

Masnokiselinski sastav različitih tkiva sivog puha (Glis glis)

Šiftar, Ozren

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:425266>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-27**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
VETERINARSKI FAKULTET

Ozren Šiftar

Masnokiselinski sastav različitih tkiva sivog puha (*Glis glis*)

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2020.

Ovaj rad izrađen je u Zavodu za fiziologiju i radiobiologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Predstojnica: prof. dr. sc. Suzana Milinković Tur

Mentorice: prof. dr. sc. Jasna Aladrović

doc. dr. sc. Lana Pađen

Članovi Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. izv. prof. dr. sc. Dean Konjević
2. prof. dr. sc. Jasna Aladrović
3. doc. dr. sc. Lana Pađen
4. doc. dr. sc. Ana Shek Vugrovečki

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA.....	2
2.1. Biologija sivog puha	2
2.1.1. Rasprostranjenost sivog puha	2
2.1.2. Porijeklo i klasifikacija puhova	3
2.1.3. Morfološke osobine i život puha	4
2.1.4. Etologija sivog puha	5
2.1.5. Lov na sivog puha	7
2.2. LIPIDI	7
2.2.1. Metabolizam lipida.....	7
2.2.1.1. Egzogeni transport.....	9
2.2.1.2. Endogeni transport.....	10
2.3. MASNE KISELINE	10
2.3.1. Klasifikacija, građa i uloga masnih kiselina	10
2.3.2. Metabolizam masnih kiselina	13
3. MATERIJALI i METODE.....	16
3.1. Životinje	16
3.2. Uzimanje i priprema uzoraka za analize	16
3.3. Ekstrakcija ukupnih lipida	17
3.4. Plinska kromatografija (GC)	17
3.5. Indeksi aktivnosti stearoil-CoA desaturaze	17
3.6. Statistička analiza rezultata	18
4. REZULTATI	19
5. RASPRAVA.....	29
6. ZAKLJUČCI	33
7. LITERATURA.....	34
8. SAŽETAK.....	41
9. SUMMARY	43
10. ŽIVOTOPIS	45

Zahvala

Zahvaljujem svojim mentoricama prof. dr. sc. Jasni Aladrović te doc. dr. sc. Lani Pađen koje su mi svojim vodstvom, strpljenjem, znanjem i savjetima pomogle u izradi ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem i svojim roditeljima i ostatku obitelji koji su mi sve omogućili i koji su zaslužni za sva moja postignuća.

Hvala svim prijateljima i kolegama te djelatnicima Veterinarskog fakulteta koji bili dio mojih studentskih dana.

Kratice

AA- arahidonska kiselina

DHA - dokozaheksaenska kiselina

EPA - eikozapentaenska kiselina

GC - plinska kromatografija

HDL - lipoproteini visoke gustoće

IDL - lipoproteini srednje gustoće

LA - linolna kiselina

LDL - lipoproteini niske gustoće

LNA - α -linolensku kiselinu

MK - masne kiseline

MUFA - jednostrukonezasićene masne kiseline

N.N. - Narodne novine

SFA - zasićene masne kiseline

PUFA - višestruko nezasićene masne kiseline

UFA - nezasićene masne kiseline

VLDL - lipoproteini vrlo niske gustoće

VLn-3PUFA - višestruko nezasićene masne kiseline dvrlo dugačkog lanca n-3 obitelji

1. UVOD

Sivi puh, hrvatska je autohtona divljač iz reda glodavaca, porodice puhova. Ulovljeni puhovi koriste se kao izvor bjelančevina u prehrani ljudi, otopljena mast se tradicionalno koristi za pomoć pri cijeljenju rana, a od krzna se izrađuju različiti predmeti.

Puhovi su prezimari, od travnja/svibnja do rujna neumorno se hrane kako bi nakupili masno tkivo u potkožje, oko unutarnjih organa i u tkiva. Masno tkivo prvenstveno ima mehaničku i izolacijsku ulogu štiteći tijelo od hladnoće. Potkožna mast sivom puhu služi kao izvor energije kada izađe van iz skrovišta. Masti su, nadalje, važne kao sastavni dio membrane stanica i prekursori u sintezi brojnih spojeva. Kroz različite biološke aktivnosti masne kiseline (MK) utječu na zdravlje, reprodukciju te su važne kao rizični faktor u nastanku bolesti. Sastav MK ovisi najviše vrsti hrane koju životinje uzimaju.

Kako do sada nije istraživana sastav MK u tkivima sivog puha, cilj rada je bio utvrditi masnokiselinski sastav različitih tkiva sivog puha neposredno pred povlačenje u gnijezdo i pripremu za prezimljavanje. Specifični cilj je bio utvrditi:

1. sastav MK tkiva jetre, bubrega, srca, mišića *m. gluteus superficialis* te potkožnog i abdominalnog masnog tkiva ženki i mužjaka sivog puha
2. kako spomenuti sastav MK utječe na biologiju i fiziologiju sivog puha
3. spolne razlike u sastavu MK u navedenim tkivima ženki i mužjaka sivog puha
4. omjere nutritivnih MK u tkivima ženki i mužjaka sivog puha
5. sličnosti i razlike masnokiselinskog sastava sivog puha sa životinjama koje hiberniraju i imaju sličnu prehranu.

2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

2.1. Biologija sivog puha

2.1.1. Rasprostranjenost sivog puha

Puhovi (*Gliridae*) pripadaju redu glodavaca (*Rodentia*) te su jedna od rijetkih skupina sisavaca s europskim podrijetlom (BARRETT-HAMILTON, 1898., 1899., HÜRNER i sur., 2010.). Sivi puh je rasprostanjen po središnjoj, južnoj, jugoistočnoj i istočnoj Europi (WILSON i REEDER, 2005.).

Rasprostranjeni su na cijelom području Republike Hrvatske (MARGALETIĆ i sur., 2006), ponajprije zbog visokog udjela šuma (37%). Sivi puh je svejed i najviše se hrani šumskim plodovima poput bukvice, žira, oraha, lješnjaka. U manjoj mjeri se hrani bobicama i voćem. Pored toga se hrani i beskralješnjacima te jajima ptica. Sivi puh je životinja koja hibernira, a najčešće razdoblje hibernacije je između listopada i svibnja. U prirodi ih se najviše uočava u kasno proljeće odnosno u travnju i svibnju, a najaktivniji su u noćnim satima (PERVAN i RADOČAJ, 2018.). Broj životinja u populaciji ovisi o dostupnosti hrane i naročito je veliki u godinama bogatog uroda bukvice koja mu je važna hrana (AMORI i sur., 1995, CVRTILA i sur., 2004).

Sivi puh se u prirodi primjećuje od druge polovica travnja te u svibnju, što ovisi o klimi i nadmorskoj visini (JURCZYSCZYN 1995; JURCZYSCZYN 2001; JURCZYSCZYN i WOLK 1998), dok od rujna do travnja spava zimski san (FORENBACHER, 2002).

Puhovi nastanjuju stara debla bukve, jele, gorskog javora, ali i pukotine u stijeni, potkrovlja ili podrume kuća (FORENBACHER, 2002). Ženka gradi gnijezdo od suhoga lišća, mahovine, grančica i drugog biljnog materijala (TRILAR 1997). Graviditet traje 30-32 dana te koti slijepe mlade koji sišu 28 dana, a osamostale se s dva mjeseca starosti. Spolno su zreli s oko 12 mjeseci i žive oko 9 godina (FORENBACHER, 2002).

Sivi puh je domaćin brojnim vrstama parazitskih organizama (KONJEVIĆ, 2007). U Europi, puhovi predstavljaju domaćina za prijenos lajmske borelioze zbog svoje dugovječnosti i privlačnosti krpeljima pa se bolest njima prenosi i više nego miševima i voluharicama (PERIĆ, 2016).

Sivi puhi je iz pojedinih područja Europe nestao vjerojatno zbog nekontrolirane sječe ili lošeg gospodarenja šumamate je stoga je u gotovo svim europskim zemljama zaštićen, a u nekima se nalazi u crvenoj knjizi ugroženih vrsta (PERIĆ, 2016). U Hrvatskoj, sivi puh je zaštićen sjeverno Sivi puhi je iz pojedinih područja Europe nestao vjerojatno zbog nekontrolirane sječe ili lošeg gospodarenja šumamate je stoga je u gotovo svim europskim zemljama zaštićen, a u nekima se nalazi u crvenoj knjizi ugroženih vrsta (PERIĆ, 2016). U Hrvatskoj, sivi puh je zaštićen sjeverno od rijeke Save, dok se južno od nje, prema Pravilniku o lovostaju, lovi između 1. listopada i 30. studenoga (N.N. 67/2010).

Lov je dozvoljen uporabom posebnih mrtvolovki (puholovkama) različitih oblika na koje se mora stavljati prirodan mamac. Za lov puha je također potrebna posebna dozvola koju izdaje ovlaštenik prava lova. Lov se vrši tako da se za dana postave mamci u puholovke, koje se pomoću dugog štapa postavljaju u krošnje bukava (PERIĆ, 2016).

Lov na puha, osim zadovoljavanja lovačke strasti, ima mnoge koristi za čovjeka (PERIĆ, 2016). Meso puha konzumirali su još stari Rimljani koji su uzgajali puhove u gastronomske svrhe, a i dan danas se jako cijeni puhova mast. Najviše masnog tkiva puh ima oko bubrega i u potkožnom tkivu, a cijeni se kao ljekovito sredstvo za cijeljenje rana i opekline te za brže zarastanje rana (PERIĆ, 2016).

Sivi puh nanosi štete u šumarstvu grizući kore mladih stabla zbog čega se pribjegava kontroli brojnosti populacije (MARGALETIĆ i sur., 2006). Puh ima mnogo prirodnih neprijatelja poput kune zlatice (*Martes martes*), kune bjelice (*Martes foina*), velike lasice (*Mustela erminea*), male lasice (*Mustela nivalis*), tvora (*Mustela putorius*), lisice (*Vulpes vulpes*), divlje mačke (*Felis silvestris*), risa (*Lynx lynx*), velike ušare (*Bubo bubo*), sove jastrebače (*Strix uralensis*) i šumske sove (*Strix aluco*) (JONES-WALTERS i CORBET 1991).

2.1.2. Porijeklo i klasifikacija puhova

Sistematska pripadnost puhova svrstava ih prema VIOLANI i ZAVA(1995):

KOLJENO: Svitkovci (*Chordata*)

PODKOLJENO: Kralježnjaci (*Vertebrata*)

RAZRED: Sisavci (*Mammalia*)

PODRAZRED: Pravi sisavci (*Theria, Eutheria*)

RED: Glodavci (*Rodentia*)

PORODICA Puhovi (*Gliridae*)

ROD: Glis (sin. *Myoxus*)

VRSTA: sivi (veliki) puh (*Glis glis* L.)

Najstariji fosili puhova nađeni su u zapadnoj Europi starosti 50 milijuna godina (PERIĆ, 2016, PERVAN i RADOČAJ, 2018). Vrhunac razvoja su imali u razdoblju od prije 26 milijuna godina pa sve do prije 5 milijuna godina kada su oni dominirali među svim glodavcima (PERVAN i RADOČAJ 2018).

U Hrvatskoj žive četiri vrste puha: krški puh (*Eliomys quercinus*), puh orašar (*Muscardinus avelanarius*), gorski puh (*Dryomys netedula*), sivi puh (*Glis glis*) (PERIĆ, 2016). Najbrojnija vrsta puha u Gorskom kotaru je sivi puh (MARGALETIĆ i sur., 2006).

2.1.3. Morfološke osobine i život puha

Dužina odrasloga sivog puha bez repa je u pravilu od 14 do 20 cm, a sam rep može biti dug od 10 do 16 cm (MARKOV, 2001). Dostiže tjelesnu masu do 260 grama (ANDREA, 1986).

Istraživanja u Hrvatskoj su pokazala da se prosječne vrijednosti duljine tijela puhova kreću između 30,2cm i 30,8cm, a polovicu toga (otprilike 15cm) čini rep (MARGALETIĆ i sur., 2006, KONJEVIĆ i sur., 2003). Prosjek mase tijela na našim područjima je u prosjeku od 112,2g do 119,6g, ali u jesen se ukupna tjelesna masa može povećati do 400g kako bi se skupilo što više tjelesne masti za hibernaciju (MARGALETIĆ i sur., 2006; JANICKI i sur., 2007).

Puhovi imaju gusto i sjajno krzno koje ih štiti od atmosferskih neprilika (VIETINGHOFF-RIESCH i FRHR, 1960). Na leđima krzno im je smeđesive do srebrnastosive boje, trbuh je bijele boje te oko očiju mogu imati uski tamni krug krzna (VIETINGHOFF-RIESCH i FRHR, 1960). Rep je cijelom duljinom prekriven dugom i gustom dlakom koja se podudara s osnovnom bojom leđa (VIETINGHOFF-RIESCH i FRHR, 1960). Oči su krupne, okrugle, crne boje i prilagođene gledanju po mraku jer su puhovi noćne životinje. Imaju male i okrugle uši te su obrasle sitnim osjetnim dlačicama (VIETINGHOFF-RIESCH i FRHR, 1960). Uške su vrlo pokretne te poput radara otkrivaju i najmanje šumove (SOKOLOV i KULIKOV 1987; JONES-WALTERS i CORBET, 1991). Još jedan važan mehanizam za snalaženje u mraku su dugi i pokretni brkovi pomoću kojih lakše pronalaze hranu (FIETZ i sur., 2005). Noge su specijalizirane za penjanje po drveću i skakanje po krošnjama, a pomoću dugih i oštih kandži se spretno mogu penjati po kori

drveća (MORRIS, 1997). Prsti su mu vrlo pokretljivi u skladu s penjanjem po drveću i krošnjama (STORCH, 1978). Na prednjim nogama ima četiri prsta (peti prst je zakržljao), a na zadnjim nogama su prisutni svi prsti (KAHMANN, 1965).

Za razliku od ostalih sitnih glodavaca zubi se jako razlikuju (KONJEVIĆ i sur., 2003). Sjekutići nemaju pravog korijena, nego rastu cijeli život neprestano se trošeći kako mu ne bi prerasli (DAAMS, 1981). Osim sjekutića, ima jedan par pretkutnjaka te tri para kutnjaka (HILLSON, 1990).

Puh u prirodi živi od 5 do 10 godina, a u zatočeništvu može živjeti i do 12 godina (MORRIS, 2004, GRUBEŠIĆ i RADOVIĆ, 1996). Sezona parenja započinje u svibnju ili lipnju, odmah nakon buđenja iz zimskog sna, a traje do sredine srpnja odnosno na višim nadmorskim visinama do početka kolovoza (BIBER, 1998, FIETZ i sur., 2004). Graviditet traje 30 do 32 dana. Ženke u prosjeku okote 4 do 6 golih, slijepih mladunaca (MORRIS, 2004). Mladunci se rađaju u razdoblju od sredine srpnja do početka rujna (BURGESS i sur., 2003). Mladunci sišu četiri tjedna te se ostamostale nakon otprilike 2 mjeseca (GĘBCZYŃSKI i sur., 1972). Sa majkom ostaju do njenog odlaska na prezimljavanje. Spolno zreli postaju s godinu dana (MORRIS, 2004).

2.1.4. Etologija sivog puha

Puh je životinja koja spava zimski san te se u prirodi primjećuje tek od druge polovice travnja i svibnja. Ranije će se buditi iz zimskog sna u toplije vrijeme i na nižim nadmorskim visinama (CASTEX i sur., 1984; BURGESS i sur., 2003; MARGARETIĆ i sur., 2006). Neki autori navode kako puh može unaprijed predvidjeti kava će biti sljedeća godina što se tiče prehrambenih prilika, pa tako ukoliko osjeti da će godina za njega biti gladna godina on ne žuri za jesenskim povlačenjem u pušine, već se hrani do kasno u jesen da bi skupio što više potkožne masti (SCHLUND i sur., 2002; PILASTRO, 1994; FIETZ i sur., 2005). Ukoliko se puh kasno povuče u zemlju, sljedeće godine brojnost populacije će biti manja (WILZ i HELDMAIER, 2000).

Tijekom vegetacije puhovi nastanjuju stara stabla bukve, jele, gorskoga javora i drugih vrsta te gnijezda rade od suhoga lišća, grančica i drugog biljnog materijala (FRANCO, 1990).

Iz skrovišta prvo izlaze slabiji i mlađi puhovi, vjerojatno jer su najgladniji i zato što su zadnji ulazili u pušine pa se za vrijeme zimskog sna nalaze na rubovima (HOODLESS i MORRIS, 1993; KRYŠTUFEK i sur., 2003). Temperatura tijela puha za vrijeme zimskog sna iznosi 4 °C, a

u aktivnom razdoblju 35 °C (MORRIS, 2004; GIROUD i sur., 2013). Frekvencija srca za vrijeme sna je niža i iznosi 5 otkucaja/min, a za vrijeme aktivnosti 450 otkucaja/min (MORRIS, 2004). U sezoni, prije zimskog sna, puhovi se neumorno hrane kako bi nakupili rezervne tvari u obliku potkožne masti, ali za vrijeme hibernacije oni minimalno troše tu mast jer su im vitalne životne funkcije usporene pa je i metabolizam masti usporen (RUF i sur., 2006). Potkožna mast manje služi kao izvor energije, nego što ima mehaničku i izolacijsku ulogu štiteći tijelo od hladnoće (WILZ i HELDMAIER 2000). Metabolizam masti se aktivira tek kada puh izađe van iz skrovišta u proljeće i nađe dovoljno količinu hrane za životne funkcije (WILZ i HELDMAIER, 2000).

Ukoliko u proljeće puh ne nalazi dovoljno hrane, vraća se u skrovište te prespava cijelo ljeto, jesen i iduću zimu (JALLAGEAS i ASSENMACHER, 1984; JURCZYSZYN, 1995). Ovaj fenomen omogućava puhova mast (CARPANETO i CRISTALDI, 1995; KONJEVIĆ i KRAPINEC, 2004; CVRTILA i sur., 2004).

Puh nije društvena životinja i s drugim puhom se druži samo tijekom razdoblja razmnožavanja i prezimljavanja (MORRIS 2004). Mladi puhovi se zadržavaju uz majke sve do odlaska u skrovište za vrijeme zimskog sna (KRATOCHVIL, 1973).

Puhova prehrana je raznolika i on je po definiciji svejed (ÖZKAN, 2006). Usprkos raširenom uvjerenju da jede samo sjemenje drveća i grmlja, on za normalan razvoj treba i nešto masne hrane pa s time u vezi pojede svu životinjsku hranu na koju naiđe (FRANCO, 1990; RODOLFI, 1994; SCINSKI i BOROWSKI, 2008). Najviše se hrani bukvicom, a jede i žirove, lješnjake, orahe, kestene, razne bobice (malina, kupina, borovica, jagoda), gljive, voće, lišće, pupove, iglice i kore, ptičja jaja, mlade ptiće i kukce te otpatke ljudske hrane (FRANCO, 1990, RODOLFI, 1994; SCINSKI i BOROWSKI, 2008). Prije hibernacije uzimaju hranu s više linolenske kiseline (KRYŠTUFEK, 2010).

Puhovi su uglavnom aktivni od sumraka do zore (JANICKI i sur., 2007). Trajanje aktivnosti ovisi o duljini dana pa su tako najdulje aktivni u rujnu kada provedu vani i 11 sati, dok su najkraće aktivni u kolovozu, kada vani provedu 4 sata (RODOLFI, 1994). Najaktivniji su u jesenskim vedrim noćima u vremenu između 22 i 2 sata ujutro (HUTTERER i PETERS, 2001).

Puh, u planinskim područjima i na većim nadmorskim visinama, na prezimljavanje odlazi ranije (GĘBCZYŃSKI i sur., 1972). Prije povlačenja u zimska skloništa pročišćavaju želudac raznim travama, iglicama i sokovima četinjača te zadnjih nekoliko dana ne jedu da na spavanje krenu prazna želuca (JALLAGEAS i ASSENMACHER, 1984; JURCZYSZYN, 1995). Za vrijeme

zimskog sna se skupljaju u velike skupine, gusto zbijeni jedan do drugoga kako bi trošili što manje energije (BIEBER, 1995). U zimskom snu provede minimalno sedam mjeseci (od studenoga do svibnja) (PERIĆ, 2016).

2.1.5. Lov na sivog puha

Lov na puhove potječe iz vremena Rimskog carstva (KONJEVIĆ i KRAPINEC, 2004). Puh se u Hrvatskoj lovi zbog ukusnog mesa, krzna, ljekovite masti i često zbog velike brojnosti te se spada u tradicionalnu lovnu divljač (GRUBEŠIĆ i RADOVIĆ, 1996). U Hrvatskoj se najviše lovi u Istri, Gorskom kotaru na Braču, Hvaru i Krku. Love se u jesen kada su i najdeblji. U Hrvatskoj su sivi puhovi sjeverno od rijeke Save zaštićeni Zakonom o zaštiti prirode (N.N. 127/19), odnosno Pravilnikom o proglašenju divljih svojti zaštićenim i strogo zaštićenim (N.N. 99/09) (PERIĆ, 2016).

Zakonom o lovstvu (N.N. 140/05 i 75/09), sivi puh je tretiran kao sitna divljač. Prema Pravilniku o lovostaji (N.N. 67/10) sivi puh se može loviti od 01. listopada do 30. studenog. Dozvole za lovljenje puhova izdaju pojedine šumarije kao sastavnice poduzeća Hrvatske šume d.o.o. sukladno Zakonu o lovu iz 1994. godine (N.N. 10/94).

Puh se može loviti sljedećim metodama: lovom pomoću mrtvolovki, lovom pomoću tuljaca, lovom u dupljama, puškom te lovom pomoću kamena i daske (PERIĆ, 2016). Na području Republike Hrvatske sive puhove je dozvoljeno loviti samo mrtvolovkama (KONJEVIĆ i KRAPINEC, 2004).

2.2. LIPIDI

2.2.1. Metabolizam lipida

Lipidi su organski spojevi netopljivi u vodi i neizostavni su dijelovi mnogih procesa: izgrađuju stanične membrane, pohranjuju energiju, djeluju kao hormoni, kofaktori enzima i unutarstanični glasnici (XENOLIUS i STEINER, 2008; RIFAI i sur., 1999; GUYTON i HALL, 2012). Kemijski gledano, to su esteri MK i organskih alkohola glicerola i sfingozina (TVRZICKI

i sur., 2011). U lipide ubrajamo nekoliko kemijskih spojeva prisutnih u tijelu i hrani. Među njima su: neutralne masti odnosno trigliceridi, fosfolipidi, kolesterol (GUYTON i HALL 2012).

Glavno spremište lipida u organizmu je masno tkivo (VERNON, 1981; STILINOIĆ, 1993; GUYTON i HALL, 2012). Klinički su najznačajnije tri skupine lipida: MK, steroli (kolesterol) i acilgliceroli (trigliceridi) (XENOLIUS i STEINER, 2008; RIFAI i sur., 1999; GINSBERG, 1998). Lipidi su netopljivi u vodi zbog MK, te se u plazmi prenose u obliku lipoproteina, sastavljenih od kolesterilnih estera, triacilglicerola i fosfolipida (TVRZICKI i sur., 2011). Lipoproteini su micelarne čestice koje imaju strukturu sfere koja se sastoji od hidrofobne jezgre gdje su smješteni lipidi (trigliceridi) i hidrofilnog vanjskog sloja kojeg čine fosfolipidi, kolesterol i proteini (XENOLIUS i STEINER, 2008; BAUER 2004; JOHNSON 2005). Lipoproteini potječu iz lipida unesenih hranom koji se nakon probave u enterocitima prevode u lipoproteine ili nastaju nakon mobilizacije lipida iz masnih naslaga ili se sintetiziraju u jetri (STILINOVIĆ, 1993). Lipoproteini su prema fizikalno-kemijskim karakteristikama podijeljeni u nekoliko klasa: hilomikroni, lipoproteini vrlo niske gustoće (VLDL), lipoproteini srednje gustoće (IDL), lipoproteini niske gustoće (LDL) i proteini visoke gustoće (HDL) (GINSBERG, 1998; XENOLIUS i STEINER, 2008). Lipoprotein HDL se može dalje podijeliti na HDL1 (koji je jedinstven za pse), HDL2 i HDL3 (MAHLEY i WEISGRABER, 1974; BAUER, 2004; WATSON i BARRIE, 1993; GINSBERG, 1998; RIFAI i sur., 1999; JOHNSON 2005; GUYTON i HALL, 2012). Proteini koji su sastavni dio lipoproteina poznati su kao apolipoproteini (ili apoproteini) te imaju važnu ulogu u transportu i metabolizmu lipida (XENOLIUS i STEINER, 2008; JOHNSON, 2005; ŠTRAUS i PETRIK, 2009). Svaka od frakcija lipoproteina se razlikuje po lipidnom i proteinskom sastavu pa su tako glavna lipidne komponente VLDL-a i hilomikrona trigliceridi, a LDL-a i HDL-a su esteri kolesterola i fosfolipidi (SMITH i sur., 1978). Lipoproteini veće gustoće su manje veličine, sadržavaju više proteina i manje lipida (SMITH i sur., 1978; BAUER, 1996). Najveći lipoproteini su hilomikroni, a uloga im je transport resorbiranih lipida u cirkulaciji (BAUER, 1996). Lipoproteini VLDL, LDL, IDL i HDL imaju ulogu u endogenom transportu lipida bilo prijenosa lipida do tkiva ili iz njega te također sudjeluju u reakcijama izmjene lipida (BAUER, 1996).

Metabolizam lipida se dijeli na egzogeni put u kojem sudjeluju lipidi unijeti putem hrane i endogeni put u kojem sudjeluju lipidi stvoreni u tijelu (GINSBERG, 1998; RIFAI i sur., 1999; BAUER, 1996; XENOLIUS i STEINER, 2008).

2.2.1.1. Egzogeni transport

Prvi korak egzogenog puta predstavlja probava lipida (GINSBERG, 1998; BAUER, 1996; GUYTON i HALL, 2012). Najčešće masti u hrani su neutralne masti odnosno trigliceridi koji su glavni sastojak hrane životinjskog podrijetla, a mnogo ih je manje u hrani biljnog podrijetla (GUYTON i HALL, 2012).

U tankom crijevu počinje probava s razbijanjem masnih kapljica na manje čestice što nazivamo emulzijom (GUYTON i HALL, 2012). Tim procesom se usitnjuju masne kapljice na manje čestice djelovanjem žučnih soli i fosfolipida lecitina (GUYTON i HALL, 2012). Nakon emulgiranja dolazi do probave putem gušteračine lipaze te u mnogo manjim količinama putem crijevne lipaze (BAUER, 1996; STEINER, 2000; XENOLIUS i STEINER, 2008; GUYTON i HALL, 2012). Tako lipidi budu razgrađeni na slobodne MK i monogliceride nakon čega ih micela, formirane iz žučnih soli, prenose do mikroresica sluznice crijeva (BAUER, 1996; XENOLIUS i STEINER, 2008; GUYTON i HALL, 2012). Masne kiseline i monogliceridi zatim difundiraju iz micela u epitelne stanice odnosno u njihov endoplazmatski retikulum gdje se uz fosfolipide, kolesterol i apolipoprotein 48 ponovno spajaju u trigliceride (BAUER, 1996; BAUER, 1995; BAUER, 2004; RIFAI i sur., 1999; GINSBERG, 1998; GUYTON i HALL, 2012). Iz epitela se u obliku hilomikrona odlaze u limfotok i zatim u krvotok (XENOLIUS i STEINER, 2008; GUYTON i HALL, 2012). U krvi dobivaju apolipoproteine C i E od cirkulirajućih HDL molekula (BAUER, 2004; GINSBERG, 1998; RIFAI i sur., 1999; XENOLIUS i STEINER, 2008). Apolipoprotein C aktivira lipoprotein lipazu koja hidrolizira trigliceride u slobodne MK i glicerol (ŠTRAUS i PETRIK, 2009; XENOLIUS i STEINER, 2008). Slobodne MK ulaze u mišićne stanice radi proizvodnje energije ili u stanice masnog tkiva radi skladištenja (ŠTRAUS i PETRIK, 2009; XENOLIUS i STEINER, 2008). Ostale čestice bogate kolesterolom vraćaju apolipoprotein C molekuli HDL-a (BAUER, 1995; BAUER, 1996; BAUER, 2004; GINSBERG, 1998; RIFAI i sur., 1999; XENOLIUS i STEINER, 2008). Kolesterol iz ostataka hilomikrona se može upotrijebiti za stvaranje VLDL-a lipoproteina i/ili stvaranja žučnih kiselina ili pohrane u obliku kolesterilnih estera, a hilomikroni se uklanjaju iz cirkulacije putem enzima lipoprotein lipaze kojeg stvaraju tkiva u koja će difundirati (BAUER, 1995; BAUER, 1996; XENOLIUS i STEINER, 2008; GUYTON i HALL, 2012).

2.2.1.2. *Endogeni transport*

Glavno mjesto sinteze lipida kod životinja koje nisu u laktaciji (psi, mačke, koze, ovce i svinje) je masno tkivo dok je jetra glavno mjesto sinteze lipida kod čovjeka i peradi, a kod glodavaca se sinteza odvija i u jetri i u masnom tkivu (DRACKLEY, 2000). U endogeni transport lipida su uključeni VLDL, LDL i HDL (BAUER, 1995; XENOLIUS i STEINER, 2008). U sintezi i sekreciji tih lipoproteina glavnu ulogu ima jetra (GINSBERG, 1998). Proces sinteze se odvija u endoplazmatskom retikulumu, a sazrijevanje se događa u Golgijevom aparatu hepatocita (GINSBERG, 1998). Endogeno sintetizirani trigliceridi i kolesterol se kombiniraju s fosfolipidima apo B100 i apo B48 molekulama da bi tvorili VLDL (BAUER, 1996; BAUER, 2004; GINSBERG, 1998; RIFAI i sur., 1999; XENOLIUS i STEINER, 2008). VLDL molekule odlaze do krvotoka gdje dobivaju apolipoproteine C i E od HDL molekula što posljedično dovodi do hidrolize VLDL-a te stvaranja slobodnih MKi glicerola (XENOLIUS i STEINER, 2008). Ostaci VLDL molekula potom bivaju uklonjeni putem jetre ili pomažu u stvaranju LDL molekula (BAUER, 1995; BAUER, 1996; BAUER, 2004; GINSBERG, 1998; RIFAI i sur., 1999; JOHNSON, 2005; XENOLIUS i STEINER, 2008). Molekule LDL-a kruže cirkulacijom kako bi isporučile kolesterol za sintezu steroidinih hormona i staničnih membrana (BAUER, 1996; GINSBERG, 1998; RIFAI i sur., 1999; XENOLIUS i STEINER, 2008). Molekule HDL-a se uglavnom sintetiziraju u jetri a imaju važnu ulogu kao donatori i akceptori apolipoproteina C i E od drugih lipoproteina u cirkulaciji (BAUER, 2004; WATSON i BARRIE, 1993; GINSBERG, 1998; RIFAI i sur., 1999; XENOLIUS i STEINER, 2008).

2.3. MASNE KISELINE

2.3.1. Klasifikacija, građa i uloga masnih kiselina

Masne kiseline su jednostavni lipidi, a važni su gradivni elementi glavnih klasa lipida (triglicerida, fosfolipida, kolesterilnih estera i neesterificiranih MK (GINSBERG, 1998; RIFAI i sur., 1999; XENOLIUS i STEINER, 2008; TVRZICKA i sur., 2011; GUYTON i HALL, 2012). Masne kiseline su karboksilne kiseline s RCOOH strukturom koje se sastoje od metilnih krajeva, ugljikovodičnih lanaca različitih duljina i zasićenosti te karboksilnih krajeva (BOTHAM i

MAYES, 2011; TVRZICKA i sur., 2011; BERG i sur., 2013). Glavni su dijelovi fosfolipida staničnih membrana koje omeđuju sadržaj stanica te daju stanicama njihov strukturni integritet (GIBBONS, 2000; GIBBONS, 2003; TVRZICKA i sur., 2011).

Masne kiseline služe kao važan energetska supstrat (čine oko 30% ukupnog unosa energije kod ljudi), termički i mehanički su izolatori, strukturni i funkcionalni dio staničnih membrana, sudjeluju u transportu molekula topljivih u lipidima (poput vitamina A, D, E, K), sudjeluju kao važni bio spojevi u složenim metaboličkim putevima, prekursori lipidnih medijatora kao što su eikozanoidi, služe kao glasnici te kao ligandi nukleinskih receptora koji utječu na ekspresiju gena (BOTHAM i MAYES, 2011; TVRZICKA i sur., 2011; BERG i sur., 2013). U usporedbi s proteinima i ugljikohidratima, MK imaju približno dvostruko veću energetska vrijednost te je za njihovo skladištenje u masnom tkivu potrebna je manja količina vode (TVRZICKA i sur., 2011). Njihov sastav i koncentracija u skladišnim mastima su genetski određeni među vrstama, ali se mogu mijenjati prehranom te ovisi o klimatskim uvjetima u kojima životinje žive (ZALEWSKI i sur., 2008; XENOLIUS i STEINER, 2008; TVRZICKA i sur., 2011). Istraživanja pokazuju da životinje koje hiberniraju održavaju konstantni sastav MK u potkožnom i abdominalnom masnom tkivu tijekom cijele godine bez obzira na post i kasnije obilno hranjenje (COCHET i sur., 1999). Ta pojava omogućava prilagođavanje i preživljavanje širokog raspona tjelesnih temperatura tijekom hibernacije (COCHET i sur., 1999). Rijetko se nalaze u slobodnom obliku zbog svojih detergenskih i citotoksičnih učinaka, već ih nalazimo esterificirane na glicerol u trigliceridima i fosfolipidima (GIBBONS, 2000; GIBBONS, 2003).

Masne kiseline koje imaju jednostruke veze između atoma nazivamo zasićenim MK (engl. saturated fatty acids, SFA); taj nedostatak dvostruke veze čini MK stabilnijima (BERG i sur., 2002). S obzirom na odsutnost dvostrukih veza, lanci zasićenih MK gusto se pakiraju i na taj način omogućuju da se na manjem prostoru skladišti velika količina kemijske energije i zbog toga imaju najveći udio u masnom tkivu životinja (STRYER, 1991). Nezasićene MK su one koje imaju dvostruke veze, ako postoji jedna dvostruka veza između dva atoma ugljika nazivano ih jednostrukonezasićene MK (engl. monounsaturated fatty acids, MUFA), a one s više od jedne dvostruke veze nazivamo višestrukonezasićene MK (engl. polyunsaturated fatty acids, PUFA) (BERG i sur., 2002). Stupanj nezasićenosti broja dvostrukih veza utječe na mikroviskoznoću i

debljinu stanične membrane, a time posljedično i funkcije povezanih proteina (TVRZICKA i sur., 2011).

Prisutnost dvostrukih veza u lancu MK uvjetuje da se one pojavljuju u dva prostorna oblika, *cis*- i *trans*- (STRYER, 1991). *Cis*- konfiguracija znači da se susjedni atomi vodika nalaze na istoj strani dvostruke veze, dok *trans* konfiguracija znači da su dva susjedna atoma vodika vezana na suprotnim stranama dvostruke veze (STRYER, 1991). U fiziološkim uvjetima, MK uglavnom imaju *cis*-konfiguraciju dok *trans*-konfiguracija nastaje procesom hidrogeniranja (TVRZICKA, 2011; BOTHAM i MAYES, 2011; BERG i sur., 2013; BOROVIĆ ŠTEFANOVIĆ, 2015). Masne kiseline u *trans*-konfiguraciji javljaju se puno rjeđe, a najviše ih nalazimo u tkivima i mlijeku preživača, što je posljedica biohidrogenacije linolne kiseline (C18:2 9c, 12c) i alfa linolenske kiseline (C18:3, 12, 15 *cis*) uzrokovane specifičnom bakterijskom florom u buragu preživača (MARTYSIAK-ŽUROVSKA, 2009). Smatra se da MK u *trans*-konfiguraciji imaju štetni učinak na zdravlje, dok konjugirane MK mogu biti korisne (TVRZICKA, 2011). Osim toga, smatra se i da zasićene MK imaju štetni učinak na zdravlje dok nezasićene MK, pogotovo jednostrukonezasićene i n-3 višestrukonezasićene, imaju zaštitni učinak (TVRZICKA, 2011). Što je više dvostrukih veza u *cis*- obliku, to je manja savitljivost lanca (STRYER, 1991). *Cis*- veza ograničava sposobnost MK da se uskladišti u manjem prostoru (tj. gusto spakira), što utječe na točku taljenja membrane ili masnoće te je stoga točka taljenja nezasićenih MK niža od one zasićenih MK, čija linearna struktura dopušta zgusnuto pakiranje i kristalično stanje (STRYER, 1991). *Trans*- konfiguracija ne oblikuje lanac koji je ispresavijan te je oblik sličan ravnom lancu kao što je u zasićenim MK (STRYER, 1991).

Masne kiseline u prirodi imaju paran broj C atoma zbog specifičnih mehanizma biosinteze (BERG i sur., 2002). Ugljikovi atomi se u ugljikovodičnom lancu numeriraju počevši od karboksilnog do metilnog ugljikovog atoma (ω -ugljikov atom) koji se nalazi na kraju lanca (BERG i sur., 2013). Položaj dvostruke veze označava se simbolom Δ i brojem u superskriptu, koji odgovara rednom broju ugljikovog atoma na kojem se nalazi dvostruka veza (BERG i sur., 2013). Prema broju C atoma ih možemo podijeliti na: kratkolančane (C2:0-C6:0), srednjelančane (C8:0-C12:0), dugolančane (C14:0-C18:0) i MK dugog lanca (C20:0 i više) (BERG i sur., 2002). Duljina ugljikovodičnog lanca te broj i pozicija dvostruke veze daju MK specifična biokemijska svojstva (BERG i sur., 2002). Točka taljenja MK je viša što je dulji ugljikovodični lanac, ali niža što je veći

broj dvostrukih veza (BERG i sur., 2013, TVRZICKA i sur., 2011). Također, što je lanac MK dulji to je topljivost u vodi manja (TVRZICKA i sur., 2011). Gotovo sve zasićene i nezasićene MK imaju ravne lance s ujednačenim parnim brojem ugljikovih atoma u molekuli, čiji raspon ide između 2 i 36 (najčešće od 4 do 24 (MARTYSIAK-ŽUROWSKA i sur., 2009; TVRZICKA i sur., 2011; BERG i sur., 2013). Najčešće su prisutne MK s 16 i 18 atoma ugljika (palmitinska, stearinska, oleinska, linolna kiselina) dok su MK s duljinom lanca kraćom od 14 ili dužom od 22 atoma ugljika su prisutne u malim koncentracijama (TVRZICKA i sur., 2011).

Masne kiseline koje se moraju unositi putem hrane nazivamo esencijalnim MK (ŠTRAUS i PETRIK, 2009). Esencijalne MK su linolna (C18:2n-6) iz ω 6 obitelji i α -linolenska (C18:3n-3) iz ω -3 obitelji MK (BOTHAM i MAYES, 2011; BERG i sur., 2013). Esencijalne MK su prekursori dugolančanih, višestruko nezasićenih MK (PUFA) pa će tako uslijed nedostatka esencijalnih MK u hrani doći i do nedostatka višestruko nezasićenih MK u organizmu (BOROVAC ŠTEFANOVIĆ, 2015). Zasićene MK i jednostruko nezasićene MK s dvostrukom vezom na devetom atomu ugljika (palmitoleinska i oleinska kiselina), evolucijski razvijenija bića (kralježnjaci) mogu sami sintetizirati zbog toga što posjeduju enzim Δ 9- desaturazu (BOTHAM i MAYES, 2011). No, zbog odsutnosti enzima Δ -12 i Δ -15 desaturaza, sisavci nisu u mogućnosti *de novo* sintetizirati linolnu (LA) ili α -linolensku kiselinu (LNA), prekursore n-6 i n-3 obitelji MK (STRYER, 1991). Organizam sisavaca je zato u mogućnosti pretvarati ili retrokonvertirati pojedinačne MK u druge MK iste serije, no ne i pretvarati MK iz n-3 serije u n-6 seriju, i obrnuto (STRYER, 1991).

2.3.2. Metabolizam masnih kiselina

Masne kiseline se dobivaju iz različitih prehrambenih izvora koji potom određuju vrstu masnoće i posljedično ishod na zdravlje (TVRZICKA i sur., 2011). Nakon hidrolize triglicerida pomoću pankreasne lipaze u lumena tankog crijeva, oslobađaju se MK u obliku monoglicerida i diglicerida (BAUER, 1996). One u kombinaciji s fosfolipidima, kolesterolom i žučnim kiselinama tvore micle koje prenose lipide u stanice sluznice crijeva gdje će se odvijati reapsorpcija (BAUER, 1996). Unutar stanica sluznice dolazi do ponovnog pretvaranja u trigliceride koji će formirati jezgru hilomikrona (BAUER, 1996). U krvi, MK se transportiraju ugrađuju se u lipoproteine i vezane za albumine (WATSON i BARRIE, 1993; GINSBERG, 1998; RIFAI i sur., 1999; BAUER, 2004; JOHNSON, 2005; XENOLIUS i STEINER, 2008). Cirkulacijom se transportiraju u jetru gdje se

iz njih sintetiziraju razni lipidni spojevi, a mogu ih resorbirati i mišići (gdje služe kao izvor energije) (ŠTRAUS i PETRIK, 2009). Kod velikih unosa putem hrane, višak MK pohranjuje se u masnom tkivu (TVRZICKA i sur., 2011).

Masne kiseline mogu se sintetizirati i u tijelu pa je tako jetra organ koji sintetizira MK (i kolesterol) za prijenos u obliku lipoproteina i žučnih komponenata nakon čega se otpuštaju u cirkulaciju (STILINOVIĆ, 1993; GIBBONS, 2003). Masne kiseline uglavnom se sintetiziraju iz ugljikohidrata i aminokiselina koji potječu iz hrane. Sinteza se najviše odvija u citoplazmi jetrenih stanica, ali i masnog tkiva te mliječne žlijezde (ŠTRAUS i PETRIK, 2009). U sintezi MK sudjeluju acetil-CoA-karboksilaza i sintaza masnih kiselina (BOTHAM i MAYES, 2011). Acetil-CoA-karboksilaza pretvara acetil-CoA u malonil-CoA, a zatim sintaza katalizira nastajanje palmitata iz jedne acetil-CoA i sedam malonil-CoA molekula (BOTHAM i MAYES, 2011).

Masne kiseline fiziološki važne za sisavce su palmitoleinska (C16:1n-7), oleinska (C18:1n-9), linolna (C18:2n-6), alfa-linolenska (C18:3n-3), arahidonska (C20:4n-6) i eikozapentaenska (C20:5n-3) MK (BOTHAM i MAYES, 2011).

U trigliceridima životinja najčešće su prisutne tri MK: stearinska kiselina (zasićena kiselina s 18 ugljikovih atoma), oleinska kiselina (nezasićena kiselina s 18 ugljikovih atoma i dvostrukom vezom u sredini lanca) i palmitinska kiselina (zasićena kiselina s 16 ugljikovih atoma) (SJAASTAD i sur., 2010). Od linolne kiseline (LA, C18:2n6) u organizmu se stvara n-6 serija MK, a od α -linolenske kiseline (LNA, C18:3n3) stvara se n-3 serija MK (STRYER, 1991).

Linolna se MK može biološkim putem prevoditi u dugolančane n-6 PUFA, kao što su dihomogama linolenska kiselina (DGLA, C20:3n6) i arahidonska (AA), dok se LNA može prevesti u dugolančane n-3 PUFA od kojih su prevladavajuće eikozapentaenska kiselina (EPA, C20:5n3) i dokozaheksaenska kiselina (DHA, C20:6n3) (STRYER, 1991).

Za biosintezu nezasićenih MK potrebni su enzimi desaturaza i elongaza (BOTHAM i MAYES, 2011; BERG, i sur., 2013). Ti enzimi djeluju na n-6 i n-3 prekursore (BOTHAM i MAYES, 2011; BERG, i sur., 2013).

Iz arahidonske, eikozapentaenske i dokozaheksaenske kiseline uz djelovanje enzima cikooksigenaza i lipooksigenaze sintetiziraju se eikozanoidi, snažni i brzo reagirajući spojevi koji

imaju ulogu lokalnih (parakrinih) hormona ili drugih glasnika (STRYER, 1991). Najznačajnije skupine eikozanoida su ciklični endoperoksidi (prostaciklini, prostaglandini, tromboksani) i derivati hidroperoksimasnih kiselina (leukotrieni, lipoksini i hidroksi-masne kiseline) (GURR, 2016). Arahidonska MK koju ubrajamo u n-6 seriju te n-3 EPA (eikozapentaenska MK) i DHA (dokozaheksaenska MK) djeluju antagonistički, pa metabolizmom arahidonske kiseline nastaju eikozanoidi s proupalnim djelovanjem, dok metabolizmom EPA i DHA nastaju eikozanoidi s protuupalnim djelovanjem (PARKER i sur., 2006).

3. MATERIJALI i METODE

3.1. Životinje

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (klasa: 640-01/19-17/07 i Ur. broj: 251-61-44-19-03).

Istraživanje je provedeno na 33 jedinke sivog puha od čega je bilo 18 jedinki ženskog spola i 15 jedinki muškog spola. Sivi puh je rasprostranjen na području cijele Hrvatske, a najveće populacije se nalaze na području Dinarida, Gorskog kotara, Like, Istre te na otocima Braču i Hvaru. Sve jedinke sivog puha ulovljene su u području grada Čabra koji je smješten u Gorskom kotaru.

Uzorci bubrega, jetre, srca, abdominalnog masnog tkiva, potkožnog masnog tkiva i *m.gluteus* sakupljeni su 2017.godine tijekom lovne sezone u rujnu i listopadu. Prije uzimanja uzoraka životinjama je izmjerena masa i bez repa i ukupna masa (trup+rep). Prosječna masa ženki s repom je bila $113,4 \pm 22,9$ g dok je prosječna masa mužjaka s repom bila $126,2 \pm 30,2$ g. Prosječna masa ženki bez repa je bila $108,8 \pm 22,4$ g, a prosječna masa mužjaka bez repa je bila $120,8 \pm 28,9$ g. Masa repa ženki je bila $4,6 \pm 0,9$ g za razliku od mužjaka gdje je bila $5,5 \pm 1,9$ g. Dob puhova nije poznata, ali se smatra da je riječ o mlađim jedinkama zbog aktivnosti i/ili traženja hrane u doba kasne jeseni te niže tjelesne mase.

3.2. Uzimanje i priprema uzoraka za analize

Ulovljenim životinjama uzorkovani su: cijela jetra, srce, bubrezi, *m.gluteus*, potkožno masno tkivo u lumbo-sakralnom području te abdominalno masno tkivo veličine oko 3 g. Uzorci su potom bili pohranjeni na temperaturi od -20 °C do analize. Nakon odmrzavanja, tkivo jetre i bubrega homogenizirano je 60 sekundi (tri puta po 20 sekundi s intervalima hlađenja od 10 sekundi) na 9500 okretaja po minuti, tkivo mišića i srca 60 sekundi (tri puta po 20 sekundi s intervalima hlađenja od 10 sekundi) na 13500 okretaja po minuti. Omjer mase tkiva i volumena pufera iznosio je 1:3. Po jedan gram potkožnog i perirealnog masnog tkiva je homogenizirano bez dodatka pufera 60 sekundi (tri puta po 20 sekundi s intervalima hlađenja od 10 sekundi) na 9500 okretaja po minuti. Svi uzorci homogenizirani su homogenizatorom Ultra-Turrax T25 Basic (IKA, Njemačka).

3.3. Ekstrakcija ukupnih lipida

Lipidi su ekstrahirani modifikiranom metodom po Folchu (FOLCH i sur., 1956). Za ekstrakciju ukupnih lipida koristila se smjesa otapala kloroform:metanol različite polarnosti. Omjer otapala za ekstrakciju iznosi 15 cm³/g tkiva, podijeljen u 3 dijela sastava: kloroform:metanol=2:1, kloroform:metanol=1:1 i kloroform:metanol=1:2. Ukupni lipidi homogenata svakog otapala ekstrahirani su tijekom 30 minuta uz miješanje (700 okretaja u minuti) nakon čega su centrifugirani 10 min na 3000 okretaja u minuti pri temperaturi od 20 °C. Ekstrakti ukupnih lipida su upareni u UNIVAPO 100H uparivaču, opremljenim s jedinicom za hlađenje UNICRYO MC 2L Uniequip (Uniequip, Njemačka).

3.4. Plinska kromatografija (GC)

Analiza metilnih estera masnih kiselina provedena je na plinskom kromatografu (Agilent 8860; Agilent Technologies. Inc., Kalifornija, SAD) opremljenom plameno-ionizacijskim detektorom (FID) Temperatura injektora iznosila je 200 °C, a detektora 240 °C. Kromatografija je rađena na kapilarnoj koloni FactorFour (VF-23ms, Agilent Technologies, Kalifornija, SAD), duljine 30 m, unutarnjeg promjera kolone 0,25 mm, debljine aktivnog sloja 0,25 μm). Na početku je temperatura kolone iznosila 120 °C tijekom 3 min, zatim se povećala na 260 °C zagrijavanjem 6 °C/min te je na toj temperaturi održana 5 min. Kao plin nosač korišten je helij uz protok 1 mL po minuti. Sakupljanje i obrada rezultata provedeni su pomoću računalnog programa OpenLAB CDS ChemStation Workstation VL.

3.5. Indeksi aktivnosti stearoil-CoA desaturaze

Indeksi aktivnosti stearoil-CoA desaturaze (SCD) procijenjeni su računanjem omjera produkt/(supstrat + produkt):

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

$$\text{SCDi-17} = [17:1/(17:1+17:0)] \times 100; \text{SCDi-18} = [18:1/(18:1+18:0)] \times 100.$$

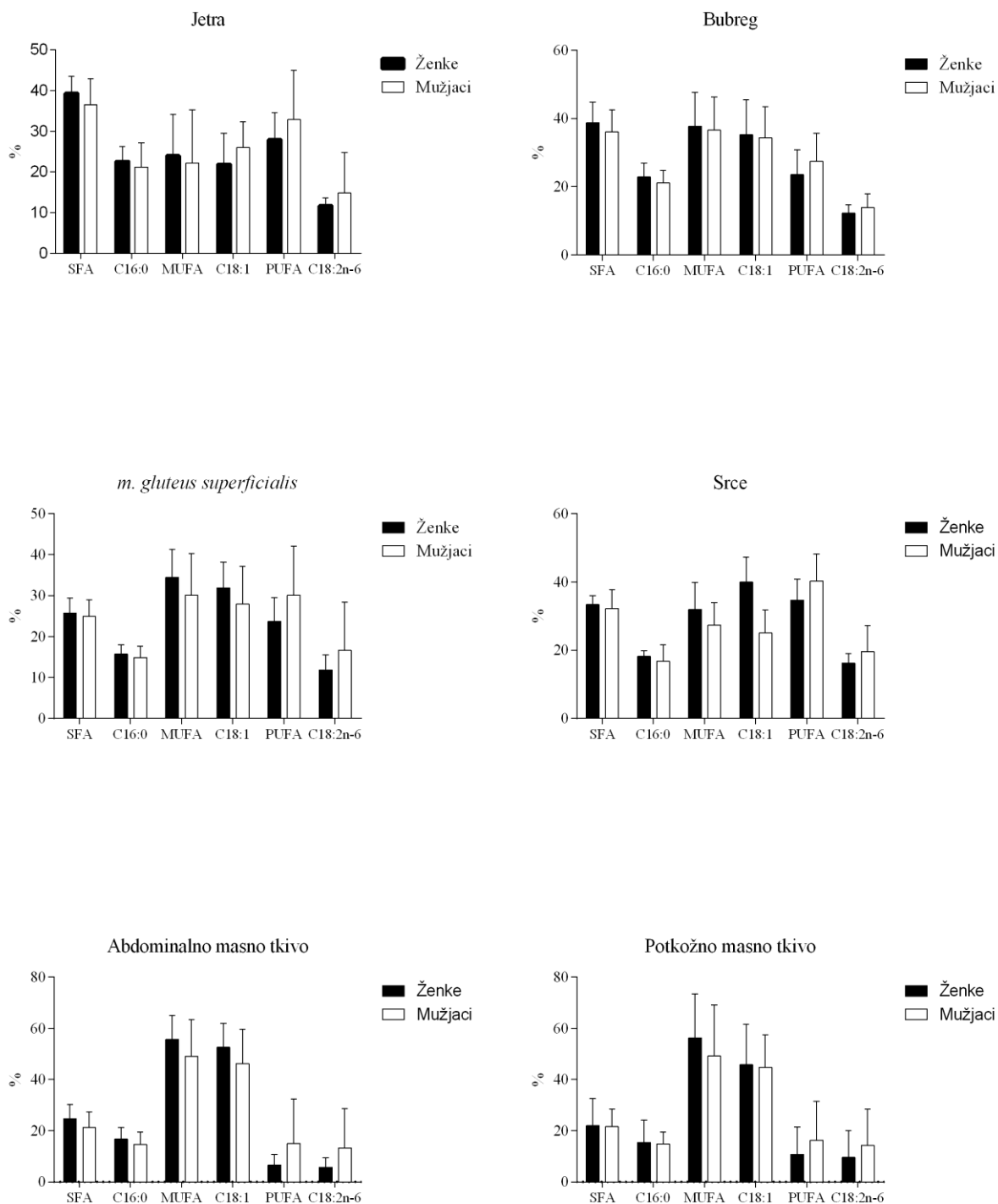
3.6. Statistička analiza rezultata

Životinje su grupirane prema spolu. Rezultati su obrađeni u statističkom programu STATISTICA verzija 12 (StatSoft, Tulsa, SAD) i prikazani kao srednje vrijednost \pm standardna devijacija. Provjera normalnosti distribucije rađena je pomoću Kolmogorov-Smirnov te Shapiro-Wilksovog W testa. Značajnost razlika je provjerena Studentovim t-testom ukoliko se radilo o normalnoj razdiobi te Mann-Whitney U testom ako je razdioba bila različita od Gaussove. Razlike se smatraju statistički značajnima ako je $p < 0,05$.

4. REZULTATI

Na slici 1 naveden je postotni udio MK u ženki i mužjaka sivog puha u istraživanim tkivima s obzirom na prisustvo i broj nezasićenih veza s najzastupljenijom MK. U jetri i bubregu najzastupljenije su zasićene MK (SFA), pri čemu palmitinsku kiselinu (C16:0) nalazimo u najvećem postotku. Masne kiseline s jednom dvostrukom vezom (MUFA) su u bubegu na drugom mjestu po zastupljenosti, pri čemu je najzastupljenija oleinska kiselina (C18:1). U jetri, druge po zastupljenosti su višestrukonezasićene masne kiseline (PUFA) te je najzastupljenija masna kiselina je linoleinska (C18:2n-6). Najzastupljenije masne kiseline u mišiću su MUFA, dok u srčanom mišiću dominiraju PUFA. U oba masna tkiva kao najzastupljenije masne kiseline nalazimo MUFA, dok su PUFA u najnižoj zastupljenosti.

Slika 1. Razdioba masnih kiselina u tkivu sivog puha u %.



SFA-zasićene masne kiseline; MUFA-jednostrukonezasićene masne kiseline; PUFA-višestruko nezasićene masne kiseline

Tablica 1. Masnokiselinski sastav jetre ženki i mužjaka sivog puha.

Naziv masne kiseline	Srednja vrijednost±SD		P vrijednost između ženki i mužjaka
	Ž	M	
C14:0 (%)	1,76±0,31	1,31±0,62	0,02
C15:0 (%)	0,16±0,06	0,15±0,08	0,68
C16:0 (%)	22,64±3,59	21,21±5,98	0,40
C16:1 (%)	2,63±5,01	1,70±1,49	0,49
C18:0 (%)	14,95±2,00	14,07±3,14	0,34
C18:1 (%)	21,92±7,62	25,98±6,39	0,16
C18:2n-6 (%)	11,71±1,97	14,87±9,89	0,21
C18:3n-3 (%)	0,24±0,11	0,32±0,16	0,16
C20:1 (%)	0,57±0,30	1,03±1,00	0,06
C20:4n-6 (%)	0,42±0,30	0,46±0,46	0,81
C20:4n-3(%)	1,51±0,72	1,67±0,68	0,54
C20:5n-3(%)	10,59±2,87	10,34±3,94	0,84
C22:5n-3(%)	0,45±0,24	0,44±0,17	0,87
C22:6n-3(%)	3,94±1,58	4,76±1,66	0,16
C24:1(%)	0,61±0,77	0,58±0,79	0,94
SFA (%)	39,35±4,19	36,58±6,37	0,14
MUFA (%)	24,01±10,09	22,21±13,09	0,66
PUFA (%)	27,99±6,59	32,84±12,10	0,15
UFA (%)	51,99±6,46	55,05±0,33	0,28
UFA/SFA	1,35±0,28	1,59±0,52	0,10
PUFA/SFA	0,71±0,16	0,95±0,52	0,07
C18:1/C18:0	1,46±0,73	1,63±1,49	0,66
SCDi16	145,98±73,49	163,39±148,79	0,66
SCDi18	14,52±4,32	15,10±5,27	0,73

SFA-zasićene masne kiseline; MUFA-jednostrukonezasićene masne kiseline; PUFA-višestrukonezasićene masne kiseline; UFA-nezasićene masne kiseline

U tablici 1 prikazan je sastav masnih tvari jetre ženki i mužjaka puha. Utvrđen je značajno veći postotak C14:0 (p=0,02) unutar skupine ženki.

Tablica 2. Masnokiselinski sastav bubrega ženki i mužjaka sivog puha.

Naziv masne kiseline	Srednja vrijednost±SD		P vrijednost između ženki i mužjaka
	Ž	M	
C14:0 (%)	2,25±0,84	1,91±0,99	0,31
C14:1 (%)	0,75±0,45	0,65±0,48	0,54
C16:0 (%)	22,89±4,01	21,12±3,72	0,21
C16:1 (%)	1,75±0,89	1,63±0,71	0,70
C18:0 (%)	13,64±2,11	12,97±2,83	0,45
C18:1 (%)	35,19±10,33	34,31±9,09	0,80
C18:2n-6 (%)	12,27±2,46	13,95±3,92	0,16
C18:3n-3 (%)	0,75±0,44	0,66±0,43	0,57
C20:4n-6 (%)	1,58±0,59	1,53±0,56	0,78
C20:4n-3(%)	0,87±0,48	1,07±1,08	0,49
C20:5n-3(%)	6,05±6,46	7,95±6,96	0,44
C22:6n-3(%)	2,01±1,39	2,25±1,37	0,63
SFA (%)	38,79±5,98	36,00±6,45	0,22
MUFA (%)	37,69±9,93	36,59±9,72	0,76
PUFA (%)	23,53±7,29	27,41±8,27	0,18
UFA (%)	61,22±5,97	63,99±6,45	0,22
UFA/SFA	1,63±0,38	1,86±0,51	0,17
PUFA/SFA	0,62±0,22	0,79±0,27	0,05
C18:1/C18:0	2,71±1,07	2,85±1,23	0,73
SCDi14	26,76±17,83	27,82±21,82	0,88
SCDi16	6,91±2,51	7,14±2,61	0,80
SCDi18	70,11±12,84	71,51±8,96	0,73

SFA-zasićene masne kiseline; MUFA-jednostrukonezasićene masne kiseline; PUFA-višestruko nezasićene masne kiseline; UFA-nezasićene masne kiseline

Iz tablice 2 vidljivo je da je u bubregu s obzirom na razlike u spolu utvrđen značajno viši udio PUFA/SFA ($p=0,05$) u mužjaka.

Tablica 3. Masnokiselinski sastav *m. gluteus superficialis* ženki i mužjaka sivog puha.

Naziv masne kisleline	Srednja vrijednost±SD		P vrijednost između ženki i mužjaka
	Ž	M	
C14:0 (%)	1,82±0,68	1,87±0,52	0,83
C14:1 (%)	0,69±0,22	0,63±0,26	0,48
C16:0 (%)	15,70±2,24	14,88±2,71	0,34
C16:1 (%)	1,83±0,77	1,58±0,85	0,39
C18:0 (%)	8,26±1,62	8,18±1,42	0,88
C18:1 (%)	31,95±6,25	27,95±9,25	0,15
C18:2n-6 (%)	11,85±3,62	16,68±11,73	0,11
C18:3n-3 (%)	0,60±0,40	1,45±1,84	0,03
C20:4n-6 (%)	0,68±0,37	0,45±0,19	0,07
C20:4n-3(%)	0,79±0,60	0,99±1,02	0,55
C20:5n-3(%)	6,20±2,11	6,05±2,16	0,84
C22:5n-3(%)	0,64±0,29	0,30±0,19	0,04
C22:6n-3(%)	3,66±1,46	4,57±1,49	0,09
SFA (%)	25,79±3,58	24,92±4,03	0,52
MUFA (%)	34,47±6,84	30,16±10,12	0,16
PUFA (%)	23,68±5,88	30,05±12,05	0,04
UFA (%)	58,15±7,17	60,21±10,88	0,52
UFA/SFA	2,27±0,25	2,52±0,88	0,27
PUFA/SFA	0,92±0,19	1,29±0,90	0,09
C18:1/C18:0	3,99±1,05	3,52±1,28	0,25
SCDi14	29,67±12,93	25,33±9,81	0,29
SCDi16	11,55±4,42	10,36±4,98	0,47
SCDi18	79,06±4,73	75,86±7,97	0,16

SFA-zasićene masne kiseline; MUFA-jednostrukonezasićene masne kiseline; PUFA-višestruko nezasićene masne kiseline; UFA-nezasićene masne kiseline

Tablica 3 daje uvid u prikaz masnokiselinskog sastava *m. gluteusa superficialisa* ženki i mužjaka sivog puha. U mužjaka su utvrđeni značajno veći postoci PUFA ($p=0,04$) i C22:5n-3 ($p=0,04$) u odnosu na ženke, dok je u ženki utvrđen značajno postotak C18:3n-3 ($p=0,03$).

Tablica 4. Masnokiselinski sastav srcaženki i mužjaka sivog puha.

Naziv masne kiseline	Srednja vrijednost±SD		P vrijednost između ženki i mužjaka
	Ž	M	
C14:0 (%)	1,96±0,51	1,95±0,47	0,99
C14:1 (%)	0,68±0,20	0,56±0,22	0,11
C16:0 (%)	18,17±1,64	16,75±4,89	0,25
C16:1 (%)	1,29±0,72	1,84±2,58	0,39
C18:0 (%)	13,24±1,75	13,56±1,33	0,57
C18:1 (%)	39,98±7,32	25,00±6,89	0,03
C18:2n-6 (%)	16,21±2,77	19,55±7,74	0,09
C18:3n-3 (%)	0,66±0,29	1,03±0,84	0,10
C20:4n-6 (%)	0,78±0,60	0,53±0,27	0,19
C20:4n-3 (%)	0,69±0,50	0,84±0,94	0,59
C20:5n-3 (%)	10,53±2,47	10,07±1,98	0,56
C22:6n-3 (%)	6,05±2,13	8,43±2,67	0,01
SFA (%)	33,37±2,68	32,27±5,54	0,46
MUFA (%)	31,95±7,99	27,39±6,51	0,09
PUFA (%)	34,68±6,11	40,34±7,91	0,03
UFA (%)	66,63±2,68	67,73±5,54	0,46
UFA/SFA	2,02±0,26	2,27±1,07	0,34
PUFA/SFA	1,04±0,15	1,37±0,83	0,11
C18:1/C18:0	2,37±2,79	1,89±0,70	0,11
SCDi14	26,61±9,79	22,01±7,40	0,14
SCDi16	6,49±3,49	12,17±23,61	0,32
SCDi18	68,48±7,39	63,69±8,09	0,09

SFA-zasićene masne kiseline; MUFA-jednostrukonezasićene masne kiseline; PUFA-višestruko nezasićene masne kiseline; UFA-nezasićene masne kiseline

Tablica 4 prikazuje masnokiselinski sastav srca ženki i mužjaka sivog puha. U mužjaka su utvrđeni značajno veći postoci PUFA ($p=0,03$) i C22:6n3 ($p=0,01$) u odnosu na ženke. Kod ženki je utvrđen značajno viši postotak C18:1 ($p=0,03$).

Tablica 5. Masnokiselinski sastav abdominalnog masnog tkiva ženki i mužjaka sivog puha.

Naziv masne kiseline	Srednja vrijednost±SD		P vrijednost između ženki i mužjaka
	Ž	M	
C14:0 (%)	1,75±0,70	1,50±0,64	0,30
C16:0 (%)	16,74±4,48	14,65±4,76	0,21
C16:1t (%)	0,55±0,26	1,08±1,68	0,62
C16:1c (%)	3,06±1,31	2,66±1,20	0,38
C18:0 (%)	6,11±1,15	5,29±0,79	0,03
C18:1 (%)	52,63±9,37	46,16±13,45	0,11
C18:2n-6 (%)	5,79±3,58	13,29±15,40	0,03
C18:3n-3 (%)	0,89±0,45	2,15±2,41	0,12
C20:4n-6 (%)	0,67±0,52	0,67±0,49	0,99
SFA (%)	24,61±5,55	21,34±5,94	0,11
MUFA (%)	55,78±9,32	49,01±14,36	0,11
PUFA (%)	6,63±4,09	15,04±17,34	0,02
UFA (%)	62,41±9,51	64,05±10,64	0,64
UFA/SFA	2,73±1,00	3,33±1,45	0,17
PUFA/SFA	0,29±0,21	0,96±1,51	0,07
C18:1/C18:0	9,00±2,68	8,81±2,85	0,84
SCDi16	15,71±4,04	14,94±6,80	0,69
SCDi18	89,32±2,78	88,87±3,62	0,69

SFA-zasićene masne kiseline; MUFA-jednostrukonezasićene masne kiseline; PUFA-višestrukonezasićene masne kiseline; UFA-nezasićene masne kiseline

U tablici 5 je prikazan masnokiselinski sastav abdominalnog masnog tkiva ženki i mužjaka sivog puha. Kod mužjaka je utvrđen značajno veći postotak C18:2 ($p=0,03$); PUFA ($p=0,02$). U ženskih puhova utvrđena je značajno viši postotak C18:0 ($p=0,03$) u odnosu na mužjake.

Tablica 6. Masnokiselinski sastav potkožnog masnog tkiva ženki i mužjaka sivog puha.

Naziv masne kiseline	Srednja vrijednost±SD		P vrijednost između ženki i mužjaka
	Ž	M	
C14:0 (%)	1,54±0,99	1,51±0,65	0,92
C14:1 (%)	0,15±0,13	0,12±0,05	0,65
C16:0 (%)	15,46±8,69	14,79±4,71	0,81
C16:1t (%)	0,46±0,41	8,25±20,68	0,34
C16:1c (%)	3,80±6,58	3,09±1,52	0,71
C18:0 (%)	4,81±2,05	5,01±1,89	0,79
C18:1 (%)	45,86±15,77	44,82±12,70	0,85
C18:2n-6 (%)	9,57±10,41	14,21±14,13	0,32
C18:3n-3 (%)	0,81±0,53	1,97±1,43	0,01
C20:0 (%)	0,29±0,21	0,56±0,57	0,25
C20:1 (%)	20,14±44,59	0,32±0,29	0,22
C20:4n-6 (%)	0,47±0,29	0,60±0,38	0,34
SFA (%)	21,97±10,54	21,58±6,87	0,91
MUFA (%)	56,22±17,21	49,15±20,01	0,32
PUFA (%)	10,76±10,69	16,29±15,29	0,26
UFA (%)	66,97±13,80	65,45±13,48	0,77
UFA/SFA	234,09±923,47	3,47±1,89	0,38
PUFA/SFA	0,57±0,68	0,78±0,72	0,42
C18:1/C18:0	16,98±31,97	9,48±4,44	0,41
SCDi14	3,69±4,99	4,17±4,85	0,80
SCDi16	17,53±15,43	23,29±20,38	0,39
SCDi18	90,26±3,05	83,28±25,22	0,28

SFA-zasićene masne kiseline; MUFA-jednostrukonezasićene masne kiseline; PUFA-višestruko nezasićene masne kiseline; UFA-nezasićene masne kiseline

Iz tablice 6 se može očitati da je u potkožnom masnom tkivu s obzirom na spolne razlike utvrđen značajno veći postotak C18:3n-3 ($p=0,01$) u mužjaka s obzirom na ženke.

Tablica 7. Postotni udjeli i omjeri nutritivnih masnih kiselina u tkivima ženki sivog puha.

	Jetra	Bubreg	<i>m. gluteus superficialis</i>	Srce	Abdominalno masno tkivo	Potkožno masno tkivo
Srednja vrijednost±SD						
AA/EPA	0,04±0,04 ^b	1,12±0,96 ^a	0,10±0,08 ^b	0,06±0,074 ^b	/	/
AA/DHA	0,12±0,11 ^b	1,24±0,83 ^a	0,16±0,13 ^b	0,12±0,11 ^b	/	/
EPA/DHA	2,84±0,52 ^a	2,21±1,52 ^a	11,14±40,54 ^a	1,94±0,77 ^a	/	/
DHA+EPA	16,32±4,69 ^b	8,05±7,80 ^{ac}	9,87±3,09 ^c	16,59±4,18 ^b	/	/
VLn-3PUFA	8,98±7,48 ^b	8,92±7,71 ^b	10,69±3,06 ^b	17,29±4,35 ^a	/	/
n-6	11,46±3,18 ^a	13,86±2,77 ^{abc}	12,38±3,62 ^{abc}	16,77±2,99 ^c	6,13±3,84 ^a	9,95±10,4 ^a
n-3	16,53±4,69 ^c	9,66±7,70 ^b	11,30±3,12 ^b	17,91±4,31 ^c	0,89±0,45 ^a	0,81±0,53 ^a
n-6/n-3	0,73±0,25 ^b	2,79±1,99 ^b	1,12±0,29 ^b	0,98±0,26 ^b	9,01±5,83 ^a	13,44±10,4 ^a

a, b, c superskript označava značajne razlike unutar skupine ženki; AA-arahidonska masna kiselina; EPA-eikozapentaenska masna kiselina; DHA-dokozaheksaenska masna kiselina; VLn-3PUFA-višestruko nezasićene masne kiseline dvrlo dugačkog lanca n-3 obitelji

U tablici 7 prikazani su postotni udjeli i omjeri nutritivnih MK u tkivima ženki velikog puha. Utvrđen je značajno viši udio AA/EPA i AA/DHA u bubregu s usporedbi s udjelom u ostalim istraživanim tkivima ($p < 0,01$ za sve ustanovljene značajne razlike). Zbroj DHA+EPA značajno je viši u jetri i srcu u usporedbi s ostalim tkivima ($p < 0,01$ za sve ustanovljene značajne razlike). Zastupljenost VLn-3PUFA bila je značajno viša u srcu u usporedbi s ostalim tkivima ($p < 0,01$ za sve ustanovljene značajne razlike). Postotak n-6 značajno je niži u abdominalnom masnom tkivu u usporedbi s ostalim tkivima osim s potkožnim masnim tkivom ($p = 0,03$, $p < 0,01$, $p < 0,01$, $p < 0,01$). Također je postotak n-6 bio značajno viši u srcu u usporedbi s jetrom i potkožnim masnim tkivom ($p = 0,03$, $p < 0,01$). Iz tablice 6 vidljivo je nadalje kako je postotak n-3 bio značajno niži u oba istraživana masna tkiva u usporedbi s ostalim tkivima ($p < 0,01$ za sve ustanovljene značajne razlike). Također je postotak n-3 bio značajno niži u buregu i mišiću s obzirom na jetru i srce ($p < 0,01$ za sve ustanovljene značajne razlike). Udio n-6/n-3 bio je značajno viši u oba masna tkiva u usporedbi s ostalim tkivima ($p < 0,01$ za sve ustanovljene značajne razlike).

Tablica 8. Postotni udjeli i omjeri nutritivnih masnih kiselina u tkivima mužjaka sivog puha.

	Jetra	Bubreg	<i>m. gluteus superficialis</i>	Srce	Abdominalno masno tkivo	Potkožno masno tkivo
Srednja vrijednost±SD						
AA/EPA	0,05±0,05 ^b	0,97±1,17 ^a	0,07±0,06 ^b	0,04±0,03 ^b	/	/
AA/DHA	0,09±0,09 ^b	1,15±1,03 ^a	0,09±0,07 ^b	0,06±0,06 ^b	/	/
EPA/DHA	2,23±0,52 ^b	2,72±1,59 ^b	1,32±0,23 ^a	1,27±0,36 ^a	/	/
DHA+EPA	17,21±5,56 ^a	10,20±8,31 ^b	10,62±3,57 ^b	18,49±4,22 ^a	/	/
VLn-3PUFA	11,36±8,80 ^b	11,27±8,47 ^b	11,59±3,35 ^b	19,33±4,11 ^a	/	/
n-6	15,34±9,92 ^a	15,48±3,91 ^a	17,01±11,68 ^a	19,98±7,69 ^a	13,61±15,38 ^a	14,63±14,19 ^a
n-3	17,50±5,56 ^d	11,93±8,38 ^b	13,05±2,71 ^{bd}	20,36±3,83 ^{cd}	2,15±2,41 ^a	1,97±1,43 ^a
n-6/n-3	0,92±0,58 ^b	2,72±2,51 ^b	1,34±0,96 ^b	1,03±0,53 ^b	7,56±2,92 ^a	8,94±6,09 ^a

a, b, c, d superskript označava značajne razlike unutar skupine mužjaka; AA-arahidonska masna kiselina; EPA-eikozapentaenska masna kiselina; DHA-dokozaheksaenska masna kiselina; VLn-3PUFA-višestruko nezasićene masne kiseline dvrlo dugačkog lanca n-3 obitelji

U tablici 8 prikazani su postotni udjeli i omjeri nutritivnih MK u tkivima mužjaka velikog puha. Utvrđen je značajno viši udio AA/EPA i AA/DHA u bubrezima u usporedbi s udjelom u jetri, srcu i *m. gluteus superficialisu* ($p < 0,01$ za sve ustanovljene značajne razlike). Omjer EPA/DHA je bio značajno viši u *m. glutes superficialisunego* u jetri i bubrezima ($p = 0,02$, $p < 0,01$). Također, je u srčanom tkivu ustanovljen veći omjer EPA/DHA u usporedbi s jetrom i bubrezima ($p = 0,02$, $p < 0,01$). Zbroj DHA+EPA je bio značajno viši u jetri te srcu u usporedbi s bubrezima i *m. gluteus superficialisom* ($p = 0,01$ za razlike između jetre i bubrega te *m. gluteus superficialisa* odnosno $p < 0,01$ za razlike između srca i bubrega te *m. gluteus superficialisa*). Postotak n-3 značajno je niži u obrađenim masnim tkivima (abdominalnom i potkožnom masnom tkivu) u usporedbi s ostalim tkivima ($p < 0,01$ za sve ustanovljene značajne razlike). Također je postotak n-3 bio značajno viši u srcu u usporedbi s jetrom i potkožnim masnim tkivom ($p < 0,01$). Oba masna tkiva (abdominalno i potkožno masno tkivo) imali su značajno viši udio n-6/n-3 u usporedbi s ostalim tkivima ($p < 0,01$ za sve ustanovljene značajne razlike).

5. RASPRAVA

U radu je istražen masnokiselinski sastav jetre, bubrega, srčanog mišića i *m. gluteus superficialis*, potkožnog i abdominalnog masnog tkiva sivog puha. U bubrezima mužjaka, mišiću *m. gluteus superficialis*, potkožnom i abdominalnom masnom tkivu najzastupljenije su MUFA, u srčanom mišiću najzastupljenije su PUFA, dok su SFA su najzastupljenije u jetri i bubrezima ženki sivog puha. Udio PUFA je u jetri, bubrezima srčanom tkivu i *m. gluteus superficialis* iznosio iznad 20%. Omjeri n-6/n-3 i EPA/DHA iznosili su od 1 do 3 u srcu, jetri i bubregu sivog puha. Najviše MK utvrđeno je u jetrima (15), a najmanje u abdominalnom masnom tkivu (9). U bubrezima je utvrđen visoki postotni udio C20:4n-6 te je bio veći 2-4 puta u odnosu na druga tkiva.

Masnokiselinski sastav tkiva sivog puha je različit i po postotnom udjelu kao i po zastupljenosti MK. U jetri sivog puha najzastupljenije su zasićene MK (SFA), pri čemu palmitinsku kiselinu (C16:0) nalazimo u najvećem postotku, na drugom mjestu su PUFA sa linoleinskom MK (C18:2n-6) kao dominantnom te MUFA kao najmanje zastupljene sa oleinskom MK (C18:1). U jetrima je utvrđen značajno veći postotak C14:0 kod ženskih životinja (Tablica 1). ZALEWSKI i sur. (2008) u jetrima kunopsa nalaze sličnu zastupljenost MK kao u ovom radu. Samo u jetri sivog puha utvrđena je C15:0 (0,16% ženke i 0,15% mužjaci, tablica 1). Ova masna kiselina je pronađena i u jetri euroazijskog dabra 0,38% (*Castor fiber*), kunopsa 0,26% (*Nyctereutes procyonoides*) i jazavca 0,47% (*Meles meles*) (MARTYSIAK-ŽUROWSKA i sur., 2009).

U bubrezima sivog puha u ovom istraživanju distribucija MK je bila sljedeća: MUFA, SFA i najmanje zastupljena PUFA. Najzastupljenije MK u navedenim skupinama bile su iste kao u jetri (Tablica 2). Slične rezultate dobili su i ZALEWSKI i sur. (2008) u bubregu kunopsa. Postotni udio EPA (7,95% mužjaci i 6,05% ženke) i DHA (2,25% mužjaci i 2,01% ženke) u mojem istraživanju bili su više od 10 puta veći negoli u kunopsa (ZALEWSKI i sur., 2008). Specifičnost tkiva bubrega je visoki udio arahidonske kiseline (VAN LE i sur., 2019), što potvrđuju rezultati ovoga, istraživanja gdje je udio arahidonske kiseline 2-4 puta veći u odnosu na druga tkiva. Viši postotak arahidonske kiseline u bubregu je potreban za sintezu prostaglandina koji utječu na filtraciju i reapsorpciju u bubregu (LOTE, 1982). U masnokiselinskom sastavu bubrega sivog puha uočene su spolne razlike te je utvrđen veći omjer PUFA/SFA u mužjaka (Tablica 2).

Meso sivog puha sadrži prosječno 74,57% vode, masti 2,83%, bjelančevina 21,01% i 1,35% pepela (CVRTILA i sur., 2004). Stoga se može kategorizirati kao dijetalna hrana te je po kemijskom sastavu usporedivo s kemijskim sastavom mesa zečeva i kunića osim važne činjenice da meso dvozubaca sadrži u prosjeku veću količinu masti (CVRTILA i sur., 2004).

Razdioba MK umišiću *m. gluteus superficialis* u ovom radu je pokazala da su MUFA na prvom mjestu, PUFA na drugom te najmanje zastupljena je SFA. Najzastupljenije MK u navedenim skupinama bile su iste kao u jetri i bubregu (Tablica 3). ZALEWSKI i sur. (2008) u mišićima stražnje noge kunopsa nalaze najveći postotak MUFA, a najmanji PUFA. Isti autori u euroazijskih dabrova utvrđuju sljedeći redoslijed: SFA; MUFA i PUFA (ZALEWSKI i sur., 2007). U *m. gluteus superficialis* u mužjaka su utvrđeni značajno veći postoci PUFA C22:5n-3 u odnosu na ženke, dok je u ženki utvrđen značajno postotak C18:3n-3 (Tablica 3).

Puhovi pokazuju snažne sezonske fluktuacije tjelesne mase. Masa se smanjuje za jednu trećinu tijekom hibernacije (FIETZ i sur., 2005). Tijekom hibernacije ne dolazi do izražene atrofije mišića zbog smanjenog intenziteta metabolizma. Naime temperatura tijela puha za vrijeme zimskog sna iznosi 4 °C, a u aktivnom razdoblju 35 °C (MORRIS, 2004), a frekvencija srca 5 otkucaja/min, a za vrijeme aktivnosti 450 otkucaja/min (MORRIS, 2004). Nadalje, atrofija je sprječena zbog drhtanja tijekom periodičnih buđenja u gnijezdu, što bi moglo oponašati fizičku vježbu (MALATESTA i sur., 2009).

U srčanom mišiću najzastupljenija skupina su PUFA dok je najmanje zastupljena MUFA. Najzastupljenije MK u navedenim skupinama bile su iste kao u jetri i bubregu *m. gluteus superficialis* (Tablica 4). Utvrđeni su u mužjaka značajno veći postoci PUFA i C22:6n3 u odnosu na ženke dok je kod ženki je utvrđen značajno viši postotak C18:1 (Tablica 4). GIROUD i sur. (2013) u srčanom mišiću sirijskog hrčka pronalaze sličnu zastupljenost MK kao u ovom radu. Na hibernaciju i svakodnevnu tjelesnu neaktivnost snažan učinak imaju PUFA. Povećani unos PUFA n-6 posebno linolne kiseline (LA, C18:2n-6) utječe na produljenje vremena tjelesne neaktivnosti te pomaže pri dostizanju nižih tjelesnih temperatura i usporavanju intenziteta metabolizma (GIROUD i sur., 2013).

Poznato je kako je C22:6n-3 prisutna u stanicama, posebice fosfolipidima ekscitabilnih tkiva mozga, srčanog mišića i štapićima mrežnice (GUDBJARNASON, 1989). GUDBJARNASON (1989) navodi povezanost C22:6n-3 sa srčanom frekvencijom. U ovom radu C18:2n-6 najzastupljenija je u srcu i u ženki i u mužjaka u usporedbi s ostalim tkivima. Slično navode i NIKOLAIDIS i sur. (2006). Mogući razlog tomu je visoka zastupljenost kardiolipina srca, budući da je kardiolipin bogat s C18:2n-6 (HOCH, 1992). Ovo potvrđuje

činjenica kako zastupljenost C18:2n-6 slijedi zastupljenost mitohondrija, u kojima nalazimo kardiolipin (NIKOLAIDIS i sur., 2006).

U oba masna tkiva (abdominalno i potkožno) sivog puha u ovom istraživanju kao najzastupljenije masne kiseline nalazimo MUFA, dok su PUFA najniže zastupljene. Najzastupljenije MK u navedenim skupinama bile su iste kao u drugim tkivima uključenim u moje istraživanje. Slične rezultate utvrdili su ZALEWSKI i sur. (2008) u oba tkiva kunopsa, ZALEWSKI i sur. (2007) u oba tkiva jazavca te VRANKOVIĆ i sur. (2017) u potkožnom masnom tkivu smeđeg medvjeda. COCHET i sur. (1999) u bijelom masnom tkivu alpskog svisca u istoj sezoni (rujan) utvrdili su da su MUFA najzastupljenije, a SFA najmanje zastupljene. FIETZ i sur. (2005) u bijelom masnom tkivu sivog puha prije i poslije hibernacije nalaze najzastupljenije MUFA, zatim PUFA i najmanje zastupljene SFA. U ovom istraživanju u abdominalnom masnom tkivu kod mužjaka je utvrđen značajno veći postotak C18:2 i PUFA. U ženskih puha utvrđen je značajno viši postotak C18:0 u odnosu na mužjake (Tablica 5). U potkožnom masnom tkivu s obzirom na spolne razlike utvrđen je značajno veći postotak C18:3n-3 u mužjaka s obzirom na ženke (Tablica 6).

Postotak ukupnih nezasićenih masnih kiselina (UFA) u oba masna tkiva sivog puha u ovom istraživanju iznosio je više od 60%. Za razliku od životinja koje ne hiberniraju, prezimari akumuliraju više nezasićenih MK (ZALEWSKI i sur., 2008) jer se tijekom hibernacije njihova tjelesna temperatura znatno smanjuje radi uštede energije (MORRIS, 2004). Masti koje imaju viši stupanj nezasićenih MK imaju niže talište. Stoga se može izbjeći skrućivanje masti. Sastav MK skladišne masti može ovisiti o klimatskim uvjetima u kojima žive životinje.

Puhovi su prezimari te se prije hibernacije neumorno hrane kako bi nakupili rezervne tvari u obliku potkožne i abdominalne masti. Potkožna mast manje služi kao izvor energije, nego što ima mehaničku i izolacijsku ulogu štiteći tijelo od hladnoće (WILZ i HELDMAIER 2000). Pri tome se esencijalne masne kiseline unose putem hrane, dok se MUFA mogu sintetizirati te upravo sinteza može biti učinkovit i jednostavan adaptivni mehanizam koji hibernatorima omogućava preživljavanje (COCHET i sur., 1999).

Ukoliko u jesen hrane ima manje, manja će biti masa životinja nakon buđenja te to može dovesti do smanjenja reproduktivnog potencijala sivog puha. Budući da je za parenje energetski zahtjevno, životinja se ne može pripremiti za sljedeću hibernaciju, što može dovesti do smanjenja populacije sljedeće godine (BIEBER, 1998). Zbog manjka hrane, testisi se slabije razvijaju pa je razmnožavanje životinje manje uspješno (BURGESS i sur., 2003).

Sastav MK u organizmu ovisi o hrani kao i o sintezi MK. Esencijalne MK potrebno je unositi hranom. Esencijalne MK, linolna (C18:2n-6) i α -linolenska (C18:3n-3) prekursori su

dugolančanih, višestruko nezasićenih MK (PUFA). Uslijed nedostatka esencijalnih MK u hrani može doći i do nedostatka višestruko nezasićenih MK u organizmu (BOROVAC ŠTEFANOVIĆ, 2015). Štoviše, manjak omega-3 MK može dovesti do poremećajima raspoloženja i pojave depresije (PARKER, i sur., 2006).

U ovom istraživanju utvrđen je visoki udio linolne i α -linolenske MK kao i eikozapentaenske kiseline (EPA, C20:5n-3) i dokozaheksaenske kiseline (DHA, C22:6n-3). Linolna kiselina u jetri je zastupljena oko 11-15%, u bubregu 12-14%, u srcu 16-19,5%, u *m. gluteus superficialisu* 11-16,5%, u abdominalnom masnom tkivu 5-13% i u potkožnom masnom tkivu 9-14%. α -linolenska kiselina je u jetrima zastupljena sa 0,3%, u bubrezima s 0,7% u srcu 0,6-1,0%, u *m. gluteus superficialisu* 0,6-1,5% te u abdominalnom i potkožnom masnom tkivu oko 0,8-2%. U jetrima i srcu EPA je zastupljena oko 10%, u bubregu oko 7% i *m. gluteus superficialisu* 6%. U jetrima i *m. gluteus superficialisu* DHA je zastupljena oko 4%, u bubregu oko 2% te u srcu 6-8% (Tablica 1-6).

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja može se zaključiti kako:

1. U bubrezima, mišiću *m. gluteus superficialis*, potkožnom i abdominalnom masnom tkivu najzastupljenije su MUFA koje se unose hranom i sintetiziraju u organizmu sivog puha te je upravo sinteza učinkovit i jednostavan adaptivni mehanizam koji hibernatorima omogućava preživljavanje.
2. U srčanom mišiću najzastupljenije su PUFA jer su važne za dostizanje nižih tjelesnih temperatura i usporavanje intenziteta metabolizma. Linolna MK C18:2n-6 najzastupljenija je u srcu i u ženki i u mužjaka u usporedbi s ostalim tkivima vjerojatno zbog visoke zastupljenosti kardiolipina srca koji se nalazi u mitohondrijima koji su u srčanim stanicama jako brojni.
3. Prisutnost esencijalne MK, C18:3n-3 u potkožnom i abdominalnom masnom tkivu te *m. gluteus superficialis* važan je nalaz zbog činjenice da je sivi puh u Hrvatskoj divljač koja se tradicionalno konzumira te je dobar izvor ove MK. Također, prisutnost C16:1t u potkožnom masnom tkivu mogla bi biti od zdravstvenog značaja budući da je utvrđena povezanost prisutnosti *trans* MK s nastankom rizika od kardiovaskularnih bolesti.
4. U bubrezima je utvrđen visoki postotni udio C20:4n-6 te je bio veći 2-4 puta u odnosu na druga tkiva zbog toga što je arahidonska kiselina prekursor za sintezu prostaglandina koji utječu na filtraciju i reapsorpciju u bubregu.
5. Najviše MK utvrđeno je u jetrima (15), a najmanje u abdominalnom masnom tkivu. Omjeri n-6/n-3 i EPA/DHA iznosili su od 1 do 3 u srcu, jetri i bubregu sivog puha što čini ova tkiva izvrsnim izvorom PUFA.

7. LITERATURA

- AMORI G., M. CANTINI, V. ROTA (1995): Distribution and conservation of the Italian dormice. Proc. II Conference On Dormice. *Hystrix- the Italian Journal of Mammalogy*. 6: 331-336.
- ANDRĚA M. (1986): Dormice (*Gliridae*) in Czechoslovakia. Part I.: *Glis glis*, *Eliomys quercinus* (Rodentia: Mammalia). *Folia Musei Rerum Naturalium Bohemiae Occidentalis. Plzeň Zoologica*. 24:3-47.
- BARRETT-HAMILTON, G. E. H. (1898): Notes on the European dormice of the genera *Muscardinus* and *Glis*. *Annals and Magazine of Natural History*. 72:423-426.
- BARRETT-HAMILTON, G. E. H. (1899): Note on the Sicilian dormice of the genera *Eliomys* and *Glis*. *Annals and Magazine of Natural History*. 73:226-228.
- BAUER, J. E. (1995): Evaluation and dietary considerations in idiopathic hyperlipidemia in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 206, 1684-1688.
- BAUER, J. E. (1996): Comparative lipid and lipoprotein metabolism. *Veterinary Clinical Pathology*. 25, 49-56.
- BAUER, J. E. (2004): Lipoprotein-mediated transport of dietary and synthesized lipids and lipid abnormalities of dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 224, 668-675.
- BERG J. M., J. L. TYMOCZKO, L. STRYER (2002): Fatty acid metabolism. In: *Biochemistry*. 5th edition. W. H. Freeman & Company Ltd, 852-896.
- BERG, J. M., J. L. TYMOCZKO, L. STRYER (2013): Lipidi i stanične membrane. In: *Biokemija*. (G. Bukan, ur.). Školska knjiga. Zagreb, str. 326-350.
- BERG, J. M., J. L. TYMOCZKO, L. STRYER (2013): Biosinteza membranskih lipida i steroida. U *Biokemija*. (G. Bukan, ur.). Školska knjiga. Zagreb, str. 732-759.
- BERG, J. M., J. L. TYMOCZKO, L. STRYER (2013): Metabolizam masnih kiselina. U: *Biokemija*. (G. Bukan, ur.). Školska knjiga. Zagreb, str. 617-648.
- BIEBER, C. (1995): Dispersal behaviour of the edible dormouse (*Myoxus glis* L.) in a fragmented landscape in central Germany. *Hystrix (N.S.)*. 6:257-263.
- BIEBER, C. (1998): Population dynamics, sexual activity, and reproduction failure in the fat dormouse (*Myoxus glis*). *Journal of Zoology*. 244: 223-229.
- BOROVAC ŠTEFANOVIĆ, L. (2015): Sadržaj lipida i sastav masnih kiselina u serumu hrvatskih veterana oboljelih od post-traumatskog stresnog poremećaja. Doktorska disertacija, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.

- BOTHAM K. M., P. A. MAYES (2011): Fiziološki značajni lipidi. In: Harperova ilustrirana biokemija. Ur.: Lovrić, J., J. Sertić. Medicinska naklada, Zagreb, str.121-130.
- BOTHAM K. M., P. A. MAYES (2011): Biosinteza masnih kiselina i eikozanoida. U: Harperova ilustrirana biokemija. (J. Lovrić, J. Sertić, ur.). Medicinska naklada, Zagreb, str.193-204.
- BURGESS, M., P. MORRIS, P. BRIGHT (2003): Population dynamics of the edible dormouse (*Glis glis*) in England. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 49: 27–31.
- CARPANETO, G., M. CRISTALDI (1995): Dormice and man: a review of past and present relations. *Hystrix- the Italian Journal of Mammalogy*. 6: 303–330.
- COCHET, N., B. GEORGES, R. MEISTER, G. L. FLORANT, H. BARRE (1999): White adipose tissue fatty acids of alpine marmots during their yearly cycle. *Lipids*. 34: 275-281.
- CASTEX, C., A. TAHRI, R. HOO-PARIS, B. C. J. SUTTER (1984): Insulin secretion in the hibernating edible dormouse (*Glis glis*): in vivo and vitro studies. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 79:179-183.
- CVRTILA, Ž., D. KONJEVIĆ, L. KOZAČINSKI, M. HADZIOSMANOVIĆ, A. SLAVICA, J. MARGALETIĆ (2004): The chemical composition of the meat of fat dormice (*Glis glis* L.). *European Journal Wildlife Research*. 50: 90-91.
- DAAMS, R. (1981). The dental pattern of the Dormice *Dryomys*, *Myomimus*, *Microdryomys* and *Peridyromys*. *Utrecht micropaleontological bulletins. Special publication*. 3: 1–113.
- DRACKLEY, J. K. (2000): Lipid metabolism. In: *Farm Animal Metabolism and Nutrition*. (D'MELLO, J.P.F., Eds.), Formerly of SAC (Scottish Agricultural College), Edinburgh, 97-119.
- FIETZ, J., W. SCHLUND, K. H. DAUSMANN, M. REGELMANN, G. HELDMAIER (2004): Energetic constraints on sexual activity in the male edible dormouse (*Glis glis*). *Oecologia*. 138:202-209.
- FIETZ, J., M. PFLUG, W. SCHLUND, F. TATARUCH (2005): Influences of the feeding ecology on body mass and possible implications for reproduction in the edible dormouse (*Glis glis*). *Journal of Comparative Physiology*. 175: 45-55.
- FRANCO, D. (1990): Feeding habits of a dormouse population (*Myoxus glis*) of the Asiago Plateau (Venetian Prealps). *Hystrix- the Italian Journal of Mammalogy* 2, 11-22.
- FORENBACHER, S. (2002): Sisavci. U: *Kompandij velebitske faune I*. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, str. 10-12.
- GĘBCZYŃSKI, M., A. GÓRECKI, A. DROŹDŹ (1972): Metabolism, Food Assimilation and Bioenergetics of Three Species of Dormice (*Gliridae*). *Acta Theriologica*, 17:271–294.

- GIBBONS, G. F., K. ISLAM, R. J. PEASE (2000): Mobilisation of triacylglycerol stores. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1483, 37-57.
- GIBBONS, G. F. (2003): Regulation of fatty acid and cholesterol synthesis: co-operation or competition? *Progress In Lipid Research*. 42, 479-497.
- GINSBERG, H. N. (1998): Lipoprotein physiology. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. 27, 503-519.
- GIROUD, S., C. FRARE, A. STRIJKSTRA, A. BOEREMA, W. ARNOLD, T. RUF (2013): Membrane phospholipid fatty acid composition regulates cardiac SERCA activity in a hibernator, the Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*). *PloS one*, 8(5), e63111.
- GUDBJARNASON, S. (1989): Dynamics of n-3 and n-6 fatty acids in phospholipids of heart muscle. *Journal of Internal Medicine*. 1; 17-28.
- GURR, I., J. L. HARWOOD, K. N. FRAYN, D. J. MURPHY, R. H. MICHELL (2016): *Lipids*. 6th edition, Wiley Blackwell.
- GUYTON, A. C., J. E. HALL (2012): Metabolizam lipida. In: *Medicinska fiziologija*. (S. Kukulja Taradi, I. Andreis, ur.), Medicinska naklada, Zagreb, str. 819-827.
- HILLSON S. (1990): *Teeth*. Cambridge manuals in archaeology. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- HOCH, F. L. (1992): Cardiolipins and biomembrane function. *Biochim Biophys Acta*. 1113; 71-113.
- HOODLESS, A., P. A. MORRI (1993): An estimate of population density of the fat dormouse (*Glis glis*). *Journal of Zoology (London)*. 230; 337-340
- HÜRNER, H., B. KRYŠTUFEK, S. MAURIZIO, A. RIBAS, T. RUCH, R. SOMMER, V. IVASHKINA, J. R. MICHAUX (2010): Mitochondrial phylogeography of the edible dormouse (*Glis glis*) in the western Palearctic region. *Journal of Mammalogy*. 91:233–242.
- HUTTERER, R., G. PETERS (2001): The vocal repertoire of *Graphiurus parvus*, and comparisons with other species of dormice. *Trakya University Journal of Scientific Research Series B*. 2; 69-74.
- JALLAGEAS, M., I. ASSENMACHER (1984): External factors controlling annual testosterone and thyroxine cycles in the edible dormouse *Glis glis*. *Comparative Biochemistry and Physiology, A. Molecular and Integrative Physiology*. 77, 61-167.
- JANICKI Z., A. SLAVICA, D. KONJEVIĆ, K. SEVERIN (2007): *Zoologija divljači*. Zavod za biologiju, patologiju i uzgoj divljači. Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Zagreb. 174-177.

- JOHNSON, M. C. (2005): Hyperlipidemia disorders in dogs. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. 27, 361-364.
- JONES-WALTERS, L. M., G. B. CORBET (1991): Genus *Glis*. Pp. 264-267 in *The handbook of British mammals* (G. B. Corbet and S. Harris, eds.). 3rd ed. Blackwell Scientific Publishers, Oxford, United Kingdom.
- JURCZYSZYN, M. (1995): Population density of *Myoxus glis* (L.) in some forest biotopes. *Hystrix- the Italian Journal of Mammalogy*. 6: 265-271.
- JURCZYSZYN, M. (2001): Reintroduction of the edible dormouse (*Glis glis*) in Sierakowski Landscape Park (Poland). Preliminary results. *Trakya University Journal of Scientific Research B*. 2: 111-114.
- JURCZYSZYN, M., K. WOLK (1998): The present status of dormice (*Myoxidae*) in Poland. *Natura Croatica*. 7: 11-18.
- KONJEVIĆ, D., T. KEROS, H. BRKIĆ, A. SLAVICA, Z. JANICKI, J. MARGALETIĆ (2003): Some histological characteristics of the Fat Dormice incisors in the Gorski Kotar area (Croatia). *Acta zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 49 (S1), 63-68.
- KONJEVIĆ, D., K. KRAPINEC (2004): Sivi puh (*Glis glis* Linnaeus, 1766), od ulova do namirnice. *Meso*, 6; 61-63.
- KONJEVIĆ, D., M. ŠPAKULOVA, R. BECK, M. GOLDOVA, K. SEVERIN, J. MARGALETIĆ, K. PINTUR, T. KEROS; S. PERIĆ (2007): First evidence of *Paraheligmomina gracilis* and *Hymenolepis sulcata* among fat dormice (*Glis glis* L.) from Croatia. *Helminthologia* 44, 34–36.
- KRATOCHVIL, J. (1973): Manliche Sexualorgane und System der Gliridae (Rodentia). *Acta Scientiarum Naturalium Academiae Scientiarum Bohemoslovace Brno*. 7(12):1-52.
- KRYŠTUFEK, B., A. HUDOKLIN, D. PAVLIN (2003): Population biology of the edible dormouse *Glis glis* in a mixed montane forest in central Slovenia over three years. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, supplement 1. 49:85-97
- KRYŠTUFEK, B. (2010): *Glis glis* (Rodentia: Gliridae). *Mammalian Species*. 42: 195-206.
- LOTE, C. J. (1982): Renal prostaglandins and sodium excretion. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 67, 377-385
- MAHLEY, R. W., K. H. WEISGRABER (1974): Canine lipoproteins and atherosclerosis. Isolation and characterization of plasma lipoproteins from control dogs. *Circulation Research*. 35, 713-721.

- MALATESTA, M., F. PERDONI, S. BATTISTELLI, S. MULLER, C. ZANCANARO (2009): The cell nuclei of skeletal muscle cells are transcriptionally active in hibernating edible dormice. *BMC Cell Biol.* 2009;10:19.
- MARGALETIĆ, J., M. GRUBEŠIĆ, K. KRAPINEC, K. KAUZLARIĆ, S. KRAJTER (2006): Dinamika i struktura populacije sivoga puha (*Glis glis* L.) u šumama u Hrvatskoj u razdoblju od 2002 do 2004 godine. GŠP vol. P5 s. 377.
- MARKOV, G. (2001): Microgeographical non-metric cranial diversity of the fat dormouse (*Glis glis* L.). *Trakya University Journal of Scientific Research, series B, Vol. 2, No. 2* (2001), pp. 115-119.
- MARTYSIAK-ŻUROWSKA, D., K. ZALEWSKI, R. KAMIENIARZ (2009): Unusual odd-chain and trans-octadecanoic fatty acids in tissue of feral European beaver (*Castor fiber*), Eurasian badger (*Meles meles*) and racoon dog (*Nyctereutes procyonoide*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B.* 153, 145-148.
- MORRIS, P. A. (1997): A review of the fat dormouse (*Glis glis*) in Britain. *Natura Croatica.* 6:163-176.
- MORRIS, P. A. (2004): Dormice. Whittet Books Ltd. Suffolk, UK.
- NIKOLAIDIS, M. G., A. PETRIDOU, V. MOUGIOS (2006): Comparison of the phospholipid and triacylglycerol fatty acid profile of rat serum, skeletal muscle and heart. *Physiol. Res.* 55; 259-265.
- ÖZKAN, B. (2006): An Observation on the Reproductive Biology of *Glis glis* (Linnaeus, 1766) (*Rodentia; Gliridae*) and Body Weight Gaining of Pups in the Istranca Mountains of Turkish Thrace. *International Journal of Zoological Research.* 2:129–135.
- PARKER, G., N. A. GIBSON, H. BROTCHE, G. HERUC, A. M. REGS, D. HADŽI-PAVLOVIĆ (2006): Omega-3 fatty acids and mood disorders. *American Journal of Psychiatry.* 163, 969–978.
- PERIĆ, R. (2016): Značaj puhova (Por. *Gliridae*) u šumama Hrvatske. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Šumarski fakultet, Zagreb.
- PERVAN, I., T. RADOČAJ (2018): Determinacija spola i morfološke osobine sivog puha (*Glis glis* L.) s područja Dalmatinske zagore. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zagreb.
- PILASTRO, A. (1994): Factors affecting body mass of young dormice (*Glis glis*) at weaning and by hibernation. *Journal of Zoology, London.* 234: 13–23.

- RIFAI, N., P. S. BACHORIK, J. J. ALBERTS (1999): Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. In: Tietz textbook of clinical chemistry. (BURTIS, C. A., E. R. ASHWOOD, Eds.), WB Sanders, Philadelphia, Pennsylvania, str. 809-861.
- RODOLFI, G. (1994): Dormice *Glis glis* activity and hazelnut consumption. *Acta Theriologica*. 39; 215-220.
- RUF, T., J. FIETZ, W. SCHLUND, C. BIEBER (2006): High survival in poor years: life history tactics adapted to mast seeding in the edible dormouse. *Ecology*. 87; 372-381.
- SCHLUND, W., F. SCHARFE, J. U. GANZHORN (2002): Longterm comparison of food availability and reproduction in the edible dormouse (*Glis glis*). *Mammal Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*. 67:219–232.
- SCINSKI, M., Z. BOROWSKI (2008): Spatial organization of the fat dormouse (*Glis glis*) in an oak-hornbeam forest during the mating and post-mating season. *Mammalian Biology*. 73:119-127.
- SJAASTAD, Ø.V., O. SAND I K. HOVE (2010): Bubrezi i mokraćni sustav. U: Fiziologija domaćih životinja. Ur.: M. Šimpraga i S. Milinković Tur, 1. izdanje, Jastrebarsko: Naklada Slap, str. 748-750.
- SMITH, L. C., H. J. POWNALL, A. M. GOTTO (1978): The plasma lipoproteins: structure and metabolism. *Annual Review of Biochemistry*. 47, 751-777.
- SOKOLOV, V. E., V. F. KULIKOV (1987): The structure and function of the vibrissal apparatus in some rodents. *Mammalia* 51:125-.1-8.
- STEINER, J. M. (2000): Canine digestive lipases. Dizertacija, Texas A&M University, Texas. str
- STILINOVIĆ, Z. (1993): Resorpcija masti: Transport lipida tjelesnim tekućinama životinjskog organizma. In: Fiziologija probave i resorpcije u domaćih životinja. Ur.: S. Babić, Školska knjiga, Zagreb, str. 25-129.
- STORCH, G. (1978): *Glis glis* (Linnaeus, 1766): Siebenschläfer. in *Handbuch der Säugetiere Europas*. Bd. 1, Rodentia 1 (Niethammer J., Krapp F.). Akademische Verlagsgesellschaft, Wiesbaden, Deutschland, 243-258.
- STRYER, L. (1991): Stvaranje i pohrana metaboličke energije. U: Biokemija (RUNJE, V. Ur.), Školska knjiga, Zagreb, str. 333-355.
- ŠTRAUS, B., J. PETRIK (2009): Lipidi i lipoproteini. In: Štrausova medicinska biokemija (ČVORIŠĆEC, D., ČEPELAK, I., Ur.), Medicinska naklada Zagreb, str. 124-161.
- 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.
- VAN LE, H., D. VIET NGUYEN, Q. VU NGUYEN, B. SHERIFAT, P. D. NICHOLS (2019): Fatty acid profiles of muscle, liver, heart and kidney of Australian prime lambs fed different polyunsaturated fatty acids enriched pellets in feedlot system. *Sci Rep.* 9(1):1238.
- VERNON, R.G. (1981): Lipid metabolism in the adipose tissue of ruminant animals. U: Lipid metabolism in ruminant animals. Pergamon Press Ltd. Oxford, str. 279-362.
- VIETINGHOFF-RIESCH, A., FRHR V. (1960). Der Siebenschläfers (*Glis glis* L.). Monographien der Wildsäugetiere 14. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, Germany.
- VIOLANI C., B. ZAVA (1995): Carolus Linnaeus and the edible dormouse. *Hystrix- the Italian Journal of Mammalogy.* 6:109-115.
- VRANKOVIĆ, L., DELAŠ, I., S. RELJIĆ, D. 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. *Physiological and Biochemical Zoology.* 90. 399-406.
- WATSON, T. D. G., J. BARRIE (1993): Lipoprotein metabolism and hyperlipidemia in the dog and cat. *Journal of Small Animal Practice.* 34, 479-487.
- WILSON, D. E., D. M. REEDER (2005): *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference.* 3rd ed. The Johns Hopkins University Press. Maryland.
- WILZ, M., G. HENDMAIER (2000): Comparison of hibernation, estivation and daily torpor in the edible dormouse, *Glis glis*. *Journal of Comparative Physiology B.* 2000 Nov; 170(7):511-21.
- XENOULIS, P. G., J. M. STEINER (2008): Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs. *The Veterinary Journal.* 183, 12-21.
- ZALEWSKI, K., D. MARTYSIAK-ŻUROWSKA, D. IWANIUK, M. NITKIEWICZ, B. STOŁYHWO (2007): Characterization of fatty acid composition in Eurasian badger (*Meles meles*). *Polish Journal of Environmental Studies.* 16. 645-650.
- ZALEWSKI, K., D. MARTYSIAK-ŻUROVSKA, A. STOLYHWO, M. IWANIUK, B. NITKIEWICZ, M. MAJDAN, P. SOSCHA (2008): Chemical Composition of Lipids Isolated from Selected Organs and Tissues of the Raccoon Dog (*Nyctereutes procyonoides*). *Polish Journal of Environmental Studies.* 17, 605-611.

8. SAŽETAK

Masnokiselinski sastav različitih tkiva sivog puha (*Glis glis*)

Sivi puh, hrvatska je autohtona divljač iz reda glodavaca, porodice puhova. Ulovljeni puhovi koriste se kao izvor bjelančevina u prehrani ljudi, otopljena mast se tradicionalno koristi za pomoć pri cijeljenju rana, a od krzna se izrađuju različiti predmeti. Masne kiseline (MK) kroz različite biološke aktivnosti utječu na zdravlje, reprodukciju te su važne kao rizični faktor u nastanku kardiovaskularnih i neurodegenerativnih bolesti. Esencijalne MK, linolna kiselina (C 18:2n-6) iz porodice n-6 MK te α -linolenska (C 18:3n-3) iz porodice n-3 u organizam se unose putem hrane. Cilj rada bio je utvrditi masnokiselinski sastav jetre, bubrega, srca, mišića *m. gluteus superficialis* te potkožnog i abdominalnog masnog tkiva mužjaka i ženki što će omogućiti bolje poznavanje biologije ove vrste. Istraživanje je provedeno na 33 jedinke sivog puha od čega je bilo 18 jedinki ženskog spola i 15 jedinki muškog spola. Uzorci jetara, bubrega, srca, *m. gluteus superficialis*, potkožnog i abdominalnog masnog tkiva sakupljeni su u rujnu i listopadu 2017. godine tijekom lovne sezone. Uzorci tkiva su homogenizirani, ukupni lipidi ekstrahirani te je određen masnokiselinski sastav plinskom kromatografijom. Analizom tkiva jetre ustanovljeno je 15 različitih masnih kiselina. U tkivima oba spola najzastupljenija skupina su bile zasićene masne kiseline (SFA; 39,35 \pm 4,19% u ženki odnosno 36,58 \pm 6,37% u mužjaka). Druge po zastupljenosti višestrukonezasićene masne kiseline (PUFA; 27,99 \pm 6,59% u ženki odnosno 32,84 \pm 12,10% u mužjaka). Utvrđen je značajno veći postotak miristinske kiseline u ženki u odnosu na mužjake. Analizom bubrežnog tkiva utvrđeno je prisutnost 12 različitih masnih kiselina. U tkivu ženki dominiraju SFA (38,79 \pm 5,98% u ženki), a u tkivima mužjaka dominiraju jednostrukonezasićene masne kiseline (MUFA) (36,59 \pm 9,72%). Druga najzastupljenija skupina u ženki su bile jednostrukonezasićene masne kiseline (37,69 \pm 9,93%), a u mužjaka zasićene masne kiseline (36,00 \pm 6,45%). Najmanje zastupljena skupina su bile višestrukonezasićene masne kiseline (PUFA) (23,53 \pm 7,29%) u ženki odnosno (27,41 \pm 8,27%) u mužjaka. Analizom je utvrđen značajno viši udio PUFA/SFA u mužjaka u odnosu na ženke. Analizom mišićnog tkiva *m. gluteus superficialis* ustanovljena je prisutnost 13 različitih masnih kiselina. Najdominantija skupina u oba spola su bile MUFA (34,47 \pm 6,84% u ženki odnosno 30,16 \pm 10,12% u mužjaka). U ženki su druga najzastupljenija skupina bile SFA (25,79 \pm 3,58%), a u mužjaka višestrukonezasićene masne kiseline (30,05 \pm 12,05%). Mužjaci su imali značajno veće postotke PUFA i C22:5n3 u odnosu na ženske primjerke. Analizom srčanog mišića ustanovljena je prisutnost 12 različitih masnih kiselina. U najvećem postotku je bila zastupljena skupina PUFA (34,68 \pm 6,11% u ženki odnosno 40,34 \pm 7,91% u mužjaka). U najmanjem

postotku je bila prisutna skupina SFA ($31,95 \pm 7,99\%$ u ženki odnosno $27,39 \pm 6,51\%$ u mužjaka). U mužjaka su utvrđeni značajno veći postoci PUFA i C22:6n-3 su u odnosu na ženke. Značajno viši postotak vakkenske kiseline je utvrđen u masnokiselinskom sastavu ženskog spola u odnosu na muški. Analizom potkožnog masnog tkiva otkrivena je prisutnost 12 različitih masnih kiselina. Najzastupljenija skupina u oba spola su bile MUFA ($56,22 \pm 17,21\%$ u ženki odnosno $49,15 \pm 20,01\%$ u mužjaka). Druga najzastupljenija skupina masnih kiselina su bile zasićene masne kiseline ($21,97 \pm 10,54\%$ u ženki odnosno $21,58 \pm 6,87\%$ u mužjaka). Utvrđen je značajno veći postotak alfa-linolenske kiseline u mužjaka u odnosu na ženke. Također je uočen značajno veći postotak n-3 kod muških životinja u odnosu na ženke. Analizom abdominalnog masnog tkiva ustanovljena je prisutnost 9 različitih masnih kiselina. Najzastupljenija skupina bile su MUFA ($55,78 \pm 9,32\%$ u ženki odnosno $49,01 \pm 14,36\%$ u mužjaka). U najmanjem postotku bile su prisutne višestrukonezasićene masne kiseline ($6,63 \pm 4,09\%$ u ženki odnosno $15,04 \pm 17,34\%$ u mužjaka). Kod muških jedinki je utvrđen značajno veći postotak C18:2; PUFA i n-6. U ženskih jedinki utvrđen je značajno viši postotak stearinske kiseline u odnosu na muške jedinke. Na osnovi rezultata može se zaključiti kako u bubrezima, mišiću *m. gluteus superficialis*, potkožnom i abdominalnom masnom tkivu najzastupljenije su MUFA koje se unose hranom i sintetiziraju u organizmu sivog puha koje omogućavaju preživljavanje tijekom hibernacije. Visoki udio PUFA u srčanom mišiću jer su važne za dostizanje nižih jelesnih temperatura i usporavanje intenziteta metabolizma, a udio linolne MK u srcu i u ženki i u mužjaka je visok zbog zastupljenosti kardiolipina srca koji se nalazi u mitohondrijima. Prisutnost esencijalne MK, C18:3n-3 u potkožnom i abdominalnom masnom tkivu te *m. gluteus superficialis* važan je nalaz zbog činjenice da je sivi puh u Hrvatskoj divljač koja se tradicionalno konzumira te je dobar izvor ove MK. U bubrezima je utvrđen visoki postotni udio C20:4n-6 te je bio veći 2-4 puta u odnosu na druga tkiva zbog toga što je arahidonska kiselina prekursor za sintezu prostaglandina koji utječu na filtraciju i reapsorpciju u bubregu.

Ključne riječi: masnokiselinski sastav, sivi puh, jetra, bubreg, srce, *m. gluteus superficialis*, potkožno i abdominalno masno tkivo

9. SUMMARY

Fatty acid composition of various tissues of edible dormouse (*Glis glis*)

Edible dormouse is a Croatian autochthonous game from the order of rodents, the family of gliridae. Meat of edible dormouse is used as a source of protein in the human diet, melted fat is traditionally used to help in wound healing, and various products are made from fur. Fatty acids (FA) through various biological activities affect health, reproduction and are important as a risk factor in the development of cardiovascular and neurodegenerative diseases. Essential FA, linoleic acid (C 18: 2n-6) from the n-6 FA family and α -linolenic (C 18: 3n-3) from the n-3 family are taken into the body through food. The aim of this study was to determine the fatty acid composition of the liver, kidneys, heart, tissue of the *m. gluteus superficialis* and subcutaneous and abdominal adipose tissue of males and females, to enable better knowledge of the biology of this species. The study was conducted on 33 individuals of edible dormouse, of which 18 were females and 15 males. Samples of liver, kidney, heart, *m. gluteus superficialis*, subcutaneous and abdominal adipose tissue were collected in September and October 2017 during the hunting season. Tissue samples were homogenized, total lipids were extracted, and the fatty acid composition was determined by gas chromatography. Liver tissue analysis showed 15 different FAs. In the tissues of both sexes, the most represented group were saturated fatty acids (SFA; $39.35 \pm 4.19\%$ in females and $36.58 \pm 6.37\%$ in males). Second most abundant were polyunsaturated fatty acids (PUFA; $27.99 \pm 6.59\%$ in females and $32.84 \pm 12.10\%$ in males). A significantly higher percentage of myristic acid was found in females compared to males. Analysis of kidney tissue showed the presence of 12 different FAs. SFA ($38.79 \pm 5.98\%$ in females) dominated in female tissue, and monounsaturated fatty acids (MUFA) ($36.59 \pm 9.72\%$) dominated in male tissues. The second most represented group in females were MUFA ($37.69 \pm 9.93\%$), and in males SFA ($36.00 \pm 6.45\%$). The least represented group were polyunsaturated fatty acids (PUFA) ($23.53 \pm 7.29\%$ in females and $27.41 \pm 8.27\%$ in males). The analysis showed a significantly higher proportion of PUFA / SFA in males compared to females. Analysis of the *m. gluteus superficialis* muscle tissue revealed the presence of 13 different fatty acids. The most dominant groups in both sexes were MUFA ($34.47 \pm 6.84\%$ in females and $30.16 \pm 10.12\%$ in males, respectively). In females, the second most common group were SFA ($25.79 \pm 3.58\%$), and in males PUFA ($30.05 \pm 12.05\%$). Males had significantly higher percentages of PUFA and C22:5n3 compared to female specimens. Analysis of the heart muscle showed the presence of 12 different fatty acids. The largest

percentage was represented by the PUFA group ($34.68 \pm 6.11\%$ in females and $40.34 \pm 7.91\%$ in males). The smallest percentage was the SFA group ($31.95 \pm 7.99\%$ in females and $27.39 \pm 6.51\%$ in males). Significantly higher percentages of PUFA and C22: 6n-3 were found in males compared to females. A significantly higher percentage of vaccenic acid was found in the FA composition of females compared to males. Subcutaneous adipose tissue analysis revealed the presence of 12 different fatty acids. The most represented group in both sexes were MUFA ($56.22 \pm 17.21\%$ in females and $49.15 \pm 20.01\%$ in males). The second most common group of fatty acids were SFA ($21.97 \pm 10.54\%$ in females and $21.58 \pm 6.87\%$ in males). A significantly higher percentage of alpha-linolenic acid was found in males compared to females. A significantly higher percentage of n-3 was also observed in male animals compared to females. Analysis of abdominal adipose tissue revealed the presence of 9 different fatty acids. The most common groups were MUFA ($55.78 \pm 9.32\%$ in females and $49.01 \pm 14.36\%$ in males). Polyunsaturated fatty acids were present in the lowest percentage ($6.63 \pm 4.09\%$ in females and $15.04 \pm 17.34\%$ in males, respectively). In males, a significantly higher percentage of C18:2, PUFA and n-6 was found. A significantly higher percentage of stearic acid was found in females compared to males. Based on the results, it can be concluded that in the kidneys, *m. gluteus superficialis*, subcutaneous and abdominal adipose tissue the most dominant fatty acids are MUFA which are ingested by food and synthesized in the body of edible dormouse which helps with survival during hibernation. The high proportion of PUFA in the heart muscle is due to lower body temperatures reaching and slowing the metabolic rate. The proportion of linoleic FA in the heart in both females and males is high due to the presence of cardiac cardiolipin found in mitochondria. The presence of essential FA, C18: 3n-3 in subcutaneous and abdominal adipose tissue and *m. gluteus superficialis* is an important finding due to the fact that edible dormouse in Croatia is a game that is traditionally consumed and is a good source of this FA. A high percentage of C20: 4n-6 was found in the kidneys and was 2-4 times higher than in other tissues because arachidonic acid is a precursor of the prostaglandin synthesis who affect filtration and reabsorption in the kidney.

Key words: fatty acid composition, edible dormouse, liver, kidney, *m. gluteus superficialis*, heart, subcutaneous and abdominal adipose tissue

10. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 03. rujna 1994. godine u Zagrebu. Osnovnu školu i gimnaziju završio sam u Velikoj Gorici. Integrirani preddiplomski i diplomski studij veterinarske medicine na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisao sam 2013. godine. Tijekom studija sudjelovao sam u izradi 8 znanstveno-istraživačkih radova koje sam prezentirao na kongresima u razdoblju od 2015.-2019.: 8. međunarodnom kongresu „Veterinarska znanost i struka“, Zagreb, 2019.; 21. međunarodnom znanstveno-istraživačkom kongresu studenata veterinarske medicine, Istanbul, 2019.; 6. međunarodnom kongresu nutricionista, Zagreb, 2018.; 5. međunarodnom kongresu nutricionista, Zagreb, 2017.; 6. Veterinarskim danima, Opatija, 2016.; 5. Veterinarskim danima, Opatija, 2015. te rad objavljen u studentskom časopisu "Veterinar", 2017.

Dobitnik sam studentske stipendije za izvrstan uspjeh Grada Velike Gorice u 2017. i 2018. godini. Stručne prakse odradio sam u Veterinarskoj stanici Velika Gorica te u „PLIVA Hrvatska“ 2019. godine sam.

Popis radova:

1. Šiftar, O., Loredana Pincan, Marina Prišlin, Lana Vranković, Ivančica Delaš, M. Bujanić, D. Konjević, Z. Stojević, Jasna Aladrović (2019): Composition of fatty acids in liver, kidney and subcutaneous adipose tissue in edible dormouse (*Glis glis*), znanstveno - istraživački rad prezentiran na 8. Međunarodnom kongresu „Veterinarska znanost i struka“. Zagreb, 2019.
2. Pincan, Loredana, O. Šiftar, Blanka Beer Ljubić, Marina Prišlin, Ana-Marija Posavec, Lana Vranković, M. Bujanić, I. Pervan, D. Konjević, Jasna Aladrović (2019): Oxidative stability of the liver, kidneys, heart and muscle of the fat dormouse (*Glis glis*), znanstveno - istraživački rad prezentiran na 21. međunarodnom znanstveno-istraživačkom kongresu studenata veterinarske medicine u Istanbulu 2019. godine.
3. Prišlin, Marina, Ana-Marija Posavec, Blanka Beer Ljubić, Loredana Pincan, O. Šiftar, Lana Vranković, Jasna Aladrović, Ivana Kiš (2019): Comparison of erythrocyte and leukocyte findings obtained by urine dipstick and standard microscopic sediment urinalysis with different diagnoses in dogs., znanstveno - istraživački rad prezentiran na 21. međunarodnom znanstveno-istraživačkom kongresu studenata veterinarske medicine u Istanbulu 2019. godine.
4. Šiftar, O., Loredana Pincan, Marta Šubrek, Ana Zupčić, Marina Prišlin, Lana Vranković, Ivančica Delaš, M. Bujanić, D. Konjević, Z. Stojević, Jasna Aladrović (2018): Masnokiselinski sastav

- potkožnog i abdominalnog masnog tkiva sivog puha (Glis glis)., znanstveno - istraživački rad prezentiran na 6. međunarodnom kongresu nutricionista. Zagreb 2018. godine.
5. Prišlin, Marina, Loredana Pinčan, O. Šiftar, Ana Shek Vugrovečki, Lada Radin, Lana Vranković, Jasna Aladrović (2017): Životne, prehrambene navike i stavovi studenata druge godine studija veterinarske medicine, znanstveno - istraživački rad objavljen u časopisu "Veterinar" u Zagrebu 2017. godine.
 6. Pinčan, Loredana, Marina Prišlin, O. Šiftar, Lana Vranković, Jasna Aladrović (2017): Eating habits and attitudes of veterinary medicine students who live at home or away from home., znanstveno - istraživački rad prezentiran na 5. Međunarodnom kongresu nutricionista u Zagrebu 2017. godine.
 7. Zidar, Biserka, Jasna Aladrović, Loredana Pinčan, O. Šiftar, Marina Prišlin, Ljiljana Bedrica (2016): Utjecaj anestetika na temperaturu, krvni tlak i frekvenciju srca mačaka podvrnutih kastraciji, znanstveno - istraživački rad prezentirana na 6. Hrvatskom veterinarskom kongresu u Opatiji 2016. godine.
 8. Pinčan, Loredana, Marina Prišlin, O. Šiftar, Kristina Perez, Ana Shek Vugrovečki, Lada Radin, Jasna Aladrović (2015): Životne i prehrambene navike studenata druge godine studija veterinarske medicine., znanstveno - istraživački rad prezentirana na Veterinarskim danima 2015. u Opatija.