

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET

Goran Domitran

USPOREDNE OSOBITOSTI GRAĐE HIPOFIZE
U KONJA, PSA, DOBROG DUPINA I PLAVOBIJELOG DUPINA

Diplomski rad

Zagreb, 2007.

Zavod za anatomiju, histologiju i embriologiju
Odjel za temeljne prirodne i pretkliničke znanosti
Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Heinzelova 55, ZAGREB 10 000

Predstojnik zavoda: prof. dr. sc. Damir Mihelić, redoviti profesor Veterinarskog fakulteta

Naslov diplomskog rada: Usporedne osobitosti građe hipofize u konja, psa, dobrog
dupina i plavobijelog dupina

Pristupnik: Goran Domitran, absolvent Veterinarskog fakulteta

Voditelji: prof. dr. sc. Snježana Vuković, izvanredni profesor Veterinarskog fakulteta
dr. sc. Hrvoje Lucić, viši asistent Veterinarskog fakulteta

Diplomski rad je izrađen u sastavu znanstveno-istraživačkog projekta “Istraživanje i zaštita sisavaca Jadranskog mora”, voditelj projekta prof. dr. sc. Hrvoje Gomerčić, Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta Republike Hrvatske, te uz finacijsku pomoć “Gesellschaft zur Rettung der Delphine” iz Münchena. Rad ima 37 stranica, 25 slika i 18 citiranih literaturnih jedinica.

Zahvaljujem mentorima prof. dr. sc. Snježani Vuković i dr. sc. Hrvoju Luciću na vođenju i pomoći tijekom izrade diplomskog rada. Također zahvaljujem gđi. Gordani Babac-Pašagić, dipl. ing. biol. i gđi. Nadi Crnogaj iz histološkog laboratorija Zavoda za anatomiju, histologiju i embriologiju koje su izradile mikroskopske preparate na kojima je obavljeno ovo istraživanje. Zahvaljujem i svim suradnicima na znanstveno-istraživačkom projektu «Istraživanje i zaštita sisavaca Jadranskog mora» pod vodstvom prof. dr. sc. Hrvoja Gomerčića.

Zahvaljujem svojim roditeljima i braći, a posebno majci, na podršci i razumijevanju.

SADRŽAJ

1. UVOD	5
2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA	6
2.1. Embrionalni razvoj hipofize	6
2.2. Makroskopska građa hipofize i topografski odnosi	7
2.3. Mikroskopska građa hipofize	8
2.4. Hormoni hipofize	10
2.5. Hipofiza morskih sisavaca	11
2.6. Biologija dobrog dupina	12
2.7. Biologija plavobijelog dupina	12
3. MATERIJAL I METODE	14
3.1. Životinje	14
3.2. Uzimanje uzoraka i metode obrade	15
3.2.1. Bojenje hemalaunom i eozinom (HE)	15
3.2.2. Bojenje tkiva Mallory metodom (Mallory)	15
3.2.3. Bojenje tkiva po Massonu (Masson)	16
3.2.4. Bojenje tkiva metakromazijom toluidinskim modrilom (Toluidin)	16
3.2.5. Bojenje Periodic Acid-Schiff metodom (PAS)	16
4. REZULTATI	17
4.1. Hipofiza konja	17
4.2. Hipofiza psa	17
4.3. Hipofiza dobrog dupina	23
4.4. Hipofiza plavobijelog dupina	29
5. RAZMATRANJE	31
4. ZAKLJUČCI	35
4. POPIS LITERATURE	36
4. SAŽETAK	38
4. SUMMARY	39
4. ŽIVOTOPIS	41

1. UVOD

Morski sisavci se sustavno istražuju tek posljednjih dvadesetak godina, te su ukupne znanstvene spoznaje o njima još uvijek male, kako u području morfologije i fiziologije, tako i drugim biološkim znanostima u kojima se istražuju. Zbog toga je zanimljivo istraživanje osnovne morfologije organa morskih sisavaca, a pogotovo njeno uspoređivanje među pojedinim vrstama morskih sisavaca, te sa različitim vrstama kopnenih sisavaca. Za potrebe ovog istraživanja od domaćih životinja su odabrani konj i pas kao predstavnici dviju osnovnih skupina životinja, a to su biljožderi i mesožderi. Od morskih sisavaca su odabrani dobri dupin kao jedini stalni stanovnik Jadranskog mora, te plavobijeli dupin koji se povremeno nalazi u Jadranskom moru, a inače je stalni stanovnik Sredozemnog mora (GOMERČIĆ i SUR., 1994). Dupini koji su obuhvaćeni ovim istraživanjem, uginuli su u prirodi i pronađeni su na hrvatskoj obali Jadranskog mora. Sve vrste dupina najstrože su zaštićene Zakonom o zaštiti prirode Republike Hrvatske.

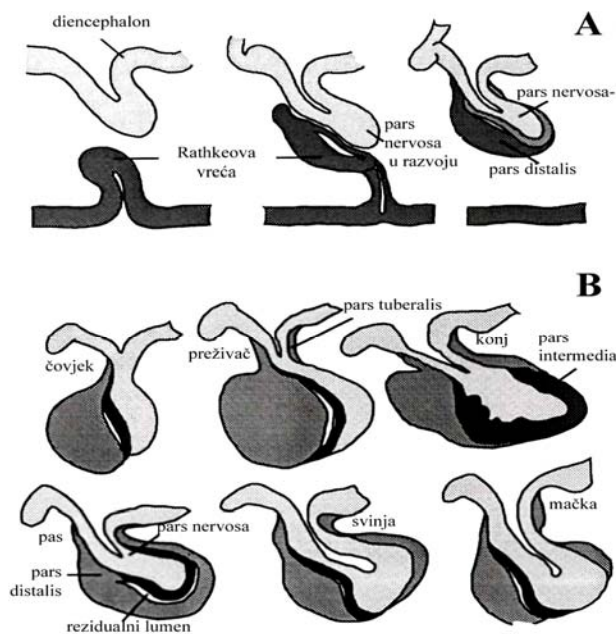
U istraživanjima morfologije i fiziologije morskih sisavaca neurologija i endokrinologija postaju predmeti sve intenzivnijih i opsežnijih istraživanja. Unatoč tome u dostupnoj znanstvenoj i stručnoj literaturi nema puno podataka o hipofizi morskih sisavaca. Slabo je poznata detaljnija mikroskopska anatomija većine organa, a tako i hipofize morskih sisavaca. Sve što je do sada istraženo, napravljeno je klasičnim histološkim bojenjem hemalaunom i eozinom, te bi bilo zanimljivo istražiti hipofizu primjenom i drugih metoda histoloških bojenja. Pri odabiru tih metoda postoje određena ograničenja kod njihove primjene zbog toga što uzorci organa potječu od dupina koji su kao najstrože zakonski zaštićene životinje, uginuli u prirodi, te su u trenutku njihova nalaska i uzorkovanja organa najčešće već nastupile određene postmortalne promjene.

Cilj ovog istraživanja je opisati osnovnu mikroskopsku građu hipofize dobrog i plavobijelog dupina, usporediti ih međusobno, te ih usporediti sa osnovnim dijelovima dobro opisane hipofize konja i psa.

2. DOSADAŠNJE SPOZNAJE

2.1. Embrionalni razvoj hipofize

Tijekom embrionalnog razvoja hipofiza se dijelom razvija od ektoderma usne šupljine, a dijelom od neuroektoderma. Neurohipofiza nastaje kao izbočina dna diencefalona (infundibulum) koji raste prema dolje poput drška koji ostaje povezan s mozgom. Adenohipofiza nastaje kao vrećasta izbočina ektoderma na krovu primitivne usne šupljine embrija, neposredno ispred ždrijelne membrane (Rathkeova vreća) i raste prema gore. Rathkeova vreća se pojavljuje u ljudskog embrija od trećeg tjedna kao izbočina krova usne šupljine koja raste dorzalno prema infundibulumu. Poslije se ta vreća odvaja od usne šupljine, njezin prednji zid zadeblja, tako da se šupljina Rathkeove vreće smanji na usku pukotinu. Krajem drugog mjeseca ona izgubi vezu s usnom šupljinom i potpuno prianja uz infundibulum (SADLER, 1996.; JUNQUEIRA, 2005.). Prednji režanj hipofize ili adenohipofiza nastaje intenzivnom proliferacijom stanica prednjeg zida Rathkeove vreće, a malo produženje toga reznja raste duž infundibuluma kojega pri tome obavija čineći pars tuberalis. Stražnji zid Rathkeove vreće razvije se u pars intermedia. Stražnji režanj hipofize ili pars nervosa nastaje od infundibuluma, a sastoji se od neuroglija stanica i živčanih vlakana, koja dolaze iz hipotalamusa (SADLER, 1996.).



Slika 1 A i B. Embrionalni razvoj hipofize (A) i shematski prikaz građe hipofize u pojedinim vrsta sisavaca (B). Preuzeto iz Primjenjene veterinarske histologije (BANKS, 1993.).

2.2. Makroskopska građa hipofize i topografski odnosi

Hipofiza ili pituitarna žlijezda je endokrina žlijezda koja putem svojih hormona ima važnu funkciju u regulaciji metabolizma, rasta i reprodukcije organizma. Nalazimo je na bazi mozga gdje leži u udubini klinaste kosti tzv. turskom sedlu (sella turcica), obavijena naborom čvrste moždane ovojnice (diaphragma sellae turcicae durae matris) koja se sastoji od dorzalnog i ventralnog lista. Na dorzalnog listu postoji otvor (foramen diaphragmatis) koji u čovjeka čvrsto prilježe uz infundibularni držak. U konja je vrlo širok, obuhvaća gotovo opseg hipofize, dok u psa prekriva samo dorzo-kaudalni dio. Infundibularni držak kranijalno je omeđen chiasmom opticum i tractus opticusom, kaudalno se nalaze pedunculus cerebri i corpus mamillare, a lateralno je omeđen uzdignućima na bazi mozga, lobus piriformis (ELLENBERGER i BAUM, 1943.).

Hipofizu opskrbljuju krvlju dvije skupine arterija, koje potječu od unutrašnje karotidne arterije. Sa gornje strane, desna i lijeva dorzalna hipofizna arterija opskrbljuju eminenciju medijanu i držak, a ventralno, desna i lijeva ventralna hipofizna arterija opskrbljuju neurohipofizu i malim dijelom držak (JUNQUEIRA, 2005.).

Obzirom na embrionalni razvoj hipofizu zapravo čine dvije žlijezde: neurohipofiza i adenohipofiza. Neurohipofiza se razvija od neuroektoderma, čine ju pars nervosa i infundibulum, a adenohipofiza potječe od ektoderma usne šupljine, a čine ju pars distalis seu glandularis, pars tuberalis seu infundibularis i pars intermedia. Što se tiče odnosa u smještaju adenohipofize i neurohipofize postoje razlike s obzirom na vrstu pa tako u dupina, psa i konja adenohipofiza okružuje neurohipofizu, dok se u čovjeka neurohipofiza nalazi kaudalno od adenohipofize. Između adenohipofize i neurohipofize nalazi se hipofizna šupljina koja u konja nedostaje. Postoji i šupljina infundibuluma koja komunicira sa trećom moždanom klijetkom. U konja završava sužavajući se u području prijelaza infundibuluma u hipofizu, a u psa se nastavlja u hipofizu. Infundibularnim drškom je hipofiza pričvršćena na bazi mozga. Čini ga infundibulum obavijen sa pars tuberalis adenohipofize (BLOOM I FAWCET, 1994.).

2.3. Mikroskopska građa hipofize

Gornje hipofizne arterije tvore primarni kapilarni splet fenestriranih kapilara, koje opskrbljuju drzak i medijano uzdignuće kao dio hipotalamusa. One se udružuju u vene koje se u adenohipofizi ponovno raspu u sekundarni kapilarni splet. Taj hipofizni portalni sustav vrlo je važan za regulaciju funkcije stanica adenohipofize, nosi neurohormone od eminencije medijane do adenohipofize.

Infundibulum grade nemijelizirana živčana vlakna uz koja se vide krvne žile te brojne stanice okruglih ili izduženih jezgri. Pars distals je najveći dio hipofize. Gradi ga bogati splet kapilara između kojih su smještene brojne žljezdane stanice, kao i nešto fibroblasta koji proizvode retikulinska vlakna za potporu tračcima žljezdanih stanica. Između endotelnih stanica portalnog sustava veći je razmak tako da su stijenke krvnih žila porozne te omogućavaju lakšu izmjenu tvari i hormona. Žljezdane stanice se nalaze u nepravilno raspoređenim nakupinama, a stroma nije povezana. Te su stanice s obzirom na njihov afinitet prema bojama podijeljene na kromofobne i kromofilne. Kromofobne stanice boje se blijedo, a elektronskim mikroskopom mogu se razlikovati dvije populacije. Jedna sadržava malo zrnaca, a druga ih uopće nema. Obično sadrže manje citoplazme nego kromofilne stanice no bez obzira na to gotovo i nema razlike u veličini. Pretpostavlja se da kromofobne stanice čine i do 65% od ukupnog broja stanica u pars distalis ali novija istraživanja otvaraju mogućnost da su mnoge kromofobne stanice zapravo trenutno djelomično degranulirane acidofilne ili bazofilne stanice zato što se broj granula koje stanica sadrži razlikuje s obzirom na to da li se stanica nalazi u fazi akumulacije ili oslobađanja svojih proizvoda. Kromofilne stanice s obzirom na afinitet prema bazičnim ili kiselim bojama, dijele se na bazofilne i acidofilne stanice (JUNQUEIRA, 2005.).

Među acidofilnim dominiraju velike stanice s okruglom ili ovalnom, nešto blijedom jezgrom u odnosu na manje acidofilne stanice. Imaju dobro razvijen Golgijev kompleks s malim mitohondrijima. Imunocitokemijski i elektronskim mikroskopom razlikuju se dva tipa acidofilnih stanica, somatotropne (STH stanice) koje su najbrojnije u prednjem režnju hipofize, a proizvode somatotropni hormon (hormon rasta) i mamotropne (lactotropne) jajolikog ili poligonalnog oblika koje proizvode prolaktin

(PRL). Što se tiče bazofilnih stanica razlikuju se tri tipa, a to su: tiotropne, za koje se čini da uglavnom nisu u kontaktu s kapilarama i proizvode tirostimulirajući hormon (TSH), zatim kortikotropne stanice koje su okrugle ili jajolike, a proizvode adrenokortikotropni hormon (ACTH) i konačno gonadotropne stanice koje se obično nalaze uz kapilare i proizvode folikulo-stimulirajući hormon (FSH) i luteinizirajući hormon (LH).

Osim navedenih postoje i tzv. folikularne (zvijezdaste) stanice s mikrovilima i trepetiljkama. Obično se nalaze u skupinama tako da međusobno zatvaraju manji prostor čineći folikul (cistu) po čemu su i dobile naziv. Njihova funkcija je nepoznata.

Pars tuberalis čine brojne krvne žile i vlaknate strukture slične vezivnim vlaknima između kojih su brojne izdužene jezgre. Tu se nalaze i tipične stanice adenohipofize. Ljevkastog je oblika i okružuje infundibulum neurohipofize. Radi se o najbolje vaskulariziranom području hipofize. Među kapilarama se nalaze i nakupine epitelnih stanica najčešće kubičnog oblika. One su i jedine stanice u hipofizi u kojima možemo pronaći glikogen. Do sada je nepoznato da li uopće i kakve hormone proizvode stanice pars tuberalisa (JUNQUEIRA, 2005.).

Pars intermedia nalazimo u psa i konja, u čovjeka je rudimentaran, dok u dupina nedostaje. Nastaje od stražnje stijenke Rathkeove vreće. Čine ga blijede bazofilne stanice koje sadrže mala sekretna zrnca. Obično se nalaze i veće poligonalne epitelne stanice bogate mitohondrijama. Ovo područje proizvodi melanostimulirajući hormon (MSH), (BLOOM I FAWCET, 1994.).

Pars nervosa je građen od aksona hipotalamičkih neurona. Kod tih aksona su tipična mnogobrojna proširenja po cijeloj dužini u kojima se nalaze neurosekretna zrnca. Na krajevima aksona se također nalaze nakupine neurosekretnih zrnaca tzv. Herringova tjelešca. Tu se nalaze i razgranate glija-stanice tzv. pituiciti. Žljezdane stanice ne nalazimo. U pars nervosa se oslobađaju dva hormona, oksitocin (OT) i antidiuretički hormon (ADH).

2.4. Hormoni hipofize

Hormoni su molekule koje u organizmu imaju ulogu kemijskih glasnika. Opuštaju ih specifične stanice, nazvane endokrine stanice. Za razliku od egzokrinih stanica, koje izlučuju u tjelesne šupljine ili na površinu tijela, endokrine stanice izlučuju direktno u krv ili limfu. Endokrine stanice udružene u nakupine ili tračke, tvore endokrine žlijezde.

Hipofiza je zbog embrionalnog podrijetla funkcionalno i anatomski povezana s hipotalamusom na bazi mozga. U hipotalamo-hipofiznom sustavu postoje tri mjesta koja stvaraju i otpuštaju tri vrste hormona. Prvu skupinu čine peptidi koje stvaraju nakupine sekrecijskih neurona hipotalamusa, supraoptička i paraventrikularna jezgra. Aksoni tih neurona prenose hormone do svojih završetaka koji završavaju u neurohipofizi. Drugu skupinu hormona (peptide) stvaraju neuroni dorzomedijalne, ventromedijalne i infundibularne jezgre hipotalamusa. Prenose ih aksoni koji završavaju u eminenciji medijani, gdje ih skladište i otpuštaju u kapilarnu mrežu. Od eminencije medijane se tzv. primarnim hipofiznim portalnim sustavom prenose do adenohipofize. Treću skupinu hormona čine proteini i glikoproteini koje stvaraju stanice pars distalis i oslobađaju ih u sekundarnu kapilarnu mrežu portalnog sustava. Ova kapilarna mreža okružuje sekrecijske endokrine stanice i odvodi hormone u krvotok (HORVATH i KOVACS, 1994).

Većinom, svaki tip stanice proizvodi samo jedan hormon. Iznimka je gonadotropna stanica, koja proizvodi dva hormona. Ti hormoni imaju vrlo raznolike fiziološke uloge, upravljaju funkcijom gotovo svih endokrinih žlijezda, upravljaju izlučivanjem mlijeka te metabolizmom mišića, kosti i masnog tkiva. Aktivnost stanica u pars distalis kontrolira nekoliko mehanizama. U glavnom mehanizmu sudjeluju peptidni hormoni, koji se sintetiziraju u nakupinama neurosekrecijskih stanica u hipotalamusu, a pohranjuju se u eminenciji medijani. Zovu se hipotalamički hormoni koji oslobađaju (engl. *releasing hormones*). Kada se oslobode dopijevaju u pars distalis putem primarnog i sekundarnog kapilarnog spleta. Dva takva hormona djeluju na specifične stanice u pars distalis tako da inhibiraju oslobađanje hormona (hipotalamički hormoni koji inhibiraju). Hipotalamički neuroni kontroliraju rad hipofize i mnoge tjelesne funkcije. Brojni podražaji iz okoline, a i oni nastali u mozgu mogu oštetiti rad hipofize, potom i rad brojnih organa i tkiva. Drugi

glavni kontrolni mehanizam je izravni učinak hormona stimuliranih endokrinih stanica na oslobađanje peptida iz eminencije medijane i pars distalis.

U adenohipofizi hormoni nastaju i oslobađaju se ranije spomenuti ACTH, FSH, LH, MSH, STH, TSH, PRL, dok se u neurohipofizi samo oslobađaju hormoni nastali u hipotalamusu OT, ADH (HORVATH i KOVACS, 1994.).

2.5. Hipofiza morskih sisavaca

Hipofiza u kitova zubana i kitova usana slične je morfologije i pogledom na ventralnu površinu baze mozga doima se prilično širokom. Rani istraživači bili su impresionirani njenom veličinom u plavetnog kita kod kojeg je težila 53,5 grama, iako je to zanemarivo u usporedbi sa masom životinje. Veći dio hipofize čini tkivo adenohipofize. Neurohipofiza je od adenohipofize odvojena meningealnim septumom, a nježna je i građena od pars nervosa, infundibuluma i medijane eminencije. Rezidualnog lumena i pars intermedija nisu prisutni u ovih životinja. Adenohipofiza je građena od kromofobnih, bazofilnih i eozinofilnih stanica (OELSCHLÄGER I OELSCHLÄGER, 2002.). Nedostatak pars intermedia hipofize opisan je i u plavobijelog dupina, te na taj način neurohipofiza poput krakova urasta u adenohipofizu čime se među njima ostvaruje neposredni kontakt (LUCIĆ, 2002.).

Adenohipofiza kitova proizvodi skupinu hormona koji djeluju direktno na ciljano tkivo, kao što su hormon rasta, prolaktin i gonadotropini, ali izlučuje i hormone koji su modulatori aktivnosti drugih endokrinih žlijezda, kao što su adenokortikotropni hormon i tireotropin ili tireostimulirajući hormon. Također je utvrđena identičnost ACTH velikog sjevernog kita sa istim hormonom u čovjeka kao i velika sličnost TSH plavetnog kita i ostalih kopnenih sisavaca. Jednako tako, istraživanja su potvrdila da sintetski ACTH i goveđi TSH u dobrog dupina i bijelog kita izazivaju fiziološki odgovor ciljnih organa što također govori o homologiji hormona hipofize među različitim skupinama sisavaca (AUBIN, 2002.).

2.6. Biologija dobrog dupina

Dobri dupin, *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821), je robusnijeg izgleda u usporedbi s ostalim vrstama dupina. Osim zbijenijeg tijela i glava je takva, s kratkim i nešto debljim kljunom. Zbog varijacija, unutar vrste, u veličini, obliku i boji tijela najčešće se govori o dvije varijante, manji dupin koji živi u obalnom području i veći u otvorenom moru i oceanima. Boja tijela varira od svijetlo sive do tamno sive ili sivo smeđe, pri čemu je najtamnija na leđima, postrance prelazi u svijetliju da bi na trbuhu postala bijeličasta ili blago ružičasta. Leđna peraja položena je na sredini leđne crte, srpolikog oblika, tamno obojena, s tim da joj oblik individualno varira tako da služi za razlikovanje pojedinih jedinki. Po Leatherwood-u i sur. (1983.) nije rijetko da nedostaje u pojedinih jedinki koje žive u polarnom području. Dužina tijela kreće se od 1,9 do 3,9 m, prosječna masa je oko 275 kg, s tim da su ženke nešto sitnije od mužjaka. Dužina tijela novorođenih dupina iznosi od 0,85 do 1,3 m, masa od 15 do 30 kg. Vrijeme laktacije traje 18 mjeseci pa i do 2 godine. Životni vijek je oko 40 godina, a procjena dobi se prvenstveno temelji na izgledu zubala. Hrane se raznim vrstama riba i beskralježnjaka. Populacije koje žive u obalnim područjima svoj način hranjenja prilagođavaju aktivnostima ribara, hraneći se otpatcima ribarenja ili krađu ulov iz mreža. Nastanjuju gotovo sva svjetska mora i oceane s tim da obalne populacije ulaze duboko u zaljeve, lagune, luke, ušća i rijeke po nekoliko milja uzvodno. Stanje populacije dobrog dupina u Hrvatskom dijelu Jadranskog mora procjenjuje se na oko 220 jedinki (GOMERČIĆ i SUR.1998.). Dobri dupin je jedina vrsta koja trajno živi i razmnožava se u Jadranskom moru.

2.7. Biologija plavobijelog dupina

Plavobijeli dupin, *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833.) životinja je tanjeg, izduženog kljuna što je jedna od glavnih značajki cijelog roda koji je po tome i dobio ime, a ime vrste opisuje i osnovnu boju životinje. Lateralna površina tijela na sebi ima karakteristične crne pruge, jednu od oka do anusa i drugu od oka do kranijalnog prihvata prsne peraje. Taj dio tijela nosi i dobro vidljivu bijelu traku oblika slova „V“ koja počinje

oko oka i pruža se s dva kraka prema leđnoj peraji. Osnovna boja tijela u području leđa varira od svijetle sive, do tamno sive ili plavo sive, dok je trbuh bijeli do svjetlo ružičast (LEATHERWOOD I SUR., 1983.; ARCHER I PERRIN, 1999.). Glava je laganija sa područjem melona koje je, dobro izraženim pregibom, odvojeno od kljuna. Broj zuba iznosi 78-106 / 78-110 (CARWARDINE, 1995.). Prosječna duljina tijela ovog dupina iznosi od 1,8 do 2,5 m, pri čemu su ženke nešto manje i lakše od mužjaka, iako podaci dobiveni na sredozemnoj populaciji govore o nepostojanju spolnog dimorfizma. Spolnu zrelost dosežu pri duljini tijela od 1,8 do 1.9 m, a rađaju se dugi oko 1 m. Mase su od 90 do 150 kg (CARWARDINE, 1995.).

Najviše su istraživani u sjeverozapadnim morima Tihog oceana gdje je ustanovljeno da imaju produženu sezonu parenja koja traje tijekom cijele zime, proljeća, a moguće i tijekom kasnog ljeta. Smatra se da gravidnost traje oko 12 do 13 mjeseci (ARCHER i PERRIN, 1999.). Prosječna laktacija traje od 6 do 12 mjeseci iako ima podataka da neke jedinke još u drugoj godini starosti nisu odbijene od sise, s tim da mladunčad u dobi od tri mjeseca uzima i drugu hranu. Jedinke spolno sazrijevaju u dobi od 5 do 6 godina. Ženke u prosjeku rađaju jedno mladunče svake tri godine. Prosječan životni vijek procjenjuje se na 25 do 30 godina. Žive u jatima koja u oceanima broje i više stotina jedinki, dok su u manjim morima uočene manje skupine. U prirodi su prepoznatljivi po izrazitoj aktivnosti pri površini voda u smislu čestog iskakanja s karakterističnim položajima tijela. Hrane se ribom, glavonošcima, mekušcima i rakovima. Mogu se pronaći u svim tropskim i subtropskim, toplim morima. Smatraju se i stalnim stanovnicima Sredozemnog mora dok su u Jadranskom moru samo povremeno uočeni (GOMERČIĆ i SUR. 1994.; BEARZI i SUR., 1998.).

3. MATERIJAL I METODE

3.1. Životinje

Istraživanje je provedeno na hipofizama ukupno četiri životinje. Po jedna hipofiza uzeta je od konja i psa. Korišteni su organi iz zbirke konzerviranih anatomskih preparata domaćih životinja koji se koriste za nastavu iz anatomije u Zavoda za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Uzorak hipofize konja potječe od starije životinje koja je korištena u kliničkoj nastavi, a na kraju je i eutanazirana u Klinici za kirurgiju, ortopediju i oftalmologiju. Pas čija je hipofiza korištena u ovom radu, eutanaziran je u Zavodu za opću patologiju i patološku morfologiju za potrebe nastave na fakultetu. Obje životinje eutanazirane su tijekom 2006. godine. Hipofize konja i psa na neki način, poslužile su kao kontrolni uzorak, budući da je njihova osnovna mikroskopska građa već dosta istraživana.

Hipofize dupina uzete su iz zbirke konzerviranih organa dupina u okviru znanstveno-istraživačkog projekta «Zdravstvene i ostale biološke osobitosti sisavaca Jadranskoga mora» (voditelj projekta: prof. dr. sc. Hrvoje Gomerčić, 2006.) u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju. Po jedna hipofiza uzeta je od plavobijelog dupina (*Stenella coeruleoalba*) i dobrog dupina (*Tursiops truncatus*). Obje vrste su u Hrvatskoj najstrože zaštićene prema Pravilniku o zaštiti pojedinih vrsta sisavaca (Mammalia) Zakona o zaštiti prirode, donesenom 17. svibnja 1995. godine i obje životinje uginule su u prirodi.

Plavobijeli dupin (D27) je stariji mužjak, ukupne tjelesne dužine od 198 cm i mase od 99 kg. Prema metodi GLG (Growth Layer Groups) brojanja slojeva dentina zuba starost životinje je procijenjena na oko 11 godina. Dupin je uočen i praćen dva dana u rijeci Krki kod Skradina gdje je uginuo u prisustvu djelatnika Nacionalnog parka Krka, 23. lipnja 1999. godine. Odmah po uginuću životinja je ohlađena na temperaturi 4°C, a zatim prebačena u zamrzivač na temperaturu od -18°C, te je sljedećeg dana dopremljena na Veterinarski fakultet u Zagreb gdje je obavljena razudba. Pri tome su uzeti različiti

uzorci organa, među kojima i hipofiza životinje, kao i kompletan kostur koji se također čuva u zbirci kostura morskih sisavaca u istom zavodu.

Dobri dupin (D141) je mlađa ženka, dužine 282 cm i mase 197 kg, pronađena na obali otoka Murtera 19. listopada 2005. godine. Tijelo uginulog dupina dopremljeno je u Zagreb i obrađeno na Veterinarskom fakultetu.

3.2. Uzimanje uzoraka i metode obrade

Za potrebe ovog istraživanja korištene su histološke metode bojenja kojima su prikazane tkivne komponente hipofiza istraženih životinja. Mikroskopski preparati su analizirani istraživačkim mikroskopom, Nikon – Microphot FXA i stereomikroskopom Nikon – SMZ - U, te snimljeni digitalnom kamerom, Sony – CCD IRIS / RGB Color Video Camera. Dobivena digitalna fotografija snimljena je u osobno računalo i obrađena aplikativnim softwareom Adobe Photoshop 7.0.

3.2.1. Bojenje hemalaunom i eozinom (HE)

Uzorci hipofiza namijenjeni proučavanju morfologije fiksirani su u 4% neutralnom formalinu. Nakon fiksacije u formalinu, materijal je dehidriran te uklopljen u parafinske blokove koji su zatim rezani na odsječke debljine 0,5 - 3 μm . Nakon deparafiniranja u ksilolu i padajućim koncentracijama etanola, obojeni su hemalaunom i eozinom. Uzorci su zatim isprani vodom, dehidrirani, te uklopljeni u kanadski balzam i dobiveni su trajni mikroskopski preparati (ROMEIS, 1968.).

3.2.2. Bojenje tkiva Mallory metodom (Mallory)

Deparafinirani tkivni odsječki su tretirani otopinom 0,5% kiselog fuksina i vodenom otopinom anilinskog plavila-oranža-G po ROMEISU (1968.). Ova metoda je diferencijalna histološka metoda kojom se različite vrste tkiva u uzorku istraženog organa, različito oboje. Materijal jezgre se oboji crveno, kolagena vlakna plavo, kao i sluz, amiloid i osnovna hrskavična tvar, crvena krvna zrnca i mijelin su žuti, kromatofobne stanice ostaju sive boje (ROMEIS, 1968.).

3.2.3. Bojenje tkiva po Massonu (Masson-trichrome)

Ovo diferencijalno tkivno bojenje temelji se na tri Massonove boje, a to su Massonov light green, Massonov kiseli fuksin i Massonovo anilinsko plavilo. Nakon obrade uzoraka ovim bojama, jezgre se oboje crno, citoplazma i njeni elementi se oboje crveno, mišićna vlakna su crvena, narančasta postaju crvena krvna zrnca, a kolagena vlakna i mucin se oboje zeleno ili plavo (ROMEIS, 1968.).

3.2.4. Bojenje tkiva metakromazijom s toluidinskim modrilom (Toluidin)

Ova metoda koristi se za bojenje sulfatnih mukopolisaharida koji se oboje metakromatski crveno do ljubičasto. Karioplazma u stanici oboji se plavo. Pojam metakromazija označava sposobnost tkiva da se oboji različitim nijansama unatoč tretiranju s istom bojom (ROMEIS, 1968.).

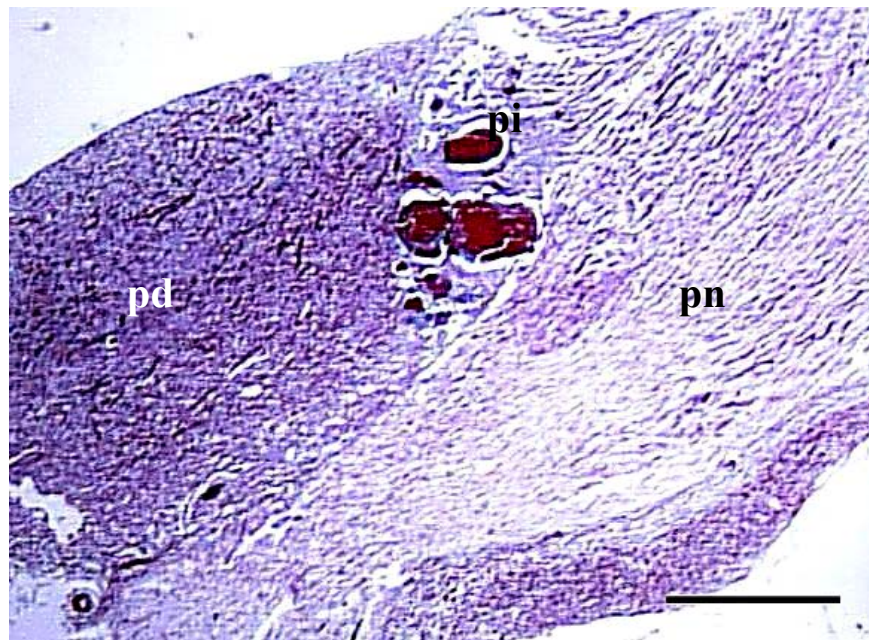
3.2.5. Bojenje tkiva Periodic Acid-Schiff –metodom (PAS)

Periodic acid-Schiff metoda po Mc Manusu (PAS) se temelji na oksidaciji polisaharida s perjodnom kiselinom uz nastanak aldehidnih skupina nakon tretiranja s Schiffovim reagensom. Na to se dodaje bazični fuksin koji se veže duž lanca polisaharida dajući crveno do purpurno obojenje. Metoda je provedena na parafinskim odsječcima tkiva (ROMEIS, 1968.).

4. REZULTATI

4.1. Hipofiza konja

Na poprečnom presjeku hipofize konja jasno se vide sva tri dijela od kojih je sastavljena žlijezda. Od drška hipofize protežu se vlakna pars nervosa u unutrašnjost žlijezde. Pars nervosa je sa svih strana okružen stanicama adenohipofize. Dobro se uočava i pars intermedia koji se nalazi između pars nervosa i pars distalis. Oko infundibuluma i pars nervosa vide se brojne krvne žile koje se protežu duž pars intermedija i razgranavaju po ostatku žlijezde (**slika 2**).

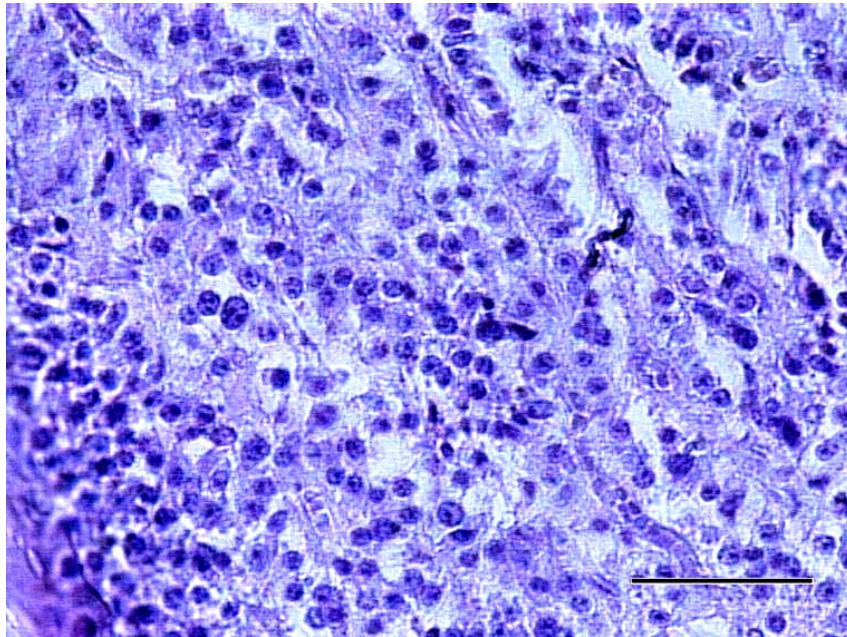


Slika 2. Podužni presjek hipofize konja (**pn**, pars nervosa; **pi**, pars intermedia; **pd**, pars distalis).

Masson, 0,4 x 2,5; mjerilo 3 mm.

Unutar pars nervosa se vide brojna živčana vlakna bez mijelinskih ovojnica između kojih se vide i jezgre pojedinačnih stanica koje odgovaraju pituicitima, specifičnim glija stanicama pars nervosa hipofize. Živčana vlakna i pojedinačni stanični elementi neurohipofize konja ne pokazuju PAS reakciju.

Unutar pars intermedia vide se okruglaste ili ovalne jezgre gusto raspoređenih okruglastih stanica koje se hemalaunom i eozinom boje blago bazofilno. Plavo se oboje i Mallory – bojenjem, metakromazijom toluidinom kao i Masson – trichrom bojenjem (**slika 3**). PAS reakcija u stanicama pars intermedia hipofize konja je vrlo slaba.

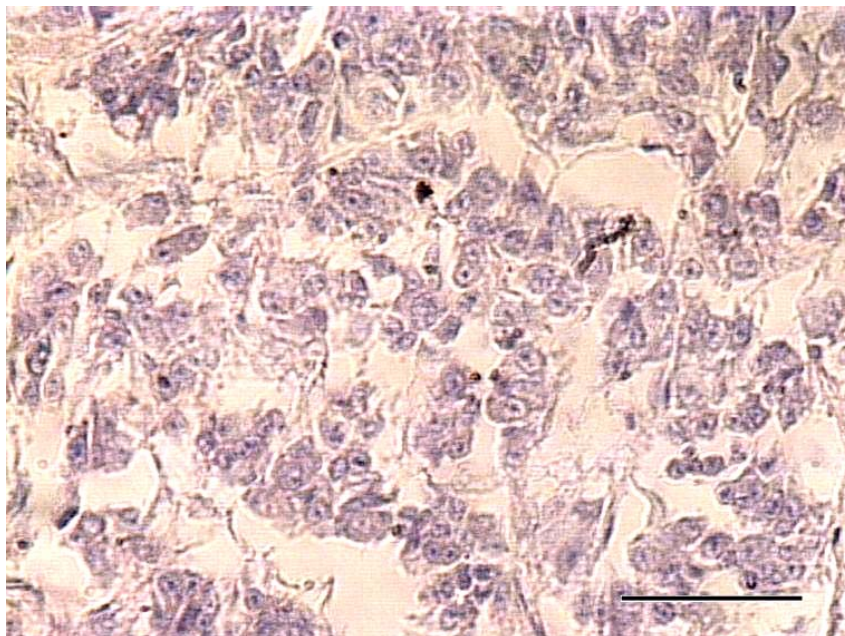


Slika 3. Stanice pars intermedia konja. HE, 40 x 2,5; mjerilo 50 μm .

Pars distalis hipofize konja pokazuje mnoštvo stanica među kojima se dobro razlikuju kromofobne od kromofilnih stanica, a među njima je uočljiva razlika bazofilnih i acidofilnih stanica. Sve tri vrste stanica dobro se razlikuju svim metodama bojenja.

Kromofobne stanice ostaju nebojene kod svih primjenjenih bojenja, osim kod PAS reakcije gdje se ove stanice ne mogu diferencirati od kromofilnih stanica. Na podužnom i poprečnom presjeku hipofize konja uočljiva je ravnomjerna zastupljenost kromofobnih stanica u svim dijelovima pars distalis počevši od rubnog dijela prema unutrašnjem dijelu, odnosno prema pars intermedia i pars nervosa. Kromofobne stanice su većinom pojedinačne, a rjeđe i kao male nakupine od dvije do tri stanice.

Kromofilne stanice pars distalis hipofize konja jasno se razlikuju. Bazofilne stanice imaju jasno izraženu okruglu ili ovalnu, tamnije obojenu jezgru. Citoplazma im je obojena svjetlijom plavom bojom u svim primjenjenim metodama bojenja. Pokazuju i umjerenu PAS reakciju koja je po intenzitetu slična ostalim stanicama pars distalis (**slika 4**).

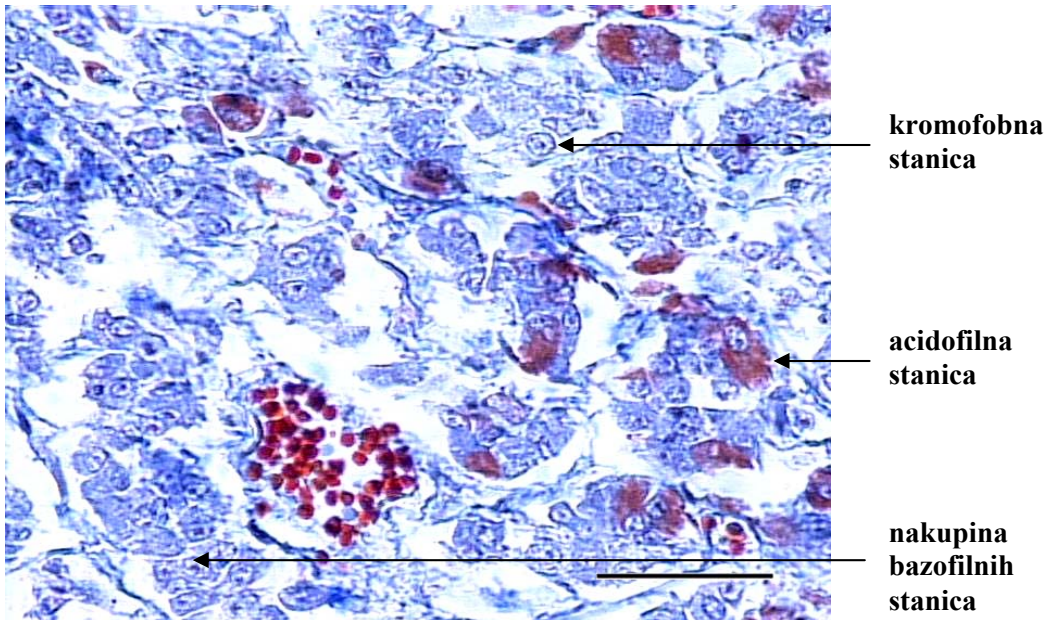


Slika 4. Stanice pars distalis hipofize konja. PAS, 40 x 2,5; mjerilo 50 μ m.

Na poprečnom presjeku vide se različito oblikovane nakupine bazofilnih stanica koje su veće u središnjem dijelu pars distalis hipofize nego u njegovom rubnom dijelu. Ista slika vidljiva je i na podužnom presjeku kada se preparat cijele hipofize konja promatra od rubnog dijela organa prema pars intermedia i pars nervosa. Bazofilne stanice su po brojnosti najzastupljenije.

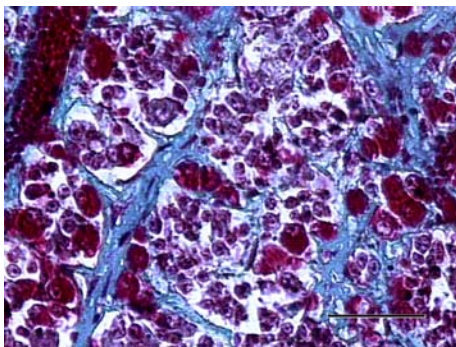
Acidofilne stanice su dobro uočljive. Bojenjem po Massonu, a pogotovo Mallory – bojenjem, ove stanice su izrazito crveno obojene i pod velikim povećanjima se dobro vidi njihova granuliranost. Stanice su velike, različito oblikovane, a dobro se vidi i tamno obojena okrugla ili ovalna jezgra. Acidofilne stanice pars distalis hipofize konja nisu tako brojne kao bazofilne, ali se uočavanju veće nakupine na rubnim dijelovima pars distalis

hipofize. Raspoređene su u manjim ili većim nakupinama koje na mjestima oblikuju duže ili kraće tračke (slika 5).

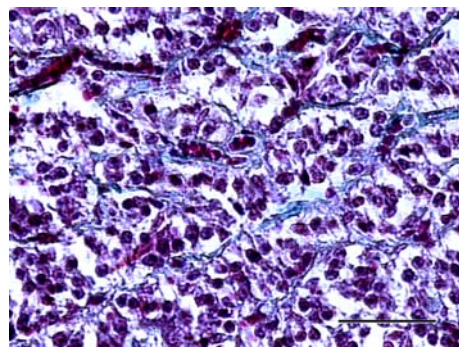


Slika 5. Stanice pars distalis hipofize konja. Mallory, 40 x 2,5; mjerilo 50 μm .

U pars distalis hipofize konja na mjestima se jasno vide nježni vezivnotkivni trački koji okružuju nakupine stanica. Ovakva reznjevitost intenzivnije je izražena u blizini većih krvnih žila, ali se postepeno smanjuje i gubi, što je najbolje uočljivo bojenjem po Massonu (slika 6, slika 7).



Slika 6.

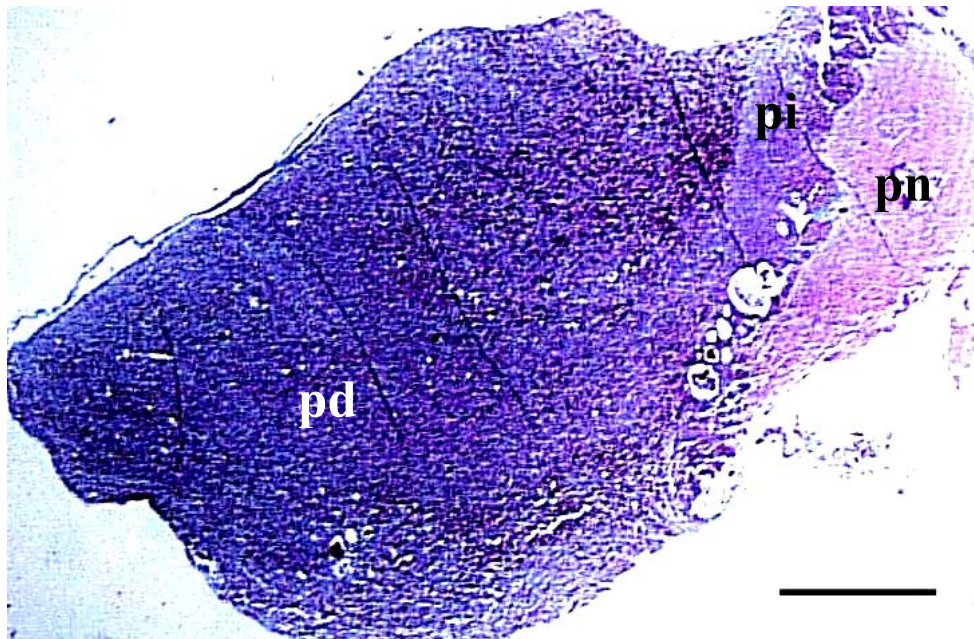


Slika 7.

Pars distalis hipofize konja, vezivnotkivni trački obojeni su zelenom bojom. Masson; 40 x 2,5 (slika 6); mjerilo 50 μm i 20 x 2,5 (slika 7); mjerilo 100 μm .

4.2 Hipofiza psa

Na poprečnom presjeku hipofize psa jasno se uočavaju sva tri dijela žlijezde. Stanice adenohipofize u potpunosti okružuju pars nervosa. Dobro je vidljiv i pars intermedia, smješten između pars nervosa i pars distalis. Prisutne su i krvne žile koje su najgušće raspoređene u pars nervosa. (slika 8).

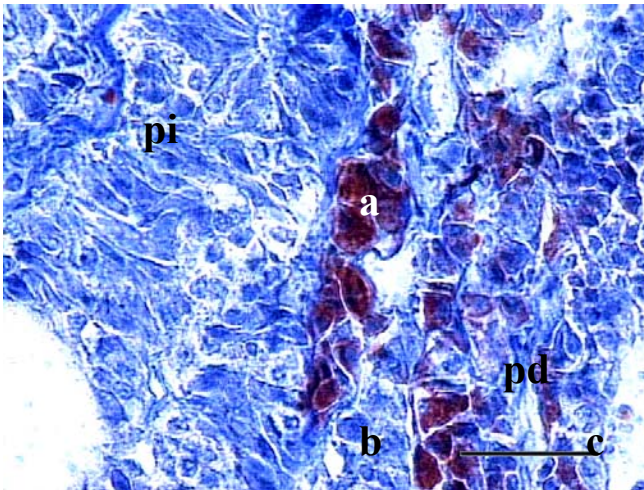


Slika 8. Podužni presjek hipofize psa (**pd**, pars distalis; **pi**, pars intermedia; **pn**, pars nervosa) Masson, 0,4 x 2,5; mjerilo 3 mm.

Pars nervosa uglavnom čine nemijelizirana živčana vlakna između kojih su brojne krvne žile kao i stanice s ovalnim jezgrama koje bi odgovarale pituicitima. Stanice ovog dijela hipofize psa ne pokazuju PAS reakciju.

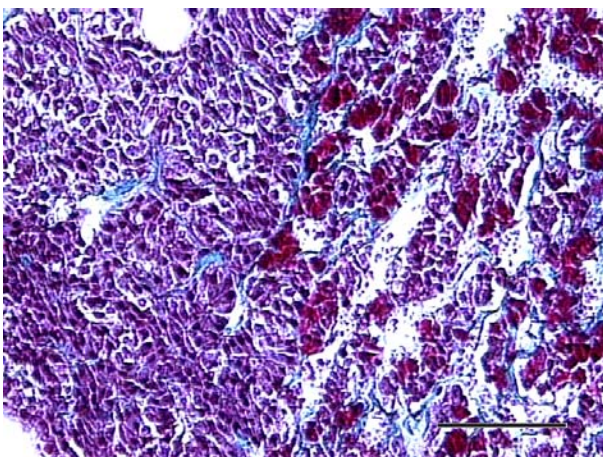
Unutar pars intermedia vide se gusto raspoređene stanice s okruglastim ili ovalnim jezgrama od kojih su neke nebojene, dok su druge obojene blago bazofilno i to kod svih korištenih metoda bojenja, osim PAS metode gdje je reakcija slaba.

Pars distalis hipofize psa čine mnogobrojne stanice među kojima se razlikuju kromofobne od kromofilnih stanica, a među njima je uočljiva razlika bazofilnih i acidofilnih stanica. Kromofobne stanice ostaju nebojene kod svih primjenjenih bojenja. Pojavljuju se pojedinačno i u manjim skupinama. Među kromofilnim stanicama dobro se razlikuju bazofilne i acidofilne stanice. Bazofilne stanice su plavo obojene, sa okruglim do ovalnim jezgrama s vidljivom zrnatom građom citoplazme. Acidofilne stanice imaju okrugle ili ovalne jezgre i granule u citoplazmi. Acidofilne stanice su intenzivnije crveno obojene pri čemu se posebno ističu kod bojenja po Massonu, a pogotovo po Malloryu gdje se boje žarko crveno. Vidljive su nakupine acidofilnih stanica na prijelazu pars distalis u pars intermedia (slika 9).



Slika 9. Prijelaz pars intermedia (**pi**) u pars distalis (**pd**) hipofize psa. Vide se acidofilne (**a**), bazofilne (**b**) i kromatofobne (**c**) stanice. Mallory, 40 x 2,5; mjerilo 50 μm .

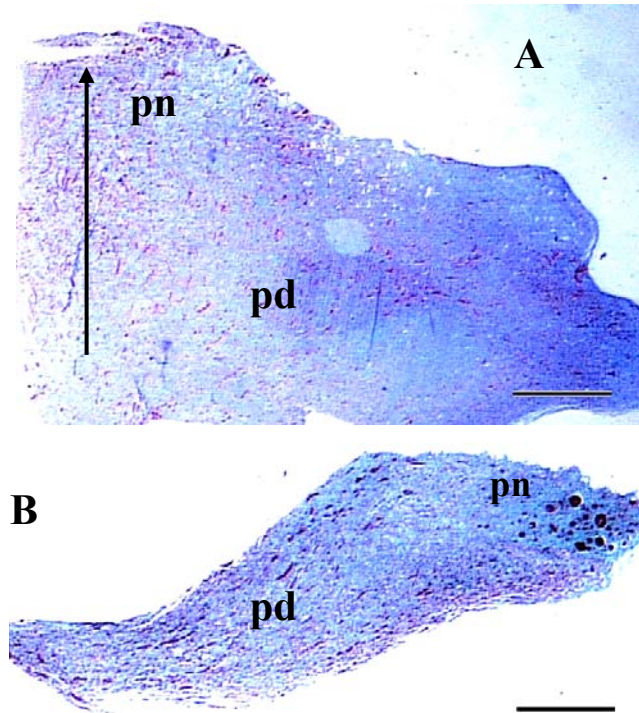
Vidljivi su nježni, vrlo slabo izraženi vezivno tkivni tračci koji okružuju veće ili manje nakupine stanica pars distalis hipofize (slika 10).



Slika 10. Prijelaz pars intermedia u pars distalis hipofize psa. Vezivnotkivni tračci obojeni su zelenom bojom. Masson, 20 x 2,5; mjerilo 100 μm .

4.3. Hipofiza dobrog dupina

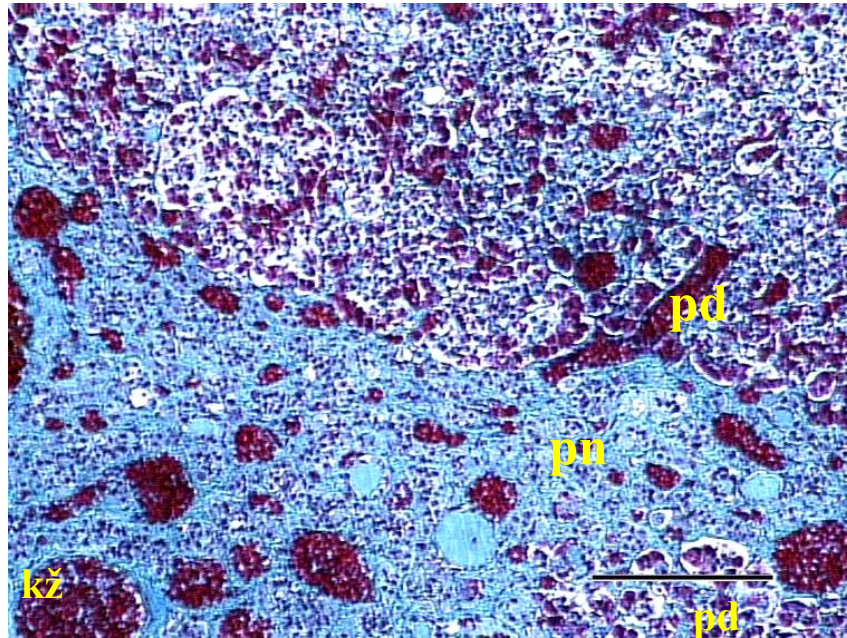
Na podužnom presjeku hipofize dobrog dupina jasno se razlikuju pars nervosa i pars distalis. Pars intermedija se ne uočava. Unutar pars nervosa vide se gusta živčana vlakna i pojedinačne stanice okruglastih ili ovalnih jezgara. Vide se i presjeci krvnih žila koji su gust raspoređeni i unutar dijela pars distalis koji se naslanja na infundibulum i pars nervosa (slika 11 A; 11 B).



Slika 11 A, B. Prikazan je poprečni presjek u vodoravnoj ravnini desne polovice hipofize dobrog dupina (**A**) i medijani podužni presjek hipofize dobrog dupina (**B**). Strelica na slici 11A označava položaj poprečnog presjeka slike 11B, a označeni su pars nervosa (**pn**) i pars distalis (**pd**).

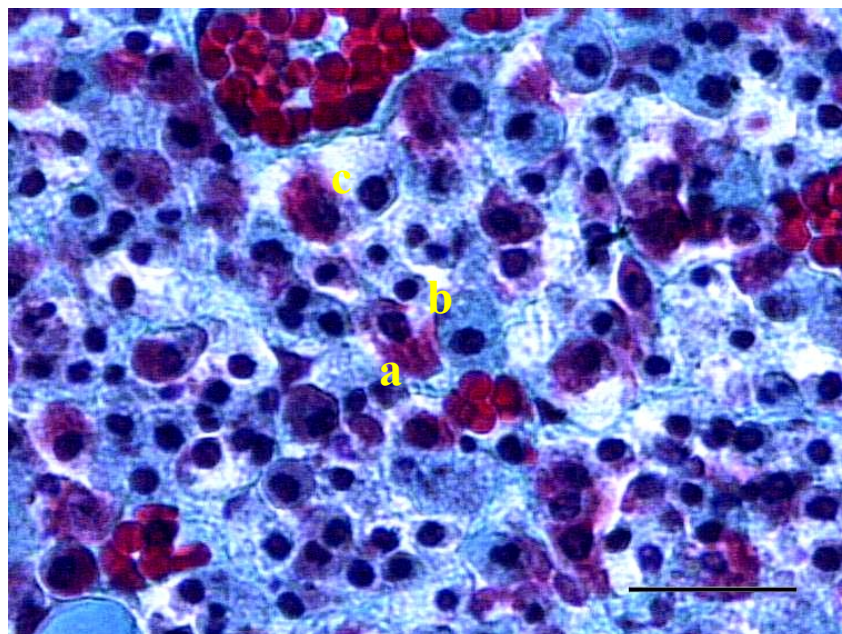
Mallory, 0,4 x 2,5; mjerilo 3mm.

Pars nervosa hipofize dobrog dupina poput krakova urasta u tkivo pars distalis. Na većim mikroskopskim povećanjima vidi se oštra granica između spomenuta dva dijela bez prijelaznog tkiva koje bi upućivalo na postojanje pars intermedia hipofize. Ovaj prijelaz posebno je dobro izražen Masson bojenjem (slika 12). Unutar hipofize dobrog dupina nisu uočeni vezivnotkivni tračci, osim male količine vezivnog tkiva oko krvnih žila.



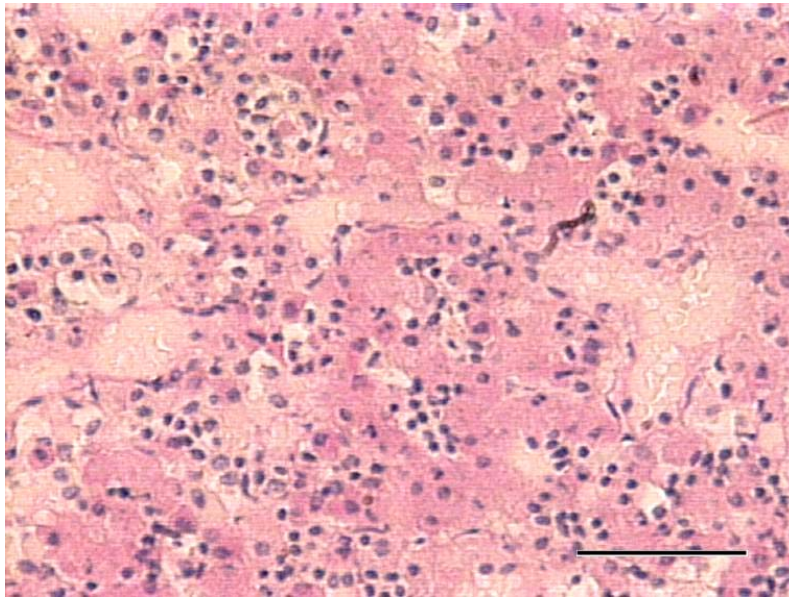
Slika 12. Prijelaz pars nervosa u pars distalis hipofize dobrog dupina, vidi se pars nervosa (**pn**), pars distalis (**pd**) i brojne krvne žile (**kž**). Masson, 10 x 2,5; mjerilo 200 μm .

Svim primjenjenim histološkim metodama dobro se razlikuju osnovne stanice pars distalis hipofize dobrog dupina (slika 13).



Slika 13. Kromofilne, acidofilne (**a**), bazobilne (**b**) i kromofobne (**c**) stanice pars distalis hipofize dobrog dupina. Masson, 60 x 2,5; mjerilo 30 μm .

Spomenute stanice pokazuju i PAS pozitivnu reakciju. Među pojedinim stanicama je vidljiva razlika u intenzitetu PAS - reakcije od slabe ili negativne do vrlo jake reakcije (slika 14).

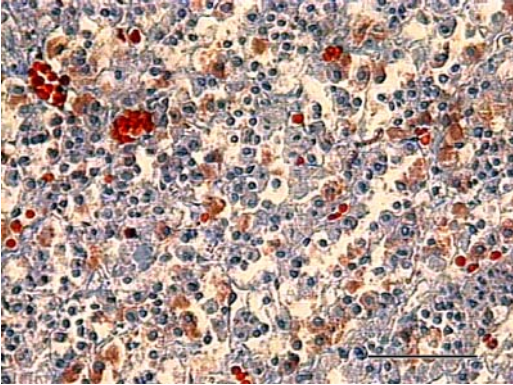


Slika 14. Stanice pars distalis hipofize dobrog dupina. PAS, 20 x 3,75; mjerilo 70 μ m .

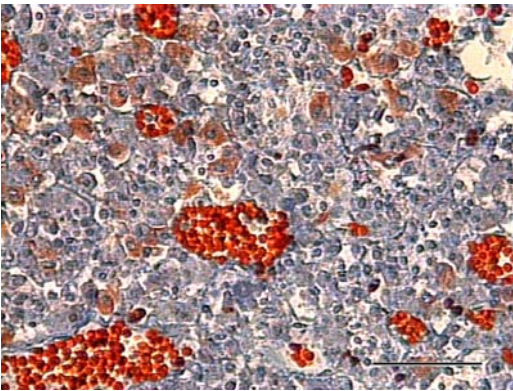
Kromofobne stanice pars distalis hipofize dobrog dupina različite su veličine, okruglog, ovalnog ili poligonalnog oblika. Jezgra je okrugla ili ovalna, tamnije obojena, a citoplazma ne pokazuje obojenost kod svih korištenih histoloških metoda. Također, pri metakromaziji sa toluidinom kromofobne stanice ostaju nebojene. Na podužnom presjeku hipofize može se pratiti raspored ovih stanica. Kromofobne stanice su brojne u rubnim dijelovima hipofize, a prema sredini organa njihov broj se smanjuje (slike 15, 16 17).

Kromofilne stanice pars distalis hipofize dobrog dupina jasno su razdvojene na bazofilne i acidofilne stanice. Bazofilne stanice imaju okrugli ili poligonalan oblik te okruglastu, tamnije obojenu jezgru. Citoplazma tih stanica intenzivno je plavo obojena kod Mallory - bojenja ili plavozelena kod Masson - bojenja, te je vidljiva i njena granuliranost. U središnjem dijelu hipofize gušće su raspoređene u odnosu na rubne dijelove organa, pogotovo u usporedbi sa kromofobnim stanicama. Bazofilne stanice dolaze u većim ili manji nakupinama (slike 15, 16, 17). Acidofilne stanice su najveće od svih stanica pars distalis hipofize, ali su u usporedbi sa kromofobnim i bazofilnim stanicama najmanje zastupljene. Imaju okruglaste jezgre, te acidofilno obojenu

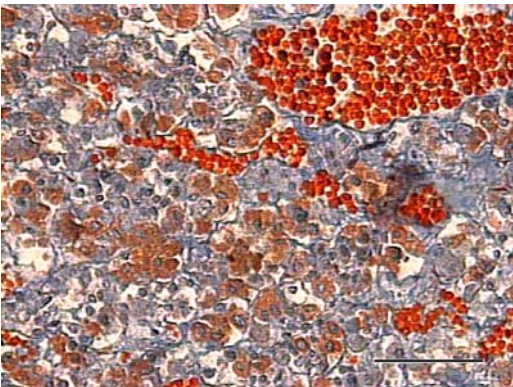
granuliranu citoplazmu. Citoplazma acidofilnih stanica crveno je obojena eozinom kod bojenja hemalaunom i eozinom, te intenzivno crveno je obojena kod Mallory i Masson – bojenja. Te stanice su prisutne u manjim ili većim nakupinama nepravilna oblika ili izduženim nakupinama koje oblikuju tračke. Kromofilne stanice hipofize dobrog dupina pokazuju metakromaziju pri čemu se acidofilne stanice oboje intenzivnijom ili tamnijom plavom bojom od bazofilnih stanica. Raspored acidofilnih stanica je uglavnom ravnomjeran po cijelom presjeku hipofize (slike 15, 16, 17).



Slika 15. Rubni dio pars distalis hipofize dobrog dupina. Mallory, 20 x 3,75; mjerilo 70 μm .

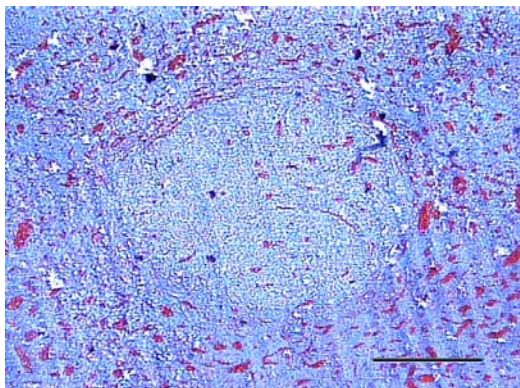


Slika 16. Prijelazni dio pars distalis hipofize dobrog dupina. Mallory, 20 x 3,75; mjerilo 70 μm .

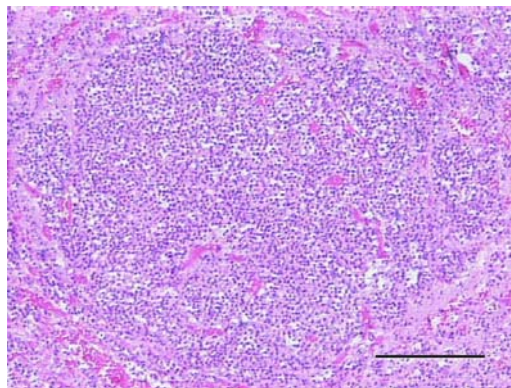


Slika 17. Unutarnji dio pars distalis hipofize dobrog dupina. Mallory, 20 x 3,75; mjerilo 70 μm .

U središnjem dijelu podužnog presjeka desne polovice pars distalis hipofize dobrog dupina uočena je ograničena nakupina stanica koje se razlikuju od ostatka hipofize. Nakupina stanica je okruglog do blago ovalnog oblika i jasno se razlikuje od okolnog tkiva, ali u području razgraničenja nema vezivnog tkiva. U serijskim rezovima promjer ove nakupine stanica se povećava u dubljim slojevima hipofize, odnosno smanjuje se u rezovima rubnog dijela hipofize. Stanice ove nakupine blago se boje bazofilnim bojama (slika 18, 19) i ne pokazuju PAS aktivnost.

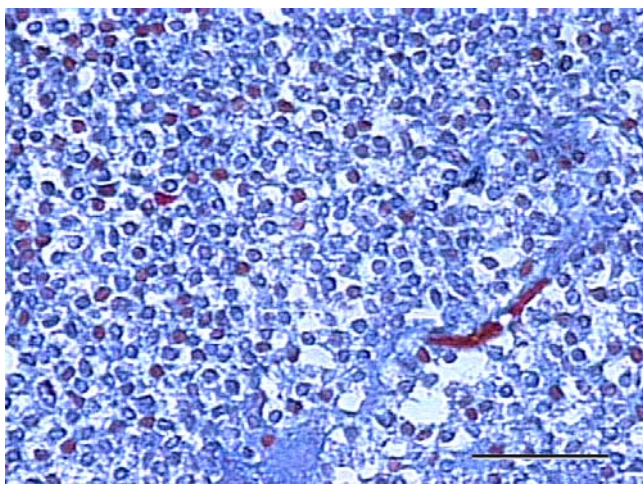


Slika 18. Ograničena nakupina stanica u pars distalisu hipofize dobrog dupina. Mallory, 4 x 2,5; mjerilo 500 μm .



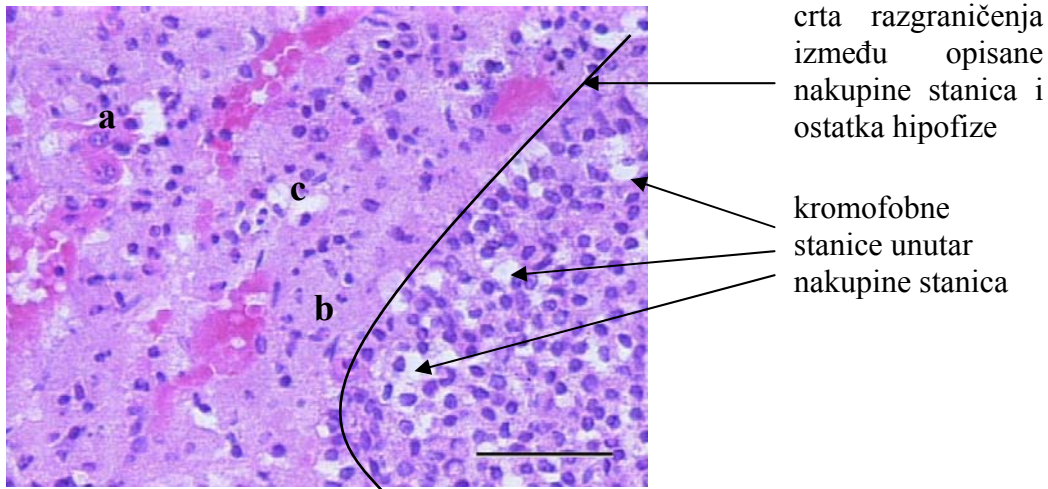
Slika 19. Ograničena nakupina stanica u pars distalisu hipofize dobrog dupina. HE, 10 x 2,5; mjerilo 200 μm .

Većina stanica ovog područja pars distalis hipofize dobrog dupina imaju bazofilno obojenu jezgru, a pri Mallory – bojenju uočljive su i acidofilno obojene jezgre (slika 20).



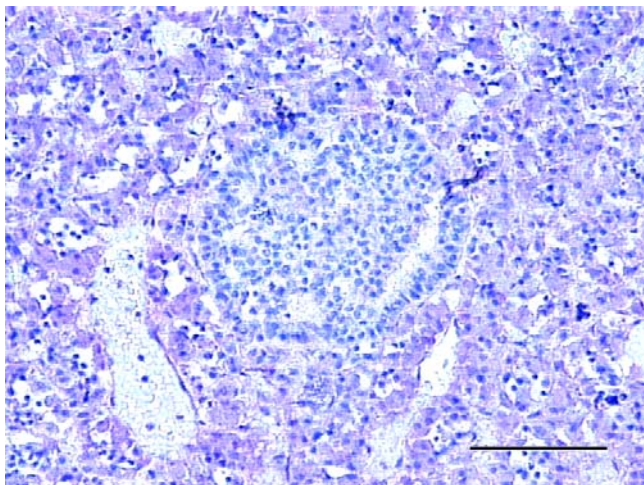
Slika 20. Nakupina stanica unutar pars distalis hipofize dobrog dupina. Mallory, 40 x 2,5; mjerilo 50 μm .

Citoplazma većine stanica boji se vrlo slabo bazofilno kod svih korištenih metoda. Stanice su manje u odnosu na okolne kromofilne i kromofobne stanice pars distalis hipofize. Unutar nakupine se vide i pojedinačne kromofobne stanice koje veličinom i oblikom odgovaraju stanicama pars distalis hipofize i kao takve su znatno veće od ostalih stanica nakupine (slika 21).



Slika 21. Prijelaz između nakupine specifičnih stanica i ostalih, tipičnih stanica pars distalis hipofize dobrog dupina (acidofilne, **a**; bazofilne, **b**; kromofobne, **c**). Vide se pojedinačne nebojene stanice. HE; 40 x 2,5; mjerilo 50 μm .

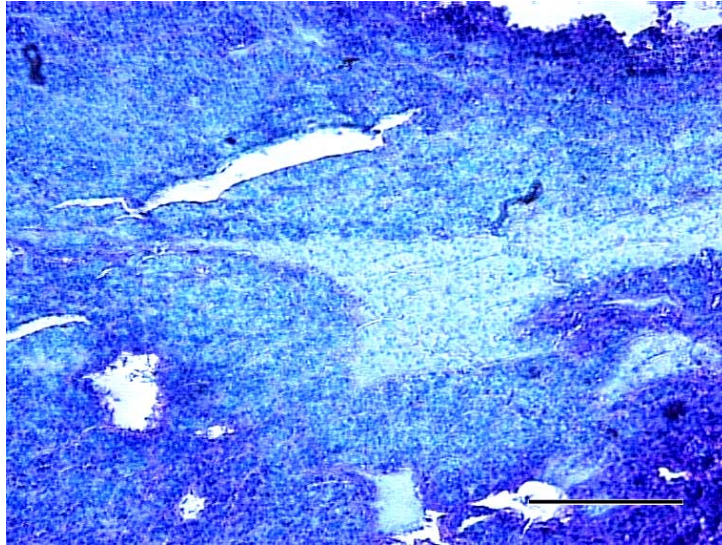
Kraniomedijalno od opisane nakupine stanica uočena je još jedna, znatno manja nakupina stanica istih svojstava (slika 22). U serijskim podužnim rezovima hipofize, spomenuta nakupina se postepeno smanjuje i nestaje.



Slika 22. Manja nakupina stanica u pars distalisu hipofize dobrog dupina. Toluidin, 20 x 2,5; mjerilo 100 μm .

4.4. Hipofiza plavobijelog dupina

Na podužnom presjeku hipofize plavobijelog dupina jasno se razlikuje pars nervosa i pars distalis hipofize, a pars intermedia na mjestu razgraničenja spomenutih dijelova hipofize se ne uočava. Unutar pars nervosa se vide živčana vlakna i pojedinačne stanice koje bi odgovarale specifičnim glija stanicama hipofize, pituicitima (slika 23).

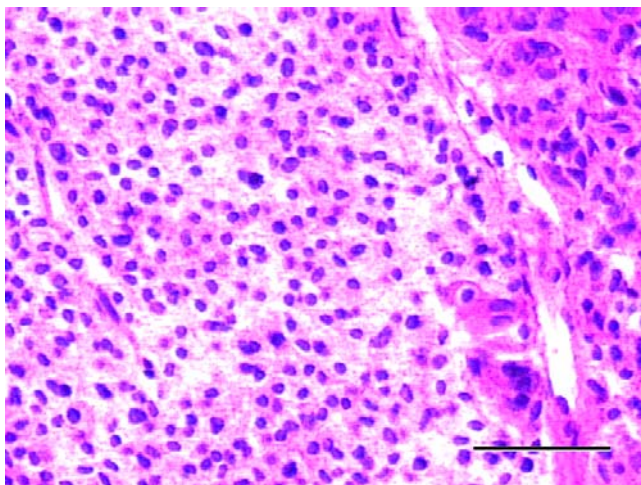


Slika 23. Uraštanje pars nervosa u pars distalis hipofize plavobijelog dupina. Toluidin, 10 x 2,5; mjerilo 200 μm .

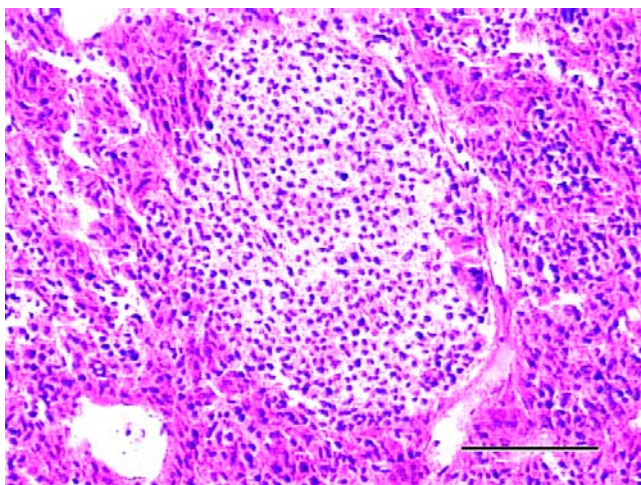
Unutar pars distalis hipofize dobro se razlikuju kromofilne i kromofobne stanice pri svim korištenim histološkim metodama. Spomenute stanice pokazuju i slabu PAS pozitivnu reakciju. Vidljive stanice pars distalis hipofize su velike stanice različitih poligonalnih ili ovalnih oblika, a imaju okruglu ili ovalnu bazofilnu jezgru.

Spomenute stanice pokazuju metakromaziju pri bojenju toluidinom, pri čemu su acidofilne stanice tamnije obojene od bazofilnih stanica, slično kao i kod Masson – bojenja, dok kod Mallory – bojenja acidofilne stanice poprimaju žarko crvenu boju za razliku od bazofilnih stanica koje se oboje plavo. Kromofobne stanice ne primaju boje prilikom svih korištenih histoloških metoda, osim njihove jezgre koja se oboji bazofilno. Između ovih stanica nisu uočeni vezivnotkivni tračcia, osim manje količine vezivnog tkiva oko krvnih žila.

Unutar pars distalis hipofize plavobijelog dupina vide se guste nakupine manjih, slabo obojenih stanica (slika 24). Dobro se ističu u odnosu na ostatak pars distalis hipofize. Osim jedne, veće nakupine stanica, uočeno je još nekoliko manjih nakupina stanica sa istim svojstvima (slika 25).



Slika 24. Prijelaz pars distalis hipofize plavobijelog dupina u nakupinu slabije obojenih stanica. HE, 40 x 2,5; mjerilo 50 μm .



Slika 25. Nakupina slabije obojenih stanica unutar pars distalis hipofize plavobijelog dupina. HE, 20 x 2,5; mjerilo 100 μm .

5. RAZMATRANJE

Hipofize konja i psa su sličnog oblika i svojom morfoloijom odgovaraju tipičnim hipofizama kopnenih sisavaca. Na presjeku žlijezde jasno se mogu razlikovati sva tri dijela. Pars nervosa je građen od nemijeliniziranih živčanih vlakana između kojih se nalaze specifične glija stanice hipofize, pituiciti. Pars nervosa čini stražnji režanj hipofize pri čemu je kod konja nešto rostralnije položen nego u psa. Pars intermedija nalazi se između pars nervosa i pars distalis hipofize, a u konja i psa se na pojedinim mjestima može vidjeti i rezidualni lumen (BLOOM i FAWCET, 1994.). Stanice pars intermedia konja su manje od susjednih stanica pars distalis. Svojom morfoloijom odgovaraju navodima iz literature, a jedino stanice pars intermedia psa pokazuju određeni polimorfizam. Većina stanica su okrugle ili ovalne sa okruglim jezgrama, a u rubnom području pars intermedija prema pars distalisu, nalaze se izdužene, gotovo cilindrične stanice sa izduženim jezgrama. Pri različitim tehnikama bojenja ove stanice pokazuju ista svojstva kao i ostale stanice pars intermedia. Stanice pars intermedija psa i konja slabo se oboje bazofilnim bojama, a ne pokazuju aktivnost ni pri PAS reakciji što također odgovara literaturnim opisima ovih stanica u domaćih životinja i čovjeka (BLOOM i FAWCET, 1994.; JUNQUEIRA, 2005.). Promatranjem svjetlosnim mikroskopom, stanice pars distalis hipofize konja i psa pokazuju osnovnu podijelu na kromofilne i kromofobne stanice. Pri tome kromofobne stanice ne primaju boje pri svim korištenim metodama bojenja. Kromofilne stanice se dijele na acidofilne, koje se oboje acidofilnim bojama i bazofilne, koje imaju afinitet prema bazofilnim bojama kod svih korištenih bojenja. Kod bojenja po Malloryju i Massonu spomenuta razlika između ovih stanica izrazitija je nego kod klasičnog bojenja hemalaunom i eozinom jer acidofilne boje, metilorange-G kod Malloriyevog bojenja i kiseli fuksin kod Massonova bojenja, daju intenzivno crveno obojenje acidofilnih stanica. PAS reakcija daje slabije pozitivnu reakciju u sve tri vrste stanica pars distalis hipofize što također odgovara nalazu u čovjeka (HORVATH i KOVACS, 1994). U hipofizi konja je uočeno da se na prijelazu pars distalis u pars intermedia nalazi više bazofilnih stanica što bi se moglo usporediti s pars tuberalisom adenohipofize čovjeka građenim od bazofilnih stanica (JUNQUEIRA,2005.). Hipofize konja i psa bogato su vaskularizirane, te se vide presjeci

brojnih krvnih žila različitog promjera. Oko krvnih žila hipofize konja prisutno je više vezivnog tkiva nego u hipofizi psa. Vezivno tkivo se zrakasto širi među stanice pars distalis hipofize oblikujući manje nakupine stanica. Udaljavajući se od krvne žile tračci vezivnog tkiva se postepeno gube kao i spomenuta režnjevost. U psa je ovaj nalaz slabije izražen.

Hipofiza u obje istražene vrste dupina je izdužena, oblika spljoštenog štapića poprečno položenog na dno lubanjske šupljine. Držak hipofize i pars nervosa nalaze se u središnjem dijelu organa te na taj način svojim oblikom hipofiza dupina odstupa od sličnog oblika hipofize kako u konja i psa, tako i u drugih kopnenih sisavaca i čovjeka. Mogući razlog je u tome što se izmijenio koštani odnos lubanjskih kostiju zbog razvoja melona i pomicanja nosnih otvora dorzalno s posljedičnim postranim širenjem lubanje (LUCIĆ, 2002.). Postrani dijelovi hipofize u obje istražene vrste dupina zadebljani su u odnosu na središnji dio organa u području pars nervosa i infundibuluma. Nastavljajući se na infundibulum, pars nervosa hipofize dupina dijeli se na dva kraka od kojih svaki, razgranavajući se, urasta u postrane dijelove hipofize koji čine njen pars distalis. Prateći infundibulum i pars nervosa, na isti način u pars distalis urastaju i krvne žile portalnog krvotoka hipofize (OKAMOTO i IHARA, 1960.). Zbog ovakvog odnosa adenohipofize i neurohipofize dupina koji se znatno razlikuje od onoga u konja, psa, čovjeka i drugih kopnenih sisavaca, teško je govoriti o neurohipofizi kao stražnjem i adenohipofizi kao prednjem režnju hipofize. Pars nervosa čine nemijelizirana živčana vlakna među kojima se nalaze samostalne stanice koje bi mogle odgovarati pituicitima, kao i brojne krvne žile, pri čemu je vaskularizacija posebno dobro izražena u obje istražene vrste dupina. Taj prijelaz pars nervosa u pars distalis u dupina posebno dobro dolazi do izražaja pri bojenju po Massonu gdje se na podužnom presjeku jasno vide krakovi neurohipofize koji se razgranavaju u postrano smještenim dijelovima adenohipofize.

U pars distalis hipofize obje istražene vrste dupina dobro se diferenciraju kromofobne i kromofilne stanice pri svim korištenim metodama bojenja. Kromofobne stanice su velike, okrugle do ovalne sa neobojenom citoplazmom i tamnijom okruglom jezgrom, koje su u konja i psa podjednako raspoređene u pars distalis, dok u dupina predstavljaju najbrojnije stanice rubnih dijelova pars distalis hipofize. Prema neurohipofizi i središnjem dijelu hipofize broj kromofobnih stanica se smanjuje, a

povećava se broj bazofilnih stanica. Ovakav odnos i raspored stanica pars distalis hipofize u konja i psa nije uočen. Među kromofilnim stanicama kod obje istraživane vrste dupina jasno se razlikuju bazofilne i acidofilne stanice prema afinitetu prema bojama. Jednako kao u konja i psa, bazofilne stanice su najbrojnije stanice pars distalis hipofize i u obje istražene vrste dupina. Nisu uočene razlike ni u morfologiji bazofilnih stanica u istraženih vrsta dupina. Slično je i sa acidofilnim stanicama. U konja su vidljive nakupine acidofilnih stanica koje formiraju veće ili manje tračke brojnije u rubnim dijelovima pars distalis hipofize. U hipofizi psa takvi trački acidofilnih stanica na gusto su raspoređeni na pojedinim mjestima graničnog područja pars distalis i pars intermedia, dok se u dupina acidofilne stanice nalaze ravnomjerno raspoređene kroz pars distalis hipofize. Stanice pars distalis hipofize dupina pokazuju veću sposobnost metakromazije s toluidinom u odnosu na konja i psa. Kromofilne stanice hipofize dupina također se dobro razlikuju pri bojenjima po Massonu i Malloryju, slično kao i stanice hipofize konja i psa. Zbog toga su ova bojenja posebno prikladna za prikazivanje histološke građe pars distalis hipofize nego klasično bojenje hemalaunom i eozinom. Sve stanice pars distalis hipofize obje istražene vrste dupina reagiraju PAS pozitivno, a obojenje je znatno intenzivnije nego što je slučaj u stanicama hipofize konja i psa. Unatoč tome što je teško govoriti o stromi hipofize jer vezivno tkivo nije jako zastupljeno, a pogotovo ne pokazuje vidljivu mrežu vezivnotkivnih vlakana, ipak u hipofizi konja, a neznatno i u psa, reznjevitost je na mjestima izražena, pogotovo oko krvnih žila. To posebno dolazi do izražaja prilikom bojenja tkiva po Massonu i Malloryu, gdje nježna vlakna vezivnog tkiva poprimaju plavičasto ili zelenkastu boju. U hipofizama obje istražene vrste dupina vezivnotkivni trački nisu uočeni.

Osnovna razlika hipofiza istraženih vrsta dupina, konja i psa je ta, što se u istraženih vrsta dupina ne nalaze stanice pars intermedia niti šupljina hipofize (FLANIGAN, 1972.). Stanice pars intermedija se i u konja i psa boje blago bazofilno svim korištenim tkivnim metodama bojenja, osim pri PAS reakciji koja je vrlo slaba. U psa se stanice pars intermedia svojim oblikom međusobno razlikuju, većina stanica je okrugla ili ovalna, a na prijelazu prema pars distaliju adenohipofize vide se izdužene stanice sa okruglim ili izduženim, tamnijim jezgrama. Pars intermedia konja čine stanice

okruglog do ovalnog oblika sa okruglim, tamnije obojenim jezgrama. Zbog toga se na presjeku hipofize konja i psa jasno razlikuje pars intermedia koji je umetnut između pars nervosa i pars distalis. Takav pars intermedia hipofize u dupina nije uočen ni u plavobijelog (LUCIĆ, 2002.), ni u dobrog dupina.

U pars distalisu hipofize plavobijelog (LUCIĆ, 2002.) i dobrog dupina uočene su nakupine stanica koje su više ili manje pravilnog, okruglog ili ovalnog oblika, oštro ograničene od ostalih stanica adenohipofize. Nespecifične stanice unutar tih nakupina se pri korištenim metodama bojenja boje blago bazofilno, okruglog su do ovalnog oblika sa tamnije obojenim okruglastim jezgrama koje se bojenjem po Malloryju oboje crveno ili plavo. Stanice unutar nakupine su manje od ostalih stanica pars distalis hipofize dupina. Od opisanih nespecifičnih stanica, unutar nakupine se dobro razlikuju prisutne pojedinačne kromofobne stanice koje svojim oblikom i veličinom odgovaraju onima u ostatku pars distalis hipofize. Stanice unutar nakupine pokazuju slabiji intenzitet bojenja pri PAS reakciji. Primjećeno je da su te nakupine stanica manje i brojnije u adenohipofizi plavobijelog dupina. S obzirom da se slojevitim, serijskim rezanjem preparata, promjer presjeka te nakupine stanice mijenja, može se pretpostaviti da te nespecifične stanice čine okruglastu do ovalnu tvorevinu unutar pars distalis hipofize dupina. Stanice te nakupine u hipofizi dupina reagiraju na primjenjeno bojenje, a i svojim izgledom podsjećaju na stanice pars intermedia hipofize konja i psa što otvara mogućnost pretpostavke da su nakupine nespecifičnih stanica zapravo stanice pars intermedia hipofize dupina.

7. ZAKLJUČCI

1. Hipofize konja i psa su sličnog oblika i svojom morfologijom odgovaraju tipičnim hipofizama kopnenih sisavaca, dok hipofiza dupina svojim oblikom odstupa od hipofize konja, psa i ostalih kopnenih sisavaca.
2. Kod bojenja po Malloryju i Massonu razlika kromofilnih stanica izrazitija je nego kod klasičnog bojenja hemalaunom i eozinom jer acidofilne boje daju intenzivno crveno obojenje acidofilnih stanica u svih istraženih životinja..
3. U hipofizi konja je uočeno da se na prijelazu pars distalis u pars intermedia nalazi više bazofilnih stanica što bi se moglo usporediti s pars tuberalisom adenohipofize čovjeka građenim od bazofilnih stanica.
4. Oko krvnih žila hipofize konja prisutno je više vezivnog tkiva koja se zrakasto širi među stanice pars distalis okružujući manje nakupine stanica. S udaljavanjem od krvne žile vezivno tkivo se postepeno gubi, kao i spomenuta reznjevitost. U psa je ovaj nalaz slabije izražen, dok u hipofizama obje istražene vrste dupina vezivno tkivo nije uočeno.
5. Kromofobne stanice u dupina predstavljaju najbrojnije stanice rubnih dijelova pars distalis hipofize, prema neurohipofizi i središnjem dijelu hipofize njihov broj se smanjuje, a povećava se broj bazofilnih stanica što u konja i psa nije uočeno.
6. Stanice pars distalis hipofize dupina pokazuju veću sposobnost metakromazije s toluidinom u odnosu na konja i psa.
7. Osnovna razlika hipofiza istraženih vrsta dupina, konja i psa je ta, što se u dupina ne nalaze stanice pars intermedia niti šupljina hipofize.
8. U pars distalisu hipofize plavobijelog i dobrog dupina uočene su nakupine nespecifičnih stanica koje pokazuju slabiju PAS reakciju, a veličinom su manje i brojnije u adenohipofizi plavobijelog dupina.
9. Serijskim rezanjem preparata, promjer presjeka te nakupine stanice se mijenja pa se pretpostavlja da je okruglastog do ovalnog oblika unutar pars distalis hipofize dupina.
10. Stanice te nakupine u hipofizi dupina slično reagiraju na primjenjena histološka bojenja, a i svojim izgledom podsjećaju na stanice pars intermedia hipofize konja i psa.

7. POPIS LITERATURE

ARCHER, F. I., W. F. PERRIN (1999): *Stenella coeruleoalba*. Mammal. Spec.; 603; 1-9.

AUBIN, D. J. St. (2002): Endocrine systems. U: Marine Mammals Encyclopedia. Urednik: W. F. Perrin, B. Würsig, J. G. M. Thewissen. Academic Press. San Diego, California, USA.

BANKS, W. J. (1993): Applied veterinary histology. Third edition. Mosby Year Book, St. Louis, Baltimore, Boston, Chicago, London, Philadelphia, Sydney, Toronto.

BEARZI, G., C. M. FORTUNA, G. NOTOBARTOLO DI SCIARA (1998): Unusual sighting of a striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) in the Kvarnerić, Northern Adriatic Sea. Nat. Croat. 7; 169-176.

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

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

ELLENBERGER, W., H. BAUM (1943): Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere. Verlag von August Hirschwald, Berlin

FLANIGAN, N. J. (1972): The central nervous system. U Mammals of the sea. Biology and Medicine. (Urednik: S. Ridgway), Charles C. Thomas Publisher. Springfield, Illinois, USA; str. 215-246.

GOMERČIĆ, H., Đ. HUBER, T. GOMERČIĆ, A. GOMERČIĆ, D. ŠKRTIĆ, S. VUKOVIĆ (1994): Plavobijeli dupin (*Stenella coeruleoalba*, Meyen 1833) godine 1991. po prvi puta nađen u Jadranu. The striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*, Meyen 1833) for the first time found in the Adriatic Sea in 1991. U: Zbornik sažetaka priopćenja Petog kongresa biologa Hrvatske. Proceedings of abstracts of

the papers presented at The fifth congress of Croatian biologists (Urednik: H. Gomerčić). Hrvatsko biološko društvo. Zagreb. str. 340-341.

GOMERČIĆ, H., Đ. HUBER, D. MIHELIĆ, H. LUCIĆ, T. GOMERČIĆ, M. ĐURAS (1998): Procjena veličine populacije dobrog dupina u hrvatskom dijelu Jadrana. U: Zbornik sažetaka priopćenja 7. Hrvatskog biološkog kongresa; str. 229-230.

HORVARTH, E., K. KOVACS (1994): Morphology of adenohipophysal cells and pituitary adenomas. U: The pituitary gland (Urednik: H. Imura). Raven Press. New York.

JUNQUEIRA, L. C., J. CARNEIRO, R. O. KELLEY (2005): Osnove Histologije. Prema sedmom američkom izdanju, Školska knjiga, Zagreb.

LEATHERWOOD, S., R. REEVES, L. FOSTER (1983): The Sierra Club Handbook of Whales and Dolphins. Sierra Club Books. San Francisco.

LUCIĆ, H. (2002): Histološke i histokemijske osobitosti nekih organa PLAVOBIJELOG DUPINA (*Stenella coeruleoalba*) iz Jadranskoga mora. Magistarski rad. Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Zagreb.

OELSCHLÄGER, H. H. A., J. S. OELSCHLÄGER (2002): Brain. U: Marine Mammals Encyclopedia. Urednik: W. F. Perrin, B. Würsig, J. G. M. Thewissen. Academic Press. San Diego, California, USA.

OKAMOTO, S., Y. IHARA (1960): Neural and neurovascular connection between the hypothalamic neurosecretory center and adenohipophysis. Anat. Rec. 137; 485–491.

ROMEIS, B. (1968): Mikroskopische technik. R. Oldenbourg Verlag. Munchen, Wien.

SADLER, T. W. (1996): Langmanova medicinska embriologija. Školska knjiga. Zagreb.

8. SAŽETAK

Slabo je poznata detaljnija mikroskopska anatomija većine organa pa tako i hipofize morskih sisavaca. Ovo istraživanja opisuje osnovnu mikroskopsku građu hipofize dobrog i plavobijelog dupina primjenom različitih metoda histološkog bojenja, uspoređuje ih međusobno, kao i sa hipofizama konja i psa koje svojom morfologijom odgovaraju tipičnim hipofizama kopnenih sisavaca. Hipofiza u obje istražene vrste dupina je izdužena, oblika spljoštenog štapića, poprečno položenog na dno lubanjske šupljine. Držak hipofize i pars nervosa nalaze se u središnjem dijelu organa te na taj način svojim oblikom hipofiza dupina odstupa od sličnog oblika hipofize kako u konja i psa, tako i u drugih kopnenih sisavaca i čovjeka. Nastavljajući se na infundibulum, pars nervosa hipofize dupina dijeli se na dva kraka od kojih svaki, razgranavajući se, urasta u postrane dijelove hipofize koji čine njen pars distalis. Zbog ovakvog odnosa adenohipofize i neurohipofize dupina teško je govoriti o neurohipofizi kao stražnjem i adenohipofizi kao prednjem režnju hipofize. U pars distalis hipofize obje istražene vrste dupina dobro se diferenciraju kromofobne i kromofilne stanice. Prema neurohipofizi i središnjem dijelu hipofize broj kromofobnih stanica se smanjuje, a povećava se broj bazofilnih stanica. Ovakav odnos i raspored stanica pars distalis u konja i psa nije uočen. Sve stanice pars distalis hipofize obje istražene vrste dupina reagiraju PAS pozitivno, a obojenje je znatno intenzivnije nego u stanicama hipofize konja i psa. Osnovna razlika hipofiza istraženih vrsta dupina, konja i psa je ta, što se u dupina ne nalaze stanice pars intermedia niti šupljina hipofize. U pars distalisu hipofize kako plavobijelog, tako i dobrog dupina uočene su nakupine stanica koje su više ili manje pravilnog, okruglog ili ovalnog oblika, oštro ograničene od ostalih stanica adenohipofize. Stanice te nakupine u hipofizi dupina slično reagiraju na histološke boje, a i svojim izgledom podsjećaju na stanice pars intermedia hipofize konja i psa što otvara mogućnost pretpostavke da su nakupine nespecifičnih stanica zapravo stanice pars intermedia hipofize dupina.

ključne riječi: hipofiza dupina, plavobijeli dupin, dobri dupin, pars intermedia hipofize

9. SUMMARY

Comparative characteristics of the pituitary of the horse, dog, bottlenose dolphin and striped dolphin

Detailed microscopic anatomy of the most organs, also as pituitary of the marine mammals is less known. Those investigations intend to describe general microscopic structure of the pituitary of the bottlenose dolphin and striped dolphin with different histological techniques, and compare its results between two dolphin species and with the same data of the well-known pituitaries of horse and dog as typical land mammals. Pituitary of the both investigated dolphins is elongate, with shape of the flattened baton, which is transversally placed on the bottom of the cranial cavity. Infundibulum and pars nervosa are located in the middle part of pituitary, and because of that dolphin's pituitary is different from the pituitary of dog, horse, and human and other land mammals. Pars nervosa of the dolphin pituitary is pursued from the infundibulum, and it is divided on two arms which is ramificated, and which ingrowths in the lateral part or pars distalis of the pituitary. Because of that relation between neurohypophyse and adenohypophyse, it is difficult to talk about neurohypophyse as anterior, and adenohypophyse as posterior lobe of the dolphin's pituitary. The cells of the pars distalis pituitary of the both investigated dolphins are well differentiating. The number of the chromophobe adenohypophysal cells decrease from peripheral to the central part of the pituitary and neurohypophyse, and number of the basophile chromophile cells are increase. That relation and arrangement of the adenohypophysal cells was not observed in the pituitary of horse and dog. All cells of the pars distalis of the both investigated dolphins are positive on the PAS reaction, and that coloring is much intensive than in the same cells of the horse and dog. General difference between pituitary of investigated dolphins and horse and dog is absence of the pars intermedia and hypophyseal cavity in dolphin pituitary. In the pars distalis of the pituitary of the both investigated dolphins observed was circular or oval shaped groups of cells which are sharp demarcate from the other or typical adenohypophyseal cells. Cells of those groups from dolphin's pituitary have similar reactions on histological coloring as the cells of the pars intermedia of the horse

and dog pituitary. That data open new hypothesis about possibility that those unspecific cells in dolphin pituitary are cells of pars intermedia of the dolphin's pituitary.

key words: dolphin pituitary, striped dolphin, bottlenose dolphin, pars intermedia hypophyse

10. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 15. veljače 1979. godine u Bad Homburgu, Republika Njemačka, gdje sam proveo prvih šest godina života. Osnovnu školu sam završio u Zlataru, a srednju veterinarsku školu sam završio 1997. godine u Zagrebu. Nastavu na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu sam počeo slušati akademske godine 1997/1998. godine. Tijekom studija sam se bavio uzgojem plemenitih pasmina pasa, te povremeno volontirao u više Veterinarskih ambulanti.