHEK VUGROVEČKI, I. ŽURA ŽAJA (2025): How does volunteering with reptiles and amphibians affect student stress levels? ICEAS IV Proceedings Book, 24–24.

MILJKOVIĆ, J., T. HELLEBUYCK, B. DECORTE, F. SOLANES-VILANOVA, E. CLAEREBOU (2026): Patent pulmonary pentastomiasis in a panther chameleon (*Furcifer pardalis*) in Belgium. ICARE2026 Proceedings of 7th International Conference on Avian, Herpetological, Exotic Mammal, Zoo and Wildlife Medicine, 253–253.

MILJKOVIĆ, J., T. HELLEBUYCK, F. SOLANES-VILANOVA, E. VERCRUYSE (2026): Exophthalmos associated with orbital sinus pathology in two green iguanas (*Iguana iguana*). ICARE2026 Proceedings of 7th International Conference on Avian, Herpetological, Exotic Mammal, Zoo and Wildlife Medicine, 261–261.

MILJKOVIĆ, J., V. PLICHTA, M. MAMIĆ, S. PINTARIĆ, A. VETERE, T. MATAUŠIĆ, D. ĐURIČIĆ (2026): Multi-modal ophthalmologic evaluation of captive Indian star tortoises (*Geochelone elegans*). ICARE2026 Proceedings of 7th International Conference on Avian, Herpetological, Exotic Mammal, Zoo and Wildlife Medicine, 421–421.

PAĐEN, L., I. DELAŠ, J. MILJKOVIĆ, I. ŽURA ŽAJA, A. SHEK VUGROVEČKI, D. HORVATEK TOMIĆ, L. ČAKIĆ, J. ALADROVIĆ (2021): Blood fatty acid composition of corn snakes (*Pantherophis guttatus*) – a preliminary study. Proceedings of the 2nd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals “Reptilia”, 52–57.

PAĐEN, L., J. MILJKOVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI, I. ŽURA ŽAJA, J. ALADROVIĆ (2023): Live animal-based teaching. ICEAS III Proceedings Book, 45–45.

PAVIĆ VULINOVIĆ, M., J. MILJKOVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI, I. ŽURA ŽAJA (2025): Unutarvrstna varijabilnost sastava zmijskog otrova. Hrvat. Vet. Vjesn. 33, 44–49.

PAVIĆ VULINOVIĆ, M., J. MILJKOVIĆ, I. ŽURA ŽAJA, S. ČURKOVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI (2024): The use of electrophoresis in snake venom research. Proceedings of 3rd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals “Reptilia”, 173–173.

PAVIĆ VULINOVIĆ, M., J. MILJKOVIĆ, I. ŽURA ŽAJA, S. ČURKOVIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI (2024): The use of electrophoresis in snake venom research. Proceedings of

3rd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals “Reptilia”, 173–173.

POPOVIĆ, K., **J. MILJKOVIĆ**, S. CIRKULAN, T. ŠALIKA, A. JAVOR, T. MATAUŠIĆ, A. SHEK VUGROVEČKI, I. ŽURA ŽAJA, D. ĐURIČIĆ (2025): Assessment of body condition and morphometric data of Indian star tortoises at three different locations in captivity. Proceedings of the Zoo and Wildlife Health Conference 2025, 125–125.

POTEH, H., I. ŠMIT, Ž. GOTTSTEIN, N. N. PARASCANDOLO, L. HANNAN, I. ŽURA ŽAJA, A. SHEK VUGROVEČKI, D. ĐURIČIĆ, T. GOJAK, **J. MILJKOVIĆ** (2026): Urinalysis in Indian star tortoises (*Geochelone elegans*): Preliminary reference values. ICARE2026 Proceedings of 7th International Conference on Avian, Herpetological, Exotic Mammal, Zoo and Wildlife Medicine, 420–420.

POTET, H., S. FARAGUNA, A. JAVOR, **J. MILJKOVIĆ**, D. ĐURIČIĆ (2026): Secondary nutritional hyperparathyroidism in a captive Chinese striped-neck turtle (*Mauremys sinensis*) – a case report. Book of Abstracts of 11th International Congress Veterinary Science and Profession, 98–98.

SHEK VUGROVEČKI, A., **J. MILJKOVIĆ**, I. ŽURA ŽAJA (2024): Prepoznavanje i procjena stresa u gmazova. Zbornik sažetaka 2. ARTES konferencije o biodiverzitetu, divljim i egzotičnim životinjama, 17–18.

SHEK VUGROVEČKI, A., **J. MILJKOVIĆ**, I. ŽURA ŽAJA, L. PAĐEN, D. ŠIKIĆ, T. GOJAK, M. GLOGOŠKI, D. LISIČIĆ, S. A. BLAŽEVIĆ, J. ALADROVIĆ (2024): Antioxidant capacity and reactive oxygen metabolites in lizard (*Podarcis siculus*) skeletal muscle tissues – preliminary results. Vet. Stanica 56, 57–69.

SHEK VUGROVEČKI, A., **J. MILJKOVIĆ**, J. ALADROVIĆ, L. PAĐEN, D. ŠIKIĆ, T. GOJAK, D. LISIČIĆ, S. A. BLAŽEVIĆ (2023): Oxidative stability of muscle tissue in a free-living lizard *Podarcis siculus* from two different locations – a pilot study. 16th Annual Meeting of Croatian Physiological Society with International Participation, 55–55.

SHEK VUGROVEČKI, A., **J. MILJKOVIĆ**, J. ALADROVIĆ, L. PAĐEN, J. PEJAKOVIĆ HLEDE, S. MILINKOVIĆ TUR, S. FRUK, I. ŽURA ŽAJA (2025): Integrating behavioural physiology into veterinary education: a practical approach to enhancing student engagement and understanding. ICEAS IV Proceedings Book, 43–43.

SHEK VUGROVEČKI, A., **J. MILJKOVIĆ**, L. DEVČIĆ, I. ŽURA ŽAJA (2025): Characteristics of lizard blood cells. *Animalia Exotica: Book of Abstracts*, 20–20.

SHEK VUGROVEČKI, A., **J. MILJKOVIĆ**, S. VINCE, N. POLJIČAK MILAS, P. PRGOMET, L. RODMAN, D. HORVATEK TOMIĆ, M. VILIĆ, M. RADIN, S. ČIPČIĆ, A. SLUGANOVIĆ (2021): Do different types of semi-aquatic turtles have morphometrically different erythrocytes? *Proceedings of the 2nd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals “Reptilia”*, 154–154.

SHEK VUGROVEČKI, A., **J. MILJKOVIĆ**, T. MATAUŠIĆ, D. ĐURIČIĆ, I. ŽURA ŽAJA (2025): Tail regeneration in Cuvier’s dwarf caiman (*Paleosuchus palpebrosus*): A case report. *Animalia Exotica: Book of Abstracts*, 31–32.

SHEK VUGROVEČKI, A., L. NEMANIĆ, **J. MILJKOVIĆ**, I. ŽURA ŽAJA (2024): Stres u gmazova kućnih ljubimaca. *Zdravlje životinja* 4, 129–134.

VILIĆ, M., I. ŽURA ŽAJA, A. SHEK VUGROVEČKI, **J. MILJKOVIĆ** (2021): Radiofrequency electromagnetic radiation and reptiles/amphibians. *Proceedings of the 2nd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals “Reptilia”*, 191–194.

VRBANIĆ, I., I. ŽURA ŽAJA, **J. MILJKOVIĆ**, A. SHEK VUGROVEČKI (2025): Usporedba manualnih i automatskih analiza krvne slike u veterinarskoj medicini. *Zdravlje životinja* 9, 138–143.

ŽURA ŽAJA, I., A. SHEK VUGROVEČKI, **J. MILJKOVIĆ**, D. ĐURIČIĆ, S. MILINKOVIĆ TUR, N. POLJIČAK MILAS, S. FRUK, S. VINCE (2025): Morphometry of blood cells in amphibians and reptiles. *Animalia Exotica: Book of Abstracts*, 18–19.

ŽURA ŽAJA, I., **J. MILJKOVIĆ**, A. SHEK-VUGROVEČKI (2023): Zašto su dodatci prehrani u gmazova kućnih ljubimaca neophodni? *Zdravlje životinja* 3, 84–89.

ŽURA ŽAJA, I., **J. MILJKOVIĆ**, S. VINCE, N. POLJIČAK MILAS, P. PRGOMET, L. RODMAN, D. HORVATEK TOMIĆ, J. ALADROVIĆ, L. PAĐEN, M. VILIĆ, S. MILINKOVIĆ TUR (2021): Gender differences in red blood cell morphometry parameters in corn snakes (*Pantherophis guttatus*). *Proceedings of the 2nd International Scientific and Professional Meeting on Reptiles and Exotic Animals “Reptilia”*, 161–161.