

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno- matematički fakultet  
Biološki odsjek

Lorena Đeržanin

**Hematološke značajke blavora (*Pseudopus apodus*, Pallas 1775)  
na području Splita i otoka Cres**

Diplomski rad

Zagreb, 2012

Ovaj rad, izrađen u Zavodu za animalnu fiziologiju Biološkog odsjeka PMF-a pod vodstvom prof. dr. sc. Zorana Tadića, predan je na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistra eksperimentalne biologije, modul zoologija.

## Zahvale

Zahvaljujem svojem mentoru prof. dr. sc. Zoranu Tadi u na podrzci, vodstvu, strpljenju i pomo i pri izradi ovoga rada.

Tako er se zahvaljujem svojim kolegicama i prijateljicama Pauli i Vanji koje su sudjelovale u terenskom istra0ivanju vezanom uz ovaj rad te se pokazale kao izvrsni suradnici. Hvala, djevojke!

Hvala Martini, Luki, Tihani i Teni koji su tako er sudjelovali u terenskom radu i pomogli nam zavrziti ovaj rad.

Hvala Dujinim i Paulinim roditeljima koji su nam srda no ustupili svoje domove kako bismo ih pretvorili u male laboratorije i nesmetano radili.

Najve a hvala doc.dr.sc. Duji Lisi i u za sav ulo0en trud, vrijeme pa tako i strpljenje koje je bilo potrebno za izradu ovog diplomskog rada. Zahvaljuju i njemu imala sam priliku nau iti mnogo o radu na terenu, novim metodama prikupljanja podataka te prepoznavati razne vrste biljnog i 0ivotinjskog svijeta. Iskustvo koje sam stekla tijekom jednogodiznjeg rada s Dujom neprocjenjivo je i svakako odli an temelj za naredne projekte i znanstvene pothvate.

Zahvaljujem se svim djelatnicima Zavoda za animalnu fiziologiju ponajvize Mariji Poto i i Hrvoju Jedvaju.

Velika hvala mojim roditeljima koji su financirali mojih 11 odlazaka na teren i bili velika podrzka tijekom cijelog studija, stoga ovaj rad posve ujem njima.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Diplomski rad

Hematološke značajke blavora (*Pseudopus apodus*, Pallas 1775) na području Splita i otoka Cres

Lorena Derežanin

Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Biološki odsjek,

Rooseveltova trg 6, Zagreb, Hrvatska

Istraživanje hematoloških značajki blavora provela sam na otoku Cresu i na području Klisa. Otok Cres predstavlja otoku populaciju sjevernog Jadrana, dok područje Klisa predstavlja kontinentalnu populaciju južnog Jadrana. Blavor je uz sljepiaka jedini beznogi guzter te ujedno i najveći koji obitava u na području hrvatskog primorja koje predstavlja sjeverozapadnu granicu rasprostranjenosti ove vrste. Cilj mog istraživanja bio je odrediti hematološke značajke u svrhu boljeg poznavanja biologije ove vrste te ih usporediti na temelju spola i različitih lokacija na kojima jedinke obitavaju i utvrditi postoji li značajna razlika unutar 65 hematoloških vrijednosti. Dobiveni rezultati pokazali su da značajna razlika unutar 24 vrijednosti postoji između jedinke populacija uzorkovanih na dvije opisane lokacije, dok ova razlika nije zabilježena između mužjaka i ženki blavora.

(78 stranica, 48 slika, 11 tablica, 39 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Srednjoj biološkoj knjižnici

ključne riječi: hematološke značajke, spol, lokacija, tip stanice

Voditelj: Dr. sc. Zoran Tadić, doc.

Ocjenitelji: Dr. sc. Zoran Tadić, doc.

Dr. sc. Renata Čožarić, doc.

Dr. sc. Ivana Ternjević, izv. prof.

Rad prihvaćen: 31. listopada 2012.

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Biology

Graduation Thesis

### **Hematology of the Glass lizard (*Pseudopus apodus*, Pallas 1775) in the area of Split and the island of Cres**

Lorena Derežanin

Research of hematological features of glass lizard was conducted on the island Cres and at Klis, area in vicinity of Split. The island of Cres is representative of a north adriatic island population, while area Klis is representative of south adriatic continental population. Besides the slow worm, glass lizard is the only legless lizard and the largest one that inhabits Croatian coastal area which is the Northwest frontier of this species. The goal of my research was to determine the hematological features for better understanding of the biology of this species and also to compare them on the basis of gender and different locations where individuals of this species live and observe whether there is a significant difference within these 65 values. Results demonstrated that significant differences exist within 24 hematological features among individuals sampled in each of these two locations, whereas these differences weren't noted between males and females.

(78 pages, 48 figures, 11 tables, 39 literature citations, original in: Croatian)

Thesis deposited in the Central Biological Library

Keywords: haematological features, gender, location, type of cell

Supervisor: Dr. sc. Zoran Tadic, doc.

Reviews: Dr. sc. Zoran Tadic, doc.

Dr. Renata Žoštarić, doc.

Dr. Ivan Ilić Ternjević, Assoc. Prof.

Thesis accepted: 31 October 2012

# Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	2
3. ZNAJKE GMAZOVA.....	3
3.1. PORODICA ANGUIDAE.....	6
3.2. BLAVOR ( <i>Pseudopus apodus</i> ).....	7
4. HEMATOLOGIJA GMAZOVA.....	9
4.1. SASTAV KRVI GMAZOVA.....	10
4.2. ERITROCITI.....	12
4.3. LEUKOCITI.....	14
4.4. TROMBOCITI.....	17
5. MATERIJALI I METODE.....	18
5.1. KEMIKALIJE I UZORKOVANJE KRVI.....	18
5.2. ODREĐIVANJE VRIJEDNOSTI HEMOGLOBINA.....	19
5.3. ODREĐIVANJE VRIJEDNOSTI HEMATOKRITA (PCV).....	20
5.4. ODREĐIVANJE BROJA STANICA.....	21
5.5. IZRADA I BOJANJE KRVNOG RAZMAZA.....	22
5.6. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA.....	23
5.7. PODRUČJE TERENSKOG ISTRAŽIVANJA.....	24
6. REZULTATI.....	25
6.1. TIPOVI ERITROCITA.....	25
6.2. TIPOVI LEUKOCITA.....	27
6.3. TIPOVI TROMBOCITA.....	32
6.4. BROJNOST I UDJELI KRVNIH STANICA U BLAVORA.....	33
6.5. ANALIZA REZULTATA JESENSKE SEZONE.....	33
6.6. ANALIZA REZULTATA PREMA SPOLU.....	34
6.7. ANALIZA REZULTATA PREMA LOKACIJAMA.....	41
6.8. GRAFIČKI PRIKAZ REZULTATA.....	47
7. RASPRAVA.....	64
8. ZAKLJUČAK.....	73
9. LITERATURA.....	74

# 1. Uvod

Hematologija gmazova slabije je istrađena u odnosu na hematologiju toplokrvnih ōivotinja. Hematološke odrednice u razli itih skupina gmazova znatno se razlikuju, dok takve razlike nisu uo ene u ptica i sisavaca. Hematološke zna ajke kod gmazova variraju unutar iste vrste ovisno o starosti, spolu, prehrani, bolesti, fiziološkom stanju jedinke, no tako er su izuzetno vaōne kao osnova za poznavanje sustava vizih kraljeznjaka. Unato velikoj zastupljenosti blavora na podru ju primorske Hrvatske, gotovo se niza ne zna o njihovoj hematologiji a zadnja istraōivanja ove vrste ra ena su 1986. u tadašnjoj Jugoslaviji (Meek, 1986).

Rezultati koje sam koristila u svome radu odnose se na populaciju blavora s podru ja Klisa u okolici Splita, te s nekoliko lokacija na otoku Cresu. Prema Pravilniku o zaštiti pojedinih vrsta gmazova (Reptilia) (»Narodne novine«, broj 47/95), blavori su svrstani na popis posebno zašti enih ōivotinjskih vrsta no o ovoj se vrsti joz uvijek malo zna, stoga bi dobiveni rezultati mogli posluōiti kao osnova za daljnja ekofiziološka istraōivanja.

## 2. Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je određivanje hematoloških značajki blavora (*Pseudopus apodus*, Pallas 1775) na području Splita i otoka Cres. Cilj je također usporediti dobivene rezultate na osnovi spola i lokacija na kojima ove populacije obitavaju kako bi se utvrdilo postoji li značajna razlika među mužjacima i ženama ili su razlike u hematološkim značajkama vezane za različiti tip i uvjete stanizta na dvije istraživane lokacije.

Podaci o krvnim parametrima ove vrste gotovo su potpuno nepoznati, te bi obrada podataka prikupljenih tijekom izrade rada dala jasniji uvid u hematologiju blavora ali i drugih srodnih vrsta gmazova. Nadalje, poznavanje hematologije ove vrste svakako bi doprinijelo novim saznanjima na području imunobiologije i ekofiziologije te kao osnova poslužilo za brojna istraživanja, osobito patoloških stanja i njihovih uzroka.



### 3. Značajke gmazova

Gmazovi su u evolucijskom smislu vrlo inovativna skupina kralježnjaka. Njihov razvoj, zahvaljujući pojavi amniotskog jajeta prešao je ovisiti o vodenom okruženju te ih ta prilagodba čini prvim pravim kopnenim kralježnjacima. Rasprostranjeni su na svim kontinentima osim Antarktike. Najzastupljeniji su u područjima umjerenog i tropskog klimatskog pojasa. Naseljavaju gotovo sve tipove kopnenih staništa te naknadno osvajaju i vodena staništa.

Veliki imbenik koji ograničava njihovo rasprostranjenje je količina toplinske energije koju im staništa koje naseljavaju mogu pružiti. Svi današnji gmazovi su isključivo ektotermne životinje, to nije, ne mogu samostalno održavati stalnu tjelesnu temperaturu već primaju toplinu iz vanjskih izvora (Pianka i Vitt, 2003). Broj vrsta značajno opada približavajući se visim nadmorskim visinama i geografskim širinama, no ipak, jedna je vrsta, životinjska gužverica (*Lacerta vivipara*) koja nastanjuje područje koje dijelom pripada Arktičkom krugu (Pough i sur., 2001).

Prednost ektotermije temelji se na činjenici da, za razliku od ptica i sisavaca, gmazovi ne troše energiju na proizvodnju topline već je ona usmjerena na rast, razmnožavanje pa tako i socijalno ponašanje. Iako su ovisni o vanjskim uvjetima, gmazovi imaju mogućnost preživjeti u okolišu u kojem su izvori hrane vrlo ograničeni te isti ne bi mogli zadovoljiti sisavca ili pticu jednake veličine (Pianka i Vitt, 2003).

Također, gmazovi na nepovoljne uvjete reagiraju svojim ponašanjem koje reguliraju prema potrebi, u slučaju prevelike izloženosti toplini, povlače se u sklonište i miruju uz minimalnu potrošnju energije te preživljavaju duže periode bez hrane.

Koža gmazova obložena je keratinskim slojem koji ih razlikuje od vodozemaca te je još jedna od prilagodbi na terestralni način života. Epidermalni pokrov sadrži keratin kojeg odlikuje elastičnost i -keratin, vrst spoj svojstven jedino gmazovima. Keratin se taloži na površini stanica što na kraju uzrokuje njihovu smrt. Na taj način dolazi do stvaranja ovog sloja koji često sadrži i zadebljale dijelove koji čine zaštitne ljuske. Koža nekih vrsta gmazova, izmeću ostalog i blavora, potpomognuta je

koztanim strukturama . osteodermima koji pridonose boljoj zasztiti od predatora (Zug, 1993).

Lubanja danaznjih gmazova va0an je pokazatelj njihovog evolucijskog napretka. Izuzev kornja a (Testudines) koje u svojoj lubanji nemaju temporalnih otvora te predstavljaju jedine 0ivu e predstavnike podrazreda Anapsida, ostali gmazovi kao zto su ljuskazi (Squamata), premosnici (Rhynchocephalia), krokodili (Crocodylia) i ptice (Aves) imaju diapsidnu lubanju s dva temporalna otvora (Pough i sur., 2001). Prema ovim saznanjima anapsidna lubanja prethodi diapsidnoj na evolucijskoj ljestvici, no postoji problem kamo smjestiti kornja e za koje se vjeruje da su se razvile iz diapsidnog pretka te naknadno reducirale otvore na lubanji.

O i ve ine gmazova dobro su razvijene. Samo u nekoliko fosorijalnih vrsta su zakr0ljale ili su potpuno reducirane (Zug, 1993). Naj ez e su zazti ene s tri kapka, gornjim, donjim i migavicom ili su u slu aju zmija kapci srasli i oko je prekriveno prozirnom vrstom opnom (Greene, 1997).

Uzi gmazova su parne strukture i sastoje se od unutarnjeg, srednjeg te kod nekih guztera i krokodila i vanjskog uha. Ve ina gmazova ima bubnji i jasno uje zvukove, dok se kod nekih skupina kao zto su zmije, razvila sposobnost da vibracije iz okoline primaju putem sluznih kostiju u nedostatku bubnji a i vanjskog uha.

Osjetilo njuha u gmazova ini parni nazalni organ, dok im kao osjetilo okusa slu0i Jakobsonov ili vomeronazalni organ koji se razvio iz nazalne zupljine no s njom je ostao povezan jedino u premosnika (*Sphenodon*). Dobro je razvijen u ljuskaza no nedostaje u krokodila, dok se kod kornja a ne nalazi u zasebnoj zupljini ve u glavnoj nazalnoj zupljini. Mirisne estice se paluckanjem jezika prenose iz okoline putem uske cijevi koja povezuje usnu zupljinu s ovim organom smjezenim u svodu nepca.

Plu a ve ine gmazova su jednostavne vre aste strukture osim u nekih vrsta zmija koje su razvile modificirani oblik plu a, sastavljen od funkcionalnog desnog plu nog krila i nefunkcionalnog lijevog. Mnoge zmije tako er imaju i vaskularna trahealna plu a, to nije, izdanke na trahealnim prstenovima (Zug, 1993).

Krvoilni sustav gmazova dijeli se na plućni i sistemski krvotok (Pough i sur., 2001). Srce gmazova se uvelike razlikuje od skupine do skupine, srce kornja a i ljuskaza sastoji se od tri komore: dvije pretkljetke (atrija) i jedne kljetke (ventrikula) koja je djelomično podijeljena u tri zupljine (Zug, 1993). Srce krokodila ima pregradu (ventrikularni septum) unutar kljetke poput srca ptica i sisavaca koja omogućuje odvajanje sistemskog (lijevi dio) i plućnog (desni dio) krvotoka.

Metabolički produkt razgradnje dužikovih spojeva u gmazova najčešće je mokra na kiselina, dok kornjače i krokodili imaju prilagodbu na uvjete okoliza, pa tako u većini slučajeva kada im je vodeni medij dostupan u izobilju izlučuju ureju, a u okolizu koji oskudjeva vodom izlučuju mokraćnu kiselinu (Pough i sur., 2001).

Nadalje, jedna od najvažnijih i ranije spomenutih značajki gmazova je pojava svih triju embrionalnih ovojnica i vanjske vodonepropusne ljuske jajeta. Gmazovi su uglavnom oviparne životinje iako postoje i viviparni i partenogenetski oblici. Mužjaci imaju parne kopulatorne organe – hemipenise, iako u reprodukciji sudjeluje uvijek po jedan (Pough i sur., 2001). Ženke gmazova lijevom jajom u položivo izrađene komore za inkubaciju i zatim ih napuštaju. Tipična briga za potomstvo gmazovima nije svojstvena, iako postoji nekoliko vrsta koje brane i obilaze svoja gnijezda (Pianka i Vitt, 2003).

Prehrambene navike gmazova ovise o njihovom načinu lova plijena, pa tako razlikujemo lovce iz zasjede i aktivne lovce (Pough i sur. 2001). Blavor pripada aktivnim lovcima koji svoj plijen traže na većem području i često do njega dolaze iskapanjem ili penjanjem.

Krokodili, kornjače i većina guztera kreću se četveronožno na različite načine, no guzteri koji pripadaju rodovima *Ophisaurus*, *Anguis*, *Anniella* i *Ophioides* reducirali su svoje udove djelomično ili u potpunosti. Ova pojava se tijekom evolucije neovisno javlja u nekoliko navrata te je povezana s produljenjem tijela i repa radi lakšeg kretanja. (Pianka i Vitt, 2003). Beznogi guzteri se kreću poput zmija lateralnom undulacijom i često su fosorijalne vrste kojima ova prilagodba uvelike služi za lakše probijanje kroz supstrat (Pough i sur., 2001).

### 3.1 Porodica Anguidae

Porodica Anguidae ziroko je rasprostranjena u tropskom i umjerenom pojasu te obuhvaća 15 svojiti i oko 102 vrste guztera (Pough i sur., 2001). Većina vrsta je terestrijalna, no uključuje i fosorijalne (rod *Anniella*) i arborealne vrste (rod *Abronia*) rasprostranjene na području Sjeverne, Srednje i Južne Amerike, Europe, sjeverozapadne Afrike, Bliskog istoka te južne i jugoistočne Azije (Zug, 1993).

Većinom su to dnevne vrste te preferiraju relativno vlažna i hladnija staništa koja uključuju otvorene travnjake (*Pseudopus*, *Ophiodes*), pješčane dine (*Anniella*), borove i hrastove zume (*Abronia*), nizinske kizne zume (*Diploglossus*) i sl.

Mogu biti veliki izmeću 70 mm do prosječno 1,3 m, od kojih je najveća vrsta upravo blavor (Pough i sur., 2001). Većina ovih guztera ima dugo, zmijoliko tijelo prekriveno glatkim, sjajnim ljuskama koje čine vrstu oklop. Ispod njih se također nalazi i kožtani sloj koji zaostaje nakon smrti oivotinje (Arnold, 2002).

Vrste unutar rodova *Pseudopus* i *Anniella* potpuno su reducirale udove, dok ostale svojite zadržavaju barem udove od normalnih ili samo jedan par prednjih ili stražnjih zakrčljivih udova. Pripadnici rodova *Pseudopus* i *Gerrhonotus* su u potpunosti oviparni te je kod njih primjetna i briga za potomstvo. Većina ostalih vrsta je također oviparna uz izuzetak rodova *Diploglossus* i *Elgaria* koji sadržavaju i oviparne i viviparne vrste (Pough i sur., 2001).

Sve vrste su isključivo mesojedi, i hrane se širokim spektrom oivotinja, od kukaca i raznih drugih kopnenih beskraljevnjaka do malih glodavaca, mladih ptica i drugih gmazova (Arnold, 2002).

Na području Europe, pa tako i u Hrvatskoj nalazimo dvije vrste porodice Anguidae, a to su blavor (*Pseudopus apodus*) i sljepi (*Anguis fragilis*).

### 3.2. Blavor (*Pseudopus apodus*)

Blavor je najveći predstavnik porodice Anguillidae (Arnold, 2002, Meek, 1986) dok sam rod *Pseudopus* (sinonim *Ophisaurus*) ima 16 vrsta (Zug, 1993).

Nalazimo ga u jugoistočnoj Europi na području Bugarske, Grčke, Makedonije, Albanije, Crne Gore i Hrvatske. Zapadna granica njegove areale seže do sjeverozapadne Hrvatske.

Nastanjuje relativno suha krška područja prekrivena zikarom, livadama, suhozidima i nakupinama kamenja. Također ga možemo naći i na obradivim površinama i poljima te u blizini naselja (Arnold, 2002). Najčešće se zadržava u visokoj travi i gustom trnovitom grmlju u blizini skloništa. Aktivan je tokom dana, no izbjegava najtoplije periode, posebno ljeti i skriva se u rupe u zemlji ili unutar suhozida i kamenja. Često je aktivan u sumrak i neposredno nakon izlaska kada se hrani. Blavor se hrani raznim beskraljevcima, posebno pučevima koje drobi pomoću snažnih elastičnih, mnogim kukcima među kojima i skakavcima, paukima i ztrigama. Povremeno također lovi i manje kraljevnjake kao što su mizevi i guzterice (Arnold, 2002). Zabilježeno je da veće jedinke katkada love i druge gmazove poput zmija i većih guztera.

Odrasle jedinke dosežu duljinu do 140 cm, nozate rep je otprilike 1,5 puta duži od samog tijela (Arnold, 2002). Rep se u slučaju napada predatora odbacuje kaudalnom autotomijom i vrlo se sporo regenerira (Pough i sur., 2001).

Blavora je vrlo teško zamijeniti s nekom drugom vrstom, zbog specifičnog izgleda (Slika 1.). Tijelo odraslih jedinki je robusno i zmijolike te ga prekrivaju glatke i sjajne ljuske slaboo izraženih grebena. Ispod njih se nalazi, ranije spomenuto, kožnati sloj koji povećava krutost i čvrstoću u tijelu te omogućuje lakše kopanje i kretanje kroz zemlju kao i zaštitu od predatora. Blavor je evolucijom potpuno izgubio udove, no na većim jedinkama nalazimo rudimente stražnjih nogu s obje strane tijela u blizini kloake. Tijelo odraslih jedinki je obično kasto smeđe boje koje s godinama tamni, dok glava obično ostaje svjetlija. Neke jedinke blavora mogu doseći i zirinuru nog zgloba ovjeka.

Juvenilne jedinke su sive boje, prekrivene crnim mrljama po levoj strani tijela. Njihove ljuske su hrapavije nego u odraslih jedinki te imaju izraženije grebene na sredini ljsaka.

Blavor je oviparan guzter i liježe 6 do 10 jaja veličine 40 mm x 20 mm. Potomci su dugi 10 do 12 cm kada se izlegnu. (Arnold, 2002).



**Slika 1.** Blavor (*Pseudopus apodus*; engl. European Glass Lizard)  
(fotografija preuzeta s [www.IUCN.org](http://www.IUCN.org))

## 4. Hematologija gmazova

Hematologija je znanost koja se bavi proučavanjem, liječenjem, te sprječavanjem bolesti i poremećaja krvnih stanica. Hematološke i biokemijske analize krvi mogu biti od velike važnosti za proučavanje biologije određene vrste, kao i utvrđivanje zdravstvenog stanja životinje, kako u divljini tako i u zatočinstvu (Frye, 1991; Canfield, 1998; Campbell i Ellis, 2007). Hematologija gmazova slabije je istražena u odnosu na hematologiju ptica i sisavaca. Gmazovi, kao ektotermne životinje, pripadaju eurivalentnoj skupini organizama te dobro podnose promjene i oscilacije ekoloških čimbenika, no takve promjene se uvelike odražavaju na stanje organizma pa tako i hematološke značajke, obzirom da je krvotorni sustav jedan od glavnih mehanizama koji sudjeluje u održavanju ravnoteže organizma u cijelini.

Velik broj znanstvenika bavi se istraživanjem biologije gmazova te njihovom hematologijom no ipak se o ovom području danas još uvijek malo zna (Wojtaszek, 1991; Trojano i sur., 1997; Knotková i sur., 2002). Vjerojatni razlozi za to su relativna nedostupnost gmazova, posebice nekih vrsta gužtera i zmija. Većina vrsta je zaštićena ili ih je teško održavati u zarobljenstvu.

Također, gmazovi su vrlo raznolika skupina i filogenetski previše udaljeni da bi bili primjereni za istraživanja vezana za humanu medicinu te im je ekonomska važnost prilično mala pa tako većina istraživanja ostaje na razini prirodoslovnih fakulteta i sličnih institucija. Često se događa da rezultati normalnih hematoloških vrijednosti gmazova određeni u različitim laboratorijima jako variraju. Ove varijacije često su uzrokovane različitim metodama prikupljanja uzoraka, različitim načinom baratanja životinjom i analiziranjem podataka (Campbell, 2006). Vrlo je moguće da do ovih varijacija dolazi i zbog toga što se hematološke značajke unutar skupina gmazova znatno razlikuju, dok takve razlike nisu uočene u ptica i sisavaca.

Filogenetska udaljenost nekih skupina gmazova, razlike vezane za spol, starost, doba godine, fiziološko stanje jedinke (prehrana, bolesti, reproduktivna aktivnost) te okolni uvjeti poput temperature također bitno pridonose razlikama i širokom spektru rezultata hematoloških istraživanja koje je prema tome vrlo teško standardizirati (Wojtaszek, 1992).

Uslijed ovako varijabilnog sastava krvi razumljivo je da je hematologiju gmazova prilično zahtjevno proučavati.

Većina podataka o hematologiji određene vrste je nepotpuna te bi za potpunu hematološku sliku trebalo provesti niz istraživanja i analiza sastava krvi u različitim uvjetima okoliša kojima je životinja izložena u svom prirodnom staništu. Često je slučaj da objavljene referentne hematološke vrijednosti ne sadrže podatke koji nam govore o mogućem utjecaju na krvnu sliku. Posebice su važni podaci o okolišu u kojem obitava populacija gmazova koja ima ulogu kontrole u samom istraživanju (Campbell, 2006).

Fiziološki mehanizmi koji omogućuju gmazovima ovakvu varijabilnost često su različiti od onih u vjeverkama i kraljevcima te su izuzetno važni kao osnova za proučavanje i razumijevanje novih fizioloških adaptacija. Stoga, analizom hematoloških i biokemijskih značajki krvi gmazova možemo dobiti uvid u hemoparazitsko opterećenje unutar prirodnih populacija. Budući da jedinke pokazuju imunološki odgovor na zarazu hemoparazitima, razinu imuniteta možemo povezati sa fitness-om i usvojenim adaptacijama te posredno i seksualnim odabirom određene jedinke pa tako iz hematoloških i biomedicinskih istraživanja saznajemo mnogo i o aspektima bihevioralne ekologije gmazova. Gmazovi se također, kao bioindikator mogu koristiti u svrhu testiranja prirodnih populacija i otkrivanja prisutnosti zagađivača i mutagena u okolišu zahvaljujući svojoj poikilotermnoj prirodi.

## 4.1. Sastav krvi gmazova

Krv gmazova čini krvna plazma te krvne stanice kojima se u se nadalje u ovom radu baviti. Krvne stanice zauzimaju oko 20 do 40% volumena krvi (Olufemi 1994). Ovaj postotak se mijenja ovisno o vanjskim uvjetima i stanju organizma te su općenito vrijednosti hematokrita i hemoglobina niže u ektotermnih nego u endotermnih organizama (Campbell i Ellis, 2007). Vrijednosti hemoglobina također mogu varirati ovisno o nadmorskoj visini (Olufemi 1994). Smanjenje temperature rezultira padom vrijednosti hematokrita, hemoglobina i volumena plazme (Wojtaszek 1992). Uobičajeno je da kod većine vrsta gmazova postoje i razlike u ovim vrijednostima unutar spolova i smatra se da su pod utjecajem hormona (Olufemi 1994; Duguy 1970; Gee i sur. 1981).



Mu0jaci mnogih vrsta gmazova imaju vize vrijednosti hematokrita, hemoglobina i broja krvnih stanica u usporedbi sa 0enkama (Wojtaszek 1991; Duguy 1970; Acuña 1974). Za vrijeme rasplodnog ciklusa spolni hormoni uvelike utje u na pove anje vrijednosti hemoglobina u krvi, dok se broj eritrocita i hematokrit pri tome zna ajno ne mijenjaju (Wojtaszek 1992).

Krvne stanice koje sam prou avala tokom izrade diplomskog rada podijelila sam u nekoliko osnovnih tipova unutar kojih postoji podjela na podtipove. Problem je nastao pri klasifikaciji leukocita uslijed njihove morfolozke razli itosti koja tako er mu i mnoge znanstvenike upravo zbog razli ite klasifikacije ovih stanica zastupljene u dostupnoj literaturi. Npr. u nekim izvorima vrzi se podjela na granulocite koji se zatim dijele u tri skupine stanica a to su eozinofili, azurofili i neutrofilni, dok drugi, recentniji izvori prepoznaju samo dvije skupine - eozinofile i heterofile (Campbell i Ellis, 2007).

Op enito, leukocite mo0emo podijeliti na granulirane i negranulirane. Nadalje, granulociti se klasificiraju u dvije skupine - acidofile i bazofile. Ova podjela vrzi se na temelju reakcije bojenja po Romanowskom. Acidofili se zatim dijele na heterofile i eozinofile (Campbell, 2006). Ove tipove stanica mogu e je razlikovati prema obliku i boji granula koje sadr0e unutar citoplazme. Bazofili, limfociti i monociti gmazova morfolozki su vrlo sli ni onima u ptica i sisavaca. Novija literatura navodi i zesti tip stanica . azurofile, koji se opisuju kao monociti s azurofilnim granulama (Campbell i Ellis, 2007).

Svi tipovi ovih stanica imaju jezgru, no me usobno se mogu razlikovati unutar razli itih skupina gmazova, te tako er postoje prijelazni oblici stanica koji pridonose ote0anoj identifikaciji stanica (Frye, 1991). Smatra se da stanice krvi gmazova imaju tri podrijetla: eritrociti nastaju iz eritroblasta, granulociti, limfociti i trombociti iz mijeloblasta, a monociti iz osnovnih stanica retikuloendotelnog sustava (Frye, 1991; Saint Girons, 1970).

Kod gmazova razlikujemo 17 glavnih tipova krvnih stanica, unutar kojih postoji podjela na podtipove, pa tako imamo pet tipova eritrocita, 10 tipova leukocita s tri podtipa, te dva tipa stanica trombocita.

## 4.2. Eritrociti gmazova

Crvene krvne stanice ili eritrociti ovalne su stanice s okruglom ili jezgrom i jezgrom ovalnom jezgrom smještenom u sredini stanice.

Zreli eritrociti su u pravilu veći i od eritrocita sisavaca, ptica i kožunjača nego manji od eritrocita vešine vodozemaca. Jezgra se boji tamnoljubičasto zbog gustog kromatina. Za razliku od jezgara eritrocita ptica koje imaju glatku membranu ove jezgre često imaju nepravilan i naboran ovoj. Citoplazma je homogena i boji se od blijedo do crvenkasto-žuto (Campbell i Ellis, 2007). Velikina eritrocita gmazova varira između 14 x 8 μm i 23 x 14 μm (duljina x širina) (Campbell, 2006).

Polikromatski eritrociti su mladi oblici eritrocita. Sadrže jezgu i nuklearni kromatin od zrelih eritrocita i citoplazmu koja je u većoj mjeri bazofilna pa se stoga boji ružičasto do plavo-sivo dok se jezgra boji slabije ljubičasto.

Nezreli eritrociti mogu se povremeno pronaći i u perifernoj krvi, osobito u mladim jedinkama ili onih jedinki koje prolaze kroz stadij presvlačenja. Nezreli eritrociti ili eritroblasti su okrugle ili blago ovalne stanice s velikom okruglom jezgrom i bazofilnom citoplazmom. Unutar jezgre nalazi se rijetko strukturiran kromatin koji starenjem stanice postaje gustiji. Eritroblasti se često su manji od zrelih eritrocita zbog svojeg sferičnog oblika a to je zato što još nisu ušli u stadij prijelaza u plosnate ovalne stanice. Povećani broj nezrelih eritrocita može ukazivati na regenerativni odgovor imunološkog sustava gmazova (Campbell i Ellis, 2007).

U krvi gmazova nalazimo i stare eritrocite, koji su u pravilu veći i od zrelih. Citoplazma im je obojena svijetlo žuto i sadrže crvenkasto obojenu jezgru u kojoj se teško razaznaje kromatin. Konačno stanica lizira, a ostatke fagocitiraju fagociti (Frye, 1991; Saint Girons, 1970).

Na krvnim razmazima gmazova u manjoj mjeri mogu se naći i eritrociti bez jezgre, veliki, izduženi ili vidljivo manji eritrociti. Ove deformacije mogu nastati uslijed izvedbe preparata, ali mogu i ukazivati na atipičnu hematopoezu i razne patološke promjene (Frye, 1991; Canfield, 1998). U nekih jedinki javljaju se i inkluzije unutar citoplazme uzrokovane mogućim virusnim infekcijama, parazitima ili predstavljaju artefakte zaostale pri izradi krvnih razmaza. Elektronskom mikroskopijom utvrđeno je da ove inkluzije najčešće su degenerirani stanični organeli (Campbell i Ellis, 2007).

Broj eritrocita poprilično varira unutar razreda gmazova. Zdrave jedinke imaju niže vrijednosti broja eritrocita od sisavaca ili ptica jednake mase. Guzteri imaju manje eritrocite (manji MCV – srednji volumen eritrocita) od ostalih gmazova no prednjače u ukupnom broju eritrocita (TRBC). Zmije imaju manje vrijednosti TRBC od guztera ali veće od kornjaka. S druge strane, kornjaci imaju najveće eritrocite (MCV veći od 500 fL) te se čini da postoji korelacija između broja eritrocita i njihove veličine (Campbell, 2006)

Velikina eritrocita također je pokazatelj evolucijske odvedenosti skupine (Wintrobe 1961). Premosnik (*Sphenodon punctatus*) ima najveće eritrocite, kornjaci i krokodili nešto manje, a najmanje nalazimo u porodici *Lacertidae*.

Najveće eritrocite kod kraljevnjaka nalazimo kod vodozemaca repaza (Saint Girons 1970). Pretpostavlja se da velikina eritrocita ima veze i sa brzinom metabolizma određene skupine (Saint Girons 1970).

U prilog ovoj hipotezi ide usporedba vrijednosti hematokrita, koja je usko povezana sa brojem eritrocita. Tako u ptica, koje imaju brži metabolizam nego gmazovi, vrijednost manja od 35% označava anemiju (Campbell, 1995), dok je to gornja vrijednost normalnog hematokrita gmazova. U nekih vrsta postoje razlike u broju eritrocita među spolovima, pa tako mužjaci većine gmazova imaju više vrijednosti hematoloških parametara od ženki kao u slučajevima bjelouzki (*Natrix natrix*) gdje mužjaci imaju više vrijednosti hematokrita i ukupnog broja eritrocita od ženki. No, postoje i vrste u kojima se javlja suprotna pojava, kao u zelenog legvana (*Iguana iguana*) gdje ženke neovisno o tome jesu li u gravidnom stadiju ili ne, imaju veću koncentraciju hemoglobina u krvi kao i veće vrijednosti hematokrita u usporedbi s mužjacima (Campbell i Ellis, 2007).

### 4.3. Leukociti gmazova

Leukociti gmazova dijele se u dvije skupine, granulirane i negranulirane. Granulirane leukocite čine acidofili i bazofili. Prema ranije spomenutoj problematici vezanoj uz klasifikaciju leukocita u daljnjoj podjeli koristit će se recentnom klasifikacijom acidofila prema kojoj se oni dijele na heterofile i eozinofile. Negranulirani leukociti obuhvaćaju limfocite, monocite te azurofile (Campbell i Ellis, 2007). Uz ove skupine leukocita spomenuti smo i plazma stanice.

#### Heterofili

Heterofili gmazova velike su i okrugle stanice. Dosežu veličinu između 10-23 μm. Slični su eozinofilima, a po biokemijskim značajkama odgovaraju neutrofilima sisavaca (Claver i Quaglia, 2009; Frye, 1991; Saint Girons, 1970). Iako prema mehanizmima pomoću kojih uniztavaju fagocitirane mikroorganizme više odgovaraju heterofilima ptica (Claver i Quaglia, 2009; Campbell i Ellis, 2007). Citoplazma je prozirna i sadrži karakteristične izdužene granule koje se boje crvenonaranasto te ih prema njima razlikujemo od eozinofila (Campbell, 2006). Jezgra je ovalna ili okrugla i ekscentrično postavljena. Neke vrste gužtera (npr. *Iguana iguana*) imaju heterofile koje su jezgre podijeljene u režnjeve. U slučaju toksičnih promjena citoplazma se boji plavo i sadrži abnormalne ljubičasto obojene granule i vakuole (Campbell i Ellis, 2007). Krv gmazova obično sadrži od 30 do 40% ovih stanica (Frye, 1991; Saint Girons, 1970). Ova vrijednost je smanjena za vrijeme hibernacije (Campbell, 2006).

#### Eozinofili

Eozinofili velike gmazova okrugle su i velike stanice (11-17 μm) koje u citoplazmi sadrže okrugle acidofilne granule koje se boje ciglasto crveno ili žutosmeđe (Campbell i Ellis, 2007; Sykes i Klaphake, 2008). Uslijed stresa ove stanice mogu se "degranulirati", tj. granule mogu izgubiti sposobnost vezivanja eozina ili sličiti njih boja. Jezgra eozinofila je ekscentrično smještena i boji se svijetlo plavo. Broj eozinofila raste u slučaju parazitskih zaraza (Frye, 1991; Saint Girons,

1970). Zmije imaju najveće eozinofile među gmazovima iako se ne pojavljuju kod svih vrsta, dok su ove stanice u guztera najmanje (Claver i Quaglia, 2009; Sykes i Klaphake, 2008; Campbell, 2006).

Zanimljivo je da se kod nekih guztera kao npr. zelenog legvana (*Iguana iguana*) granule u citoplazmi boje svijetlo plavo (Sykes i Klaphake, 2008; Campbell i Ellis, 2007). Broj eozinofila u krvi varira i iznosi od 7 do 20% od ukupnog broja leukocita

## **Bazofili**

Bazofilni granulociti su male okrugle stanice veličine 8-15  $\mu\text{m}$ . Unutar citoplazme sadrže velike granule koje su jako kromofilne i boje se tamno plavo ili ljubičasto (Campbell, Ellis, 2007). Jezgra je blago ekscentrično smještena, okrugla ali je teško vidljiva od mnoštva citoplazmatskih granula. Najmanje granulocite imaju guzteri, a najveće krokodili i kornjaci. Bazofili mogu doseći do 40% od ukupnog broja leukocita u krvi nekih gmazova kao što su kornjaci (Campbell, 2006).

## **Limfociti**

Limfociti gmazova slični su onima u ptica i sisavaca. Variraju u veličini od malih (5-10  $\mu\text{m}$ ) do velikih (oko 15  $\mu\text{m}$ ) (Campbell, 2006). Uglavnom su okrugli ili ovalni, jezgra im je velika te zauzima najveći dio citoplazme. Citoplazma je homogena, boji se svijetlo plavo i ne sadrži vakuole niti granule (Campbell i Ellis, 2007). Limfociti su glavni predstavnici leukocita u perifernoj krvi gmazova, na koje u određenim slučajevima otpada i do 80% od ukupnog broja leukocita. Broj limfocita u krvi gmazova varira ovisno o mnogim parametrima. Količina limfocita također ovisi o spolu jedinke. Zabilježeno je da ženke nekih vrsta imaju značajno veće koncentracije limfocita od mužjaka (Campbell, 2006). Također, juvenilne jedinke imaju veći broj ovih stanica od odraslih i starijih jedinki. Primjećeno je da u toku presvlačenja jedinke broj limfocita značajno raste (Frye, 1991; Saint Girons, 1970).

## Monociti

Monociti su najveći leukociti u krvi gmazova i vrlo su slični onima u vizi kraljeznjaka. Variraju od okruglih do ameboidnih, imaju jezgru koja može biti ovalna, okrugla ili bubrežasto razdijeljena te citoplazmu koja se boji plavosivo. Fagocitirane bakterije, vakuole ili fine azurofilne granule mogu biti prisutne u citoplazmi nekih monocita (Campbell i Ellis, 2007). Porast broja monocita uglavnom ukazuje na kroničnu upalu. Broj monocita u krvi gmazova iznosi od 0 do 10% od ukupnog broja leukocita (Campbell, 2006), ali su utvrđene koncentracije i do 20% (Frye, 1991; Saint Girons, 1970).

## Azurofili ili azurofilni monociti

Azurofilima se nazivaju monociti koji unutar citoplazme sadrže azurofilne granule. Prema svojim kemijskim i ultrastrukturnim karakteristikama ne razlikuju se od samih monocita stoga ih se ne bi trebalo klasificirati kao zaseban tip stanica (Campbell, 2006). No, u novije vrijeme sve se više pažnje pridaje proučavanju ovih stanica te neki znanstvenici smatraju kako su azurofili stanice specifične samo za gmazove, jer ih u većem broju nalazimo u perifernoj krvi zmija te u nešto manjem broju kod guztera, kornjaka i krokodila dok ostatak znanstvenika ima drugačije mišljenje te tvrdi kako bi azurofili trebali ostati svrstani u monocite kao i kod vizi kraljeznjaka u kojih se povremeno pojavljuju. Azurofili su stanice nepravilna oblika, esto nešto manje od tipičnog monocita. Jezgra im je također nepravilna ili ovalna, najčešće ekscentrično postavljena. Citoplazma se boji malo tamnije plavo nego u monocita unutar koje se nalaze granule različitih veličina (Campbell i Ellis, 2007).

## Plazma stanice

Plazma stanice ne to su ve e od limfocita, jezgra im je ekscentri no smjeztana, a citoplazma se boji intezivnom plavom bojom izuzev svjetlijeg perinuklearnog dijela koji sadrØi Golgijevo tijelo (Campbell i Ellis, 2007).

One morfolozki podsje aju na plazmocyte sisavaca. U krvi gmazova su malobrojne i doseØu izme u 0,2 i 0,5% od ukupnog broja leukocita (Frye, 1991; Saint Girons, 1970). Pove an broj ovih stanica uz limfocite pripisuje se imunolozkoj reakciji organizma na razli ite infekcije (Campbell, 2006) no to na zada a plazma stanica joz uvijek je predmet diskusija na polju hematologije gmazova.

## 4.4. Trombociti gmazova

Trombociti ili krvne plo ice ve inom su male izduØene ili nepravilne stanice sa centralno smjeztenom jezgrom koja je izrazito kromofilna i boji se tamno plavo ili ljubi asto. Citoplazma se boji svjetloplavo ili je gotovo bezbojna i ne sadrØi granule (Campbell i Ellis, 2007). Aktivni trombociti su uobi ajeni te se pojavljuju kao nakupine stanica u krvotoku. Tezko je odrediti to nu koncentraciju trombocita zbog njihove tendencije da stvaraju nakupine i u *in vitro* uvjetima te pri dodavanju heparina, naj ez eg antikoagulansa u hematolozkim istraØivanjima gmazova (Campbell, 2006). Trombociti imaju razli ite funkcije u krvi gmazova. Igraju glavnu ulogu u mehanizmu zgruzavanja krvi, fagocitiraju ostatke stanica te mogu zamijeniti eritrocite u njihovoj ulozi prijenosa plinova (Frye, 1991; Saint Girons, 1970). Trombocitopenija ozna ava smanjen broj trombocita i javlja se kao rezultat prekomjernog iskoriztavanja trombocita unutar perifernog krvotoka uslijed ozljede ili smanjene proizvodnje samih trombocita (Campbell, Ellis, 2007).

## 5. Materijali i metode

Uzorkovanje sam provela kroz dva sezonska intervala, a to su proljetni i jesenski period tijekom kojih sam životinje prikupljala na dvije lokacije, otoku Cresu te na području Klisa u okolici Splita. Koristila sam odrasle jedinke blavora (*Pseudopus apodus*). Životinje su bile smještene u odgovarajuće kaveze i zadržane 48 sati radi uzimanja morfometrijskih parametara te uzorkovanja krvi. Neposredno prije sakupljanja krvi, jedinke su bile izvagane, te grijane na temperaturi približno 28 stupnjeva Celzijusa kroz dva sata. Kako bi se umanjio rizik od nepotrebnog izlaganja stresu, baratanje životinjom i sakupljanje krvi provedeno je brzo, te je životinja odmah potom bila vraćena u prirodno stanište na toj lokaciji na kojoj je pronađena. Svakoj je pojedinoj lokaciji pridružena i GPS koordinata.

### 5.1. Kemikalije i uzorkovanje krvi

Sakupljeno je po 1 ml krvi od svake odrasle jedinke, izuzev životinja koje su bile u lošem fizičkom stanju, one iz istih razloga nisu bile uzorkovane. Injekcije za uzorkovanje prethodno su isprane heparinom kako bi se spriječilo gruzanje krvi. Prije krvarenja, životinje su izvagane te im je određen spol. Uzorak krvi uziman je iz repne vene (Campbell, 2006; Sykes i Klaphake, 2008) pomoću injekcije od 5ml i 0.45 mm igle. Uzorak se odmah koristio za određivanje broja krvnih stanica, izradu krvnih razmaza, određivanje vrijednosti hematokrita i analizu ostalih krvnih parametara kako bi se izbjeglo gruzanje krvi i morfološke promjene. Krvni preparati sastojali su se od uzoraka hemoglobina, plazme, te tri krvna razmaza po jedinci. Određena je diferencijalna krvna slika (DKS) te su stanice prebrojane pomoću hemocitometra. Krvni razmazi bojani su metodom po Pappenheimu, koristeći May Grünwald. Giemsa tehniku bojenja.



Natt. Herrickova otopina za brojanje krvnih stanica posebno je pripremljena na sljede i na in:

U 1000 ml destilirane vode otopila sam sljede im redom:

3,88 g NaCl

2,50 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

2,91 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> x 12 H<sub>2</sub>O

0,25 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

7,50 ml formalina (37%)

0,10 g metil violet

0,1 ml toluidin modro (1%)

Ovom se otopinom razli ito boje eritrociti i leukociti gmazova i ptica, te se ona koristi umjesto Hayem-ove i Türkove otopine koje se koriste za brojanje eritrocita i leukocita sisavaca.

## 5.2. Određivanje vrijednosti hemoglobina

Hemoglobin kao jednu od hematoloških zna ajki odredila sam spektrofotometrijskom metodom, drže i se protokola za njegovo odre ivanje.

Kemikalije:

Cijanid reagens - 2 x 1000ml

Standard - 2 x 5ml

Sastav reagensa:

0,61 mmol/L K<sub>3</sub>[ Fe (CN)<sub>6</sub> ]

1,03 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

0,77 mmol/L KCN

Radnu otopinu sam pripremila tako što sam 20 ml cijanidnog reagensa razrijedila s 980 ml destilirane vode. Hemoglobin se oksidira kalij-fericijandom u methemoglobin koji s kalij-cijanidom stvara stabilan obojen kompleks cijanmethemoglobin. Methemoglobin je oblik hemoglobina koji u svome sredistu sadrži željezo koje iz  $Fe^{2+}$  prelazi u  $Fe^{3+}$  i nije više u mogućnosti vezati kisik. Vrijednosti hemoglobina određivale sam iz pune krvi, te sam bilježila po 3 apsorbancije za svaku jedinku kako bi krajnji rezultat bio vjerodostojniji.

Formula koju sam koristila u izrazu je:

$$\text{Hemoglobin, g/L} = \frac{A_u}{A_s} \times 150$$

$A_u$  . apsorbancija uzorka

$A_s$  . apsorbancija standarda

Vrijednosti poput srednjeg volumena eritrocita (MCV), srednje količine hemoglobina po eritrocitu (MCH), srednje koncentracije hemoglobina po eritrocitu (MCHC) dobivene su računski prema sljedećim formulama:

$MCV \text{ (fl)} = \text{hematokrit} / \text{broj eritrocita u litri krvi}$

$MCH \text{ (pg)} = \text{količina hemoglobina} / \text{broj eritrocita u litri krvi}$

$MCHC \text{ (g/dl)} = \text{količina hemoglobina} / \text{hematokrit}$

### 5.3. Određivanje vrijednosti hematokrita (PCV)

Koristila sam heparinizirane kapilare koje se nakon što je krv navučena zatvore na jednom kraju te se centrifugiraju na 5000 okretaja/min (StatSpin VT; Iris International INC, Westwood, Massachusetts 02090, USA) potom se vrijednost hematokrita očitava na odgovarajućoj skali.

## 5.4. Određivanje broja krvnih stanica

### Eritrociti

Krv sam navukla u eritrocitni melan0er do oznake 0.5, a zatim sam navukla Natt-Herrickovu otopinu za diferencijalno bojanje eritrocita i leukocita do oznake 101 i time sam razrijedila krv 200 puta. Melan0er s otopinom ostavila sam na rotacijskoj mjezalici oko 3 minute prije brojenja. Zatim sam kapnula kap otopine iz melan0era na Bürker. Türk. ovu komoricu (hemocitometar) i prebrojala eritrocite pod srednjim pove anjem na kvadratnoj mre0ici za brojanje eritrocita u 64 polja. Iz dobivenog broja izra unala sam broj stanica u litri krvi prema formuli:

$$E = \bar{x} \times 800000 \times 10^6$$

E = broj eritrocita / L krvi

$\bar{x}$  = srednji broj eritrocita po kvadrati u

### Leukociti

Krv sam navukla u leukocitni melan0er do oznake 0.5, a zatim sam navukla Natt-Herrickovu otopinu za diferencijalno bojanje eritrocita i leukocita do oznake 101 i time razrijedila krv 20 puta. Uzorak sam tako er stavila mijezati na rotacijsku mijezalicu oko 3 minute. Zatim sam kapnula kap iz melan0era na Bürker. Türk. ovu komoricu (hemocitometar) i prebrojala leukocite pod srednjim pove anjem na kvadratnoj mre0ici za brojanje leukocita u 32 polja. Iz dobivenog broja izra unala sam broj stanica u litri krvi prema formuli:

$$L = \bar{x} \times 5000 \times 10^6$$

L = broj leukocita / L krvi

$\bar{x}$  = srednji broj leukocita po kvadrati u

## Određivanje apsolutnog broja stanica

Apsolutni broj ukupnih stanica izražen je pomoću broja ukupnih stanica dobivenog prebrojavanjem stanica na hemocitometru. Zatim je iz njega izveden apsolutni broj za svaki tip stanica zasebno prema postotku stanica dobivenih iz diferencijalne krvne slike (DKS). Kako bi što vjerodostojnije prikazala rezultate, apsolutni broj eritrocita, leukocita i trombocita, također se računa prema sljedećoj formuli:

Primjer za eritrocite:

$$E = \bar{x} \times \frac{V}{200x} \times 200x$$

$\bar{x}$  - srednji broj eritrocita po komorici

V . volumen komorice (1/250 mm<sup>3</sup>)

200x . razrješenje otopine

## 5.5. Izrada i bojanje krvnog razmaza; određivanje diferencijalne krvne slike (DKS)

Na predmetnice sam kapnula po kap krvi i napravila razmaze pomoću druge predmetnice. Za svaku jedinku izradila sam tri stakalca s krvnim razmazima. Nakon sušenja krvnih razmaza na zraku, preparate sam obojila metodom po Pappenheimu, koristeći May Grünwald. Giemsa tehniku bojenja. Stakalca sam prelijevala May Grünwald bojom koju sam nakon sedam minuta isprala destiliranom vodom i pustila da se ocijede. Zatim sam stakalca prelijevala vodenom otopinom Giemsa (dva dijela destilirane vode i jedan dio Giemsa) koju sam nakon 15 minuta isprala destiliranom vodom i ostavila stakalca sušiti u kosom položaju na stalku. Ovako pripremljene krvne razmaze mikroskopirala sam pod imerzijskim povećanjem.

Na preparatu sam mogla promatrati morfologiju krvnih stanica te odrediti njihove različitosti. Postotni udio tipova eritrocita izračunala sam prebrojavanjem 1000 stanica ovog tipa, dok sam za izračun udjela tipova leukocita prebrojala 200 stanica leukocitnog tipa. Postotni udio i broj trombocita u litri krvi također sam izvela na ovaj način prebrojavanjem trombocita na 200 stanica leukocita, te sam na osnovu dobivenog omjera izračunala potrebne vrijednosti za trombocite.

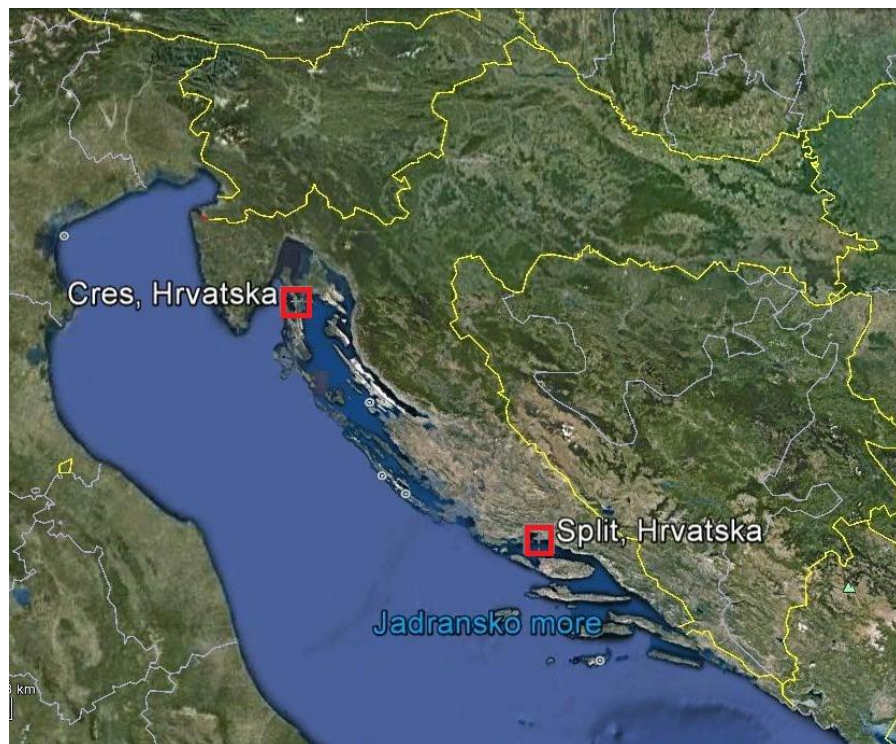
## 5.6. Statistička obrada podataka

Za obradu podataka koristila sam programe Microsoft Office Excel 2007 i STATISTICA 8.0. Prikupljene podatke o broju krvnih stanica i vrijednostima hemoglobina unijela sam u Microsoft Office Excel program te ih svrstala na osnovi žifri jedinki i pripadaju joj lokaciji u tablicu pogodnu za kasniju obradu u programu STATISTICA 8.0. U oba programa izradila sam prikaz standardne deskriptivne statistike, radi naknadne usporedbe rezultata. Rezultate sam grupirala na osnovi spolova i različitih lokacija na kojima su jedinke uzorkovane te sam ih prema tim kategorijama uspoređivala.

Nadalje, u programu STATISTICA 8.0. provela sam neparametrijski Mann-Whitney U test (suma rangova) kako bi odredila postoji li statistički značajna razlika unutar rezultata. Mann-Whitney U test jedan je od najčešće korištenih neparametrijskih testova za dva nezavisna uzorka (Eterović i Kardum, 2010). Također sam koristila i dijagram pravokutnika (eng. Box Whisker plot) kao grafički prikaz distribucije rezultata za svaki pojedini tip krvne stanice i vrijednosti hemoglobina, no u rezultatima su izneseni grafički prikazi za statistički značajne vrijednosti. Fotografije krvnih stanica izradila sam na Zeiss Axiovert 200 inverznom mikroskopu koristeći i fazni kontrast te diferencijalni ili Nomarski interferencijski kontrast (DIC). Stanice su fotografirane pomoću Zeiss MRc digitalne kamere i obrađene pomoću AxioVision 4.8.2. digitalnog sustava (1000x).

## 5.7. Područje terenskog istraživanja

Istraživanje i uzorkovanje blavora u svrhu izrade diplomskog rada provela sam na dvije lokacije (Slika 2). Prva lokacija nalazi se na Sjevernom Jadranu, na otoku Cresu i obuhvaća područje zvano Punta Križa. Druga lokacija pripada južnijem dijelu Jadrana i smještena je u okolini Splita, to nije u podnožju Klisite obuhvaća dio Klizkog polja. Razlog odabira ovih dviju lokacija je mogućnost usporedbe hematoloških značajki dviju različitih populacija u različitim uvjetima okoliša.



**Slika 2.** Prikaz lokacija na karti (preuzeto s [www.googlemaps.com](http://www.googlemaps.com))

## 6. Rezultati

Ukupno su uzorkovane 52 Oivotinje radi odreivanja hematoloških znaajki i diferencijalne krvne slike. Sedam jedinki koje pripadaju jesenskom periodu zbog premalog broja izostavljene su iz istraivanja, te su korišteni samo rezultati za Oivotinje prikupljene na proljeće, njih 45 koje ine 26 muojaka, 11 ženki i osam jedinki nepoznata spola. Na Cresu je ulovljeno 20 jedinki (15 muojaka, četiri ženke i jedna jedinka nepoznatog spola). Na Klisu je ulovljeno 25 Oivotinja (11 muojaka, sedam ženki, sedam jedinki nepoznatog spola).

### 6.1. Tipovi eritrocita

Eritrocite na krvnim razmazima blavora podijelila sam u pet kategorija, odnosno tipova. Normalni razvojni stadiji eritrocita, od eritroblasta do starog eritrocita, opisani su unutar prva četiri tipa, dok posljednji obuhvaća abnormalne stanice i eritrocite s inkluzijama koji najčešće pripadaju patološkim oblicima.

#### Tip E1

##### Eritroblasti

Stanice ovog tipa predstavljaju rani stadij sazrijevanja eritrocita. Eritroblasti su manji od zrelih eritrocita te puno okrugliji. Jezgra im je također izrazito okrugla i zauzima velik dio same stanice u odnosu na citoplazmu. Boji se svjetlije, blago ljubiasto zbog nekondenziranog kromatina, dok se citoplazma boji plaviasto (Slika 5).

## **Tip E2**

### **Polikromatski eritrociti**

Ovaj tip stanica predstavlja mladi oblik eritrocita, to nije krajnji stadij pred sazrijevanje u zrele eritrocite. Polikromatski eritrociti su nešto manjih dimenzija od zrelih eritrocita i vize okrugli. Jezgra je veća nego u zrelih eritrocita, no ipak primjetno manja nego u eritroblastu. Boji se plavo ljubičasto, no svjetlije nego u zrelih eritrocita, zbog kromatina koji još uvijek nije u potpunosti kondenziran. Citoplazma se boji svijetloplavo ili svijetlo ljubičasto (Slika 6).

## **Tip E3**

### **Zreli eritrociti**

Najčešći tip stanica na krvnom razmazu. Obuhvaća iznad 95% svih tipova eritrocita. Jezgra je jasno vidljiva, vrlo bazofilna, unutar koje se nalazi kromatin u obliku zrnaca obojanih tamno ljubičasto. Oblik jezgre može varirati od okrugle do izrazito izdužene. Također se često javljaju i nepravilni rubovi jezgrine membrane, no ove malformacije su najčešće normalna pojava pri bojenju stanica (Frye, 1991; Canfield, 1998). Citoplazma je prozirna ili blago žućkasta, homogena i uglavnom acidofilna (Slika 7).

## **Tip E4**

### **Stari eritrociti**

Stanice ovog tipa pripadaju završnom stadiju eritrocita. Ovaj stupanj karakterizira povećanje obujma citoplazme i dezintegracija kromatina. Citoplazma i jezgra starih eritrocita veće su u odnosu na polikromatske i zrele eritrocite. Citoplazma se boji svijetlo žuto zbog postupnog gubitka hemoglobina, a jezgra je obojena svijetlo žuto ili crvenkasto s rijetkim zrnima kromatina koja se lagano gube (Slika 8. i 9.).



## Tip E5

### Abnormalni eritrociti i eritrociti s inkluzijama

Eritrociti ove skupine esto ukazuju na neka patološka stanja, pa tako razlikujemo vrlo male eritrocite (mikrocite) koji su vidljivo manjih dimenzija od normalnih odraslih eritrocita iako se jednako boje. Jezgra im je najez e nepravilna, a same stanice su ovalne ili okrugle. Zatim se pojavljuju veliki eritrociti (makrociti) ija je jezgra neznatno veća od normalne (Frye, 1991), eritrociti bez jezgre (eritroplastidi) te eritrociti s inkluzijama koje mogu biti različitog porijekla, npr. artefakti zaostali tijekom bojenja, viralne estice ili hemoparaziti (Sykes i Klaphake, 2008). (Slike 10., 11., 12.)

## 6.2. Tipovi leukocita

Na krvnim razmazima blavora razlikuje se osam tipova leukocita te pet njihovih podtipova.

### Tip L1

#### Limfociti

Limfociti su stanice koje se pojavljuju u dimenzijama od vrlo malih, površine  $46,21 \text{ m}^2$  do velikih, površine  $124,48 \text{ m}^2$ . Stanice su nepravilne, najez e okruglaste, esto s manjim ili većim izdancima citoplazme, pseudopodijima. Citoplazma se boji plavo do svijetloplavo. Najveći dio stanice zauzima vrlo velika jezgra, koja se boji crvenkasto do ljubičasto sa slabo vidljivim neznatno tamnijim kromatinom (Slika 14.).

## **Tip L2**

### **Monociti**

Stanice ovog tipa velike su, nepravilnog ili gotovo okruglog oblika. Jezgra je ekscentrično postavljena i najveće je velika i bubregasta. Citoplazma je bazofilna te se boji plavo do tamnoplavo i sadrži brojne sitne granule koje su u azurofilnih monocita ljubičasto obojene. Jezgra je obojena crvenkasto do ljubičasto i unutar nje se lako zamjećuju zrnca tamnije obojenog kromatina (Slika 15.).

## **Tip L3**

### **Azurofili**

Ovo su stanice koje bi prema određenim, ranije navedenim karakteristikama mogli prepoznavati kao podtip monocita, no društvo i se novijih saznanja ipak sam ih odlučilo opisati kao zaseban tip leukocita. Azurofili se prema dimenzijama ne razlikuju mnogo od monocita, kao ni prema obliku i smjeztaju jezgre unutar stanice. Tipičan primjer normalne stanice azurofila odlikuje se nešto tamnije obojenom citoplazmom od monocita unutar koje su jasno vidljive crvenkasto do ljubičasto obojene granule (Slika 16.).

### **Podtip L3A1**

#### **Azurofili s vakuolama**

Azurofili ovog podtipa javljaju se u malom postotku, do 3% ukupnih leukocita unutar prikupljenih podataka te nisu pokazatelji abnormalnog stanja. Vakuolizacija u stanici može biti prisutna uz pseudopodije na vanjskoj ovojnici stanice i fagocitirani materijal unutar citoplazme (Campbell i Ellis, 2007).

## **Podtip L3A2**

### **Azurofili s 2 jezgre**

Podtip azurofila koji je izdvojen zbog mogu ih naznaka patološkog stanja. Do segregacije jezgre došlo je uslijed stanjivanja mosta između reonjeva bubrežaste jezgre (Slika 17.). Prema ostalim karakteristikama se ne razlikuju od osnovnog tipa azurofila (L3).

## **Tip L4**

### **Heterofili s 1 jezgrom (granulirani)**

Ovo su velike, okrugle stanice s fino granuliranom citoplazmom koja je najez i prozirna ili blagorubiasto obojena (Slika 18.). Granule ovog tipa stanice su mnogobrojne te crvenoljubiasto obojene. Jezgra je smjeztana ekscentrično i boji se tamnoljubiasto zbog gusto formiranog kromatina.

## **Tip L5**

### **Heterofili s 1 jezgrom (degranulirani)**

Ovom tipu pripadaju stanice s vrlo malo obojenih granula ili gotovo degranulirane (Slika 19.). Prema ostalim karakteristikama ovi heterofili se ne razlikuju od prethodno opisanih granuliranih heterofila (L4). Povremeno se pojavljuju u perifernoj krvi zdravih gmazova (Campbell i Ellis, 2007). U rijetkim slučajevima mogu biti posljedica neadekvatnog rukovanja preparatom ili upućivati na toksične promjene u krvi (Campbell, 2006).

## **Podtip L4H1**

### **Heterofili s 2 jezgre**

Pojava heterofila s dvije jezgre ili jednom jezgrom podijeljenom u reonjeve kod vrsta u kojih to ina e nije zabiljeeno naj ez e je pokazatelj teške upale (Campbell, 2006) dok je kod vrste *Iguana iguana* kao zto je ranije spomenuto, to normalna pojava (Campbell i Ellis, 2007).

## **Tip L6**

### **Eozinofili (granulirani)**

Ovom tipu pripadaju velike, okruglaste stanice koje su lako prepoznatljive prema svojim karakteristikim, velikim, acidofilnim granulama koje se boje crvenkasto ili sme e i ispunjavaju cijeli prostor oko jezgre. Jezgra je ekscentri no postavljena te zauzima relativno mali udio u odnosu na citoplazmu. Boji se svijetloplavo ili u nekim slu ajevima obojenje potpuno izostane pa jezgra ostaje snevidljiva%atj. prozirna (Slika 20.).

## **Tip L7**

### **Eozinofili (degranulirani)**

Stanice ovog tipa degranulirani su oblik eozinofila. Prema veli ini, obliku i smjeztaju jezgre ove stanice se gotovo ne razlikuju od prethodno navedenih. Jedinu razliku nalazimo u afinitetu za obojenjem. Naime, jezgre ovih stanica boje se tamnoljubi asto dok citoplazma i granule ne primaju boju i ostaju sprazne%zto daje dojam snegativa%granuliranih eozinofila (Slika 21.).

## **Tip L8**

### **Bazofili (granulirani)**

Bazofili su relativno male okruglaste stanice i svojom strukturom podsjećaju na stadij smorule u embrionalnom razvoju organizama. Njihove granule boje se tamnoljubiasto do tamnoplavo i najčešće potpuno zasjenjuju jezgru koja je centralno postavljena. Jezgra je nepravilnog oblika i također se boji tamnoljubiasto (Slika 22.).

## **Tip L9**

### **Bazofili (degranulirani)**

Ovaj tip stanice pojavljuje se u vrlo malom postotku (manje od 2%) u mojim krvnim preparatima. Karakterizira ga gubitak granula što potom često stvara poteškoće pri determinaciji samih stanica. Pojava degranulacije bazofila ne povezuje se s patološkim stanjem te se može javiti u slučaju neadekvatnog bojenja krvnih preparata (Campbell, 2006).

## **Tip L10**

### **Plazma stanice**

Plazma stanice su prema svojoj strukturi najslabije monocitima i azurofilima. Razlikuju se prema svojoj citoplazmi koja sadrži svijetliji, okrugli, perinuklearni dio koji zauzima Golgijevo tijelo. Većina ovih stanica u citoplazmi također ima i manji broj acidofilnih crvenih granula (Slika 23.).

## **6.3. Tipovi trombocita**

### **Tip T1**

#### **Trombociti (papučasti)**

Ovaj tip stanica karakterizira ovalan i izdužen oblik. Jezgra je također ovalna, smještena je u sredini stanice i boji se tamnoljubiasto. Citoplazma se boji svijetloljubiasto a ponekad može biti i potpuno bezbojna (Slika 24.).

### **Tip T2**

#### **Trombociti (okrugli)**

Trombociti ovog tipa okruglaste su stanice tipične nepravilne površine. Jezgra je centralno smještena i zauzima najveći dio same stanice. Boji se nešto tamnije nego u prethodno opisanog tipa T1 (Slika 25.). Ovaj oblik trombocita smatra se aktivnim i često dolazi u nakupinama ili klasterima (Campbell i Ellis, 2007).

## 6.4. Brojnost i udjeli krvnih stanica u blavora

Podaci o broju i udjelu svakog opisanog tipa krvnih stanica dani su u tablicama 1. do 8. kao i rezultati vezani za vrijednosti hemoglobina.

Podaci su podijeljeni u dva poglavlja. U prvom poglavlju prikazane su tablice s podacima uspore enim na osnovi spola dok se u drugom poglavlju nalaze podaci uspore eni prema lokacijama na kojima su jedinke prikupljene. Tablice sadr0avaju rezultate standardne deskriptivne statistike i Mann. Whitney-evog testa.

Deskriptivnu statistiku koristila sam kako bih prikazala broj jedinki unutar odre ene grupe, medijan (centralnu vrijednost), standardnu devijaciju, te raspon rezultata kroz minimalnu i maksimalnu vrijednost. Statisti ki zna ajni rezultati ozna eni su crvenom bojom.

Nadalje, analizom putem Mann. Whitney-jevog testa odredila sam u kojoj su mjeri podaci za odre ene krvne parametre statisti ki zna ajni, tj. postoji li zna ajna razlika unutar rezultata na osnovi usporedbe prema spolu i lokaciji. Mann-Whitney U test nije osjetljiv na oblik distribucije i jednakost varijanci promatranih varijabli, te slu0i kao alternativa t- testu za nezavisne uzorke. Mann-Whitney U test za izra unavanje potrebnih statisti kih vrijednosti koristi rangove kao osnovne parametre pa se joz naziva i test sume rangova (Eterovi i Kardum, 2010).

## 6.5. Analiza uzoraka krvi jedinki jesenske sezone

Rezultati dobiveni za sedam jedinki jesenske sezone pokazali su ni0e vrijednosti nezrelih eritrocita osobito onih polikromatskog tipa, te o ekivano vize vrijednosti starih eritrocita nego jedinke uzorkovane na prolje e. Hematokrit i MCV im je bio sni0en kao i udio monocita i heterofila, dok su limfociti bili ak etverostruko ni0ih vrijednosti od onih u jedinki proljetne sezone. Zanimljivo je da su stanice granuliranih eozinofila prona ene kod svih sedam jedinki i to u relativno visokim koncentracijama za razliku od istih vrijednosti jedinki proljetne sezone, kod kojih su granulirani i degranulirani eozinofili podjednako zastupljeni u samo 10 jedinki od njih 45.

Vrijednost TT ili ukupni broj trombocita niži je za jesensku sezonu. Udio papu astih trombocita je gotovo dvostruko niži nego u proljeće te sukladno tome, udio okruglog tipa trombocita dolazi u dvostruko višim koncentracijama u krvi blavora uzorkovanih na jesen.

## 6.6. Analiza uzoraka krvi u ovisnosti o spolu

U tablici 1. dani su rezultati za krvne parametre mušjaka i ženki uzorkovanih na dvjema ranije navedenim lokacijama. Uobičajena je pojava da mušjaci imaju više vrijednosti koncentracija i udjela eritrocita (Campbell i Ellis, 2007), no u slučaju blavora ne vidimo jasan uzorak koji bi potkrijepio ove tvrdnje. Naime, mušjaci blavora imaju nešto više udjele zrelih i starih eritrocita, dok ženke pokazuju više udjele polikromatskih eritrocita i eritroblasta, tj. mladih i nezrelih eritrocitnih tipova no razlike u ovim vrijednostima nisu statistički značajne.

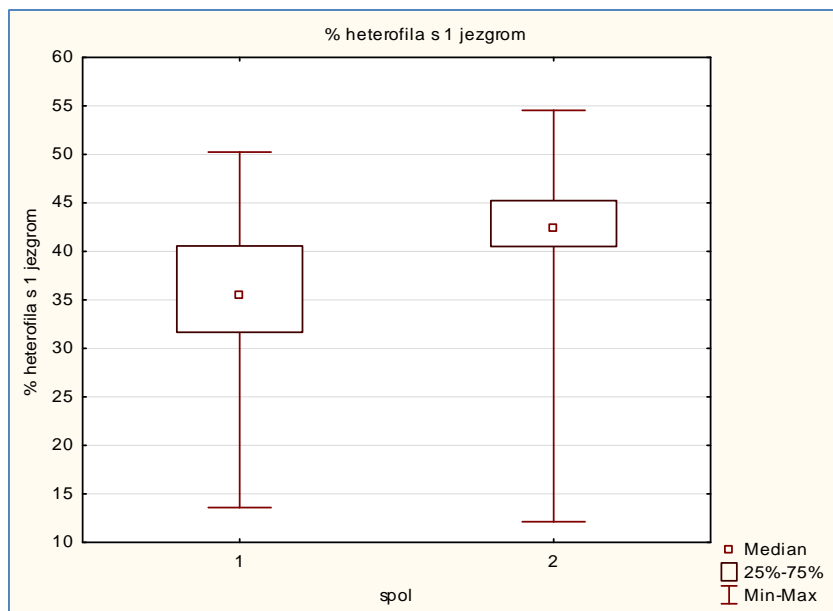
Tablica 2. sadrži rezultate za vrijednosti hemoglobina, PCV; MCV; MCH; MCHC koji također ne pokazuju statističku značajnost. Za većinu parametara vrijedi prethodno pravilo i mušjaci imaju nešto više vrijednosti od ženki, kao i same raspone vrijednosti za te parametre, no MCHC je ipak viši u ženki u odnosu na mušjake.

U tablici 3. prikazani su rezultati tipova leukocita, TWBC i TT. Mušjaci imaju nešto viši TWBC koji doseže najveću vrijednost od  $83 \times 10^9$  /L. Najveća i najmanje vrijednosti u ovom slučaju nisu nužno dobar pokazatelj jer često zbog greške u mjerenju može doći do krivih zaključaka zbog previsokih ili nerealno niskih vrijednosti, pa se stoga u statistici radije oslanjamo na srednju vrijednost (medijan) kao preciznijeg pokazatelja.

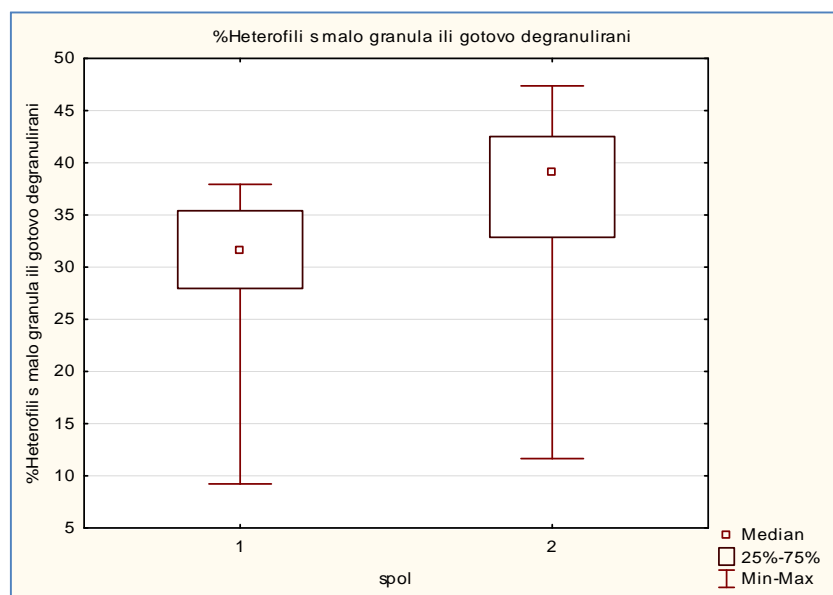
Ženke imaju viši TT, no udio većine tipova leukocita je ipak nešto manji nego u mušjaka izuzev udjela i koncentracije heterofila (s jednom jezgrom) koji su u ženki značajno viši (Slika 3.) te prema tablici 4. koja prikazuje rezultate vezane za ostale tipove i podtipove leukocita najvećim dijelom pripadaju tipu gotovo degranuliranog heterofila (Slika 4.).



Mušjaci pokazuju ve e vrijednosti za trombocite tipa T1 (papu asti oblik) te sukladno tome manje vrijednosti za okrugli tip T2, dok je u ženki situacija obrnuta. Mušjaci tako er imaju neznatno više vrijednosti za jako granulirane heterofile kao što je prikazano u tablici 4. Slijedi Box. Whisker prikaz statističkih rezultata.



**Slika 3.** Udio heterofila (s jednom jezgrom) u ukupnom udjelu leukocita u krvi, kod mušjaka (1) i ženki (2) vrste *P. apodus*



**Slika 4.** Udio heterofila s malo ili bez granula u ukupnom udjelu leukocita u krvi, kod mušjaka (1) i ženki (2) vrste *P. apodus*

**Tablica 1.** Vrijednosti TRBC i brojnost tipova eritrocita za odrasle jedinke *P.apodus* (usporedba prema spolu)

( postotak eritrocita izražen u odnosu na ukupan broj krvnih stanica)

Vrijednosti	Mužjaci				ženke				Mann-Whitney U test	Z vrijednost	p vrijednost
	n	Medijan	Min	Max	n	Medijan	Min	Max	U vrijednost		
Eritrociti (%)	26	95,27	90,19	97,23	11	94,99	93,85	96,78	120	0,7476	0,460453
TRBC (x 10 <sup>11</sup> / L)	25	13,3	6,59	20	11	13,9	3,41	18,7	118	-0,6525	0,519797
Zreli eritrociti (%)	26	96,55	91,83	99,72	11	95,77	93,08	97,99	120	0,7476	0,460453
Zreli eritrociti (x 10 <sup>11</sup> / L)	25	12,8	6,57	19,2	11	13,3	3,32	17,7	118	-0,6525	0,519797
Nezreli er. (polikrom.+eritroblast) %	26	2,86	0	7,16	11	3,48	1,44	5,84	121	-0,7144	0,480733
Nezreli er. (polikrom.+eritroblast) (x 10 <sup>9</sup> / L)	25	38,8	0	82	11	53,6	7,84	89,1	100	-1,2706	0,207249
Polikromatski eritrociti (%)	26	2,86	0	7,16	11	3,48	1,44	5,31	121	-0,7144	0,480733
Polikromatski er. (x 10 <sup>9</sup> / L)	25	38,8	0	82	11	52,3	7,84	88,3	108	-0,9959	0,324489
Eritroblasti (%)	26	0	0	0,27	11	0	0	0,6	121,5	-0,6978	0,480733
Eritroblasti (x 10 <sup>9</sup> / L)	25	0	0	2,81	11	0	0	8,1	119	-0,6181	0,542095
Stari eritrociti (%)	26	0,37	0	1,88	11	0,29	0	1,38	129	0,4486	0,658441
Stari eritrociti (x 10 <sup>9</sup> / L)	25	4,27	0	30,7	11	2,73	0	20,6	127	0,3434	0,73518
Ostali tipovi eritrocita (inkluzije, abnormalnosti) %	26	0,04	0	0,39	11	0,17	0	0,67	101	-1,379	0,170419
Ostali tipovi eritrocita (inkluzije, abnorm.) (x 10 <sup>9</sup> / L)	25	0	0	4,88	11	1,9	0	8,2	100	-1,2706	0,207249

**Tablica 2.** Vrijednosti hemoglobina, hematokrita i volumena eritrocita za odrasle jedinke *P.apodus*

Vrijednosti	Mužjaci				Ženke				Mann-Whitney U test		
	n	Medijan	Min	Max	n	Medijan	Min	Max	U vrijednost	Z vrijednost	p vrijednost
Hemoglobin (g/L)	23	93,8	71,36	115,46	10	92,63	63,53	109,98	105	0,3721	0,714346
PCV(%)	25	34	26	38	11	32,5	23	37	86,5	1,7342	0,079759
MCV(fL)	25	248,34	167,64	513,49	11	210,28	180,51	659,65	84	1,8201	0,068259
MCH(pg)	23	68,22	46,25	142,91	10	68,75	47,86	241,7	98	0,6463	0,524316
MCHC(g/dL)	23	278,32	234,46	347,9	10	294,21	240,2	366,41	87	-1,0773	0,286596

**Tablica 3.** Vrijednosti TWBC, TT i brojnost osnovnih tipova leukocita za odrasle jedinke *P.apodus*

( postotak leukocita izražen u odnosu na ukupan broj krvnih stanica)

Vrijednosti	Mužjaci				Ženke				Mann-Whitney U test	U vrijednost	Z vrijednost	p vrijednost
	n	Medijan	Min	Max	n	Medijan	Min	Max				
Leukociti (%)	26	1,69	0,88	6,54	11	1,38	0,74	2,25	100	1,4122	0,160146	
TWBC (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	20,9	6,02	83	11	19,4	5,88	39,7	102	1,2019	0,233289	
Trombociti (%)	26	2,96	1,52	5,31	11	3,49	1,93	4,88	98	-1,4787	0,140972	
TT (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	40,6	15,5	74,5	11	43,4	12,7	76,4	101	-1,2363	0,220002	
Limfociti (%)	26	8,96	2,31	68,81	11	8,02	6,22	19,81	132	0,3489	0,731077	
Limfociti (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	1,81	0,26	30,2	11	1,73	0,62	4,48	114	0,7899	0,43542	
Monociti (%)	26	6,41	0	14,86	11	5,82	0,97	14,28	138,5	-0,1329	0,882955	
Monociti (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	1,36	0	4,41	11	1,33	0,12	1,96	116	0,7212	0,476618	
Azurofili (%)	26	32,77	6,88	52,49	11	31,94	14,01	43,69	124	0,6147	0,544296	
Azurofili (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	6,91	1,67	28,3	11	5,2	1,65	14,2	111	0,8929	0,377525	
Heterofili s 1 jezgrom (%)	26	35,58	13,59	50,24	11	42,51	12,13	54,54	75	<b>-2,2429</b>	<b>0,023261</b>	
Heterofili s 1 jezgrom (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	7,78	3,03	24,4	11	7,84	2,66	17,1	125	0,4121	0,684745	
Heterofili s 2 jezgre (%)	26	1,17	0	8,37	11	1,46	0	10,38	131	-0,3821	0,706567	
Heterofili s 2 jezgre (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	0,22	0	2,05	11	0,21	0	2,01	126	-0,3777	0,709809	
Eozinofili (%)	26	0	0	24,5	11	0	0	19,9	142	-0,0166	0,98695	
Eozinofili (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	0	0	5,11	11	0	0	4,73	135	0,0687	0,946096	
Bazofili (%)	26	6,68	1,8	17,87	11	6,7	1,9	12,68	139	0,1163	0,908839	
Bazofili (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	1,68	0,37	5,2	11	1,55	0,11	2,85	121	0,5495	0,588033	
Plazma stanice (%)	26	0	0	2	11	0	0	0,97	134	0,2824	0,780882	
Plazma stanice (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	0	0	0,44	11	0	0	0,16	127,5	0,3262	0,73518	

**Tablica 4.** Omjer trombocita i leukocita, brojnost trombocita, podtipova i ostalih tipova leukocita za odrasle jedinke *P.apodus*

Vrijednosti	Mužjaci				ženke				Mann-Whitney U test	Z vrijednost	p vrijednost
	n	Medijan	Min	Max	n	Medijan	Min	Max			
Trombociti :leukociti	26	1,46	0,7	2,23	11	1,61	1,13	2,24	115	-0,9138	0,366321
Trombociti papu asti (%)	26	59,59	1,44	98,64	11	43,96	2,57	98,15	108	1,14639	0,255901
Trombociti papu asti (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	21,7	0,22	61,3	11	21	0,92	74	119	0,6182	0,542095
Trombociti okrugli (%)	26	40,41	1,36	98,55	11	56,03	1,85	97,43	108	-1,1464	0,255901
Trombociti okrugli (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	15,2	0,75	26,6	11	24,2	1,37	42,4	92	-1,5454	0,12351
Limfociti veliki (%)	26	6,77	1,85	42,72	11	6,13	3,35	12,08	139	0,1163	0,908839
Limfociti veliki (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	1,44	0,21	19,5	11	1,19	0,51	2,85	109	0,9616	0,34162
Limfociti mali (%)	26	1,99	0	29,36	11	1,85	0,49	7,73	134	0,2824	0,780882
Limfociti mali (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	0,44	0	12,9	11	0,35	0,06	1,63	119	0,6181	0,542095
Azurofili normalni (%)	26	31,72	6,88	51,13	11	29,63	13,04	43,2	124	0,6147	0,544296
Azurofili normalni (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	6,77	1,59	27,1	11	5,2	1,57	13,8	113	0,8242	0,415592
Azurofili s 2 jezgre (%)	26	0,49	0	4,35	11	0,96	0	3,41	128	-0,4818	0,634869
Azurofili s 2 jezgre (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	0,15	0	1,18	11	0,23	0	0,57	132	-0,1717	0,86576
Azurofili s vakuolama (%)	26	0,23	0	3,15	11	0	0	0,95	122,5	0,6646	0,501476
Azurofili s vakuolama (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	0,03	0	0,65	11	0	0	0,11	107	1,0303	0,30791
Heterofili -jako granulirani (%)	26	3,74	0	17,33	11	2,45	0	12,38	131,5	0,3655	0,706567
Heterofili - jako granulirani (x 10 <sup>9</sup> /L)	25	0,87	0	2	11	0,58	0	2,26	105,5	1,0817	0,276411

Nastavak tablice 4. Brojnost podtipova i ostalih tipova leukocita za odrasle jedinke *P.apodus*

Vrijednosti	Mušjaci				ženke				Mann-Whitney U test	Z vrijednost	p vrijednost
	n	Medijan	Min	Max	n	Medijan	Min	Max			
Heterofili s malo granula ili potpuno degranulirani (%)	26	31,67	9,22	37,93	11	39,15	11,65	47,37	55	<b>-2,9075</b>	<b>0,002641</b>
Heterofili s malo granula ili potpuno degranulirani ( $\times 10^9$ /L)	25	7,16	2	23,2	11	6,92	1,93	15,1	132	0,1717	0,86576
Eozinofili granulirani (%)	26	0	0	18	11	0	0	2,91	135,5	-0,2326	0,806129
Eozinofili granulirani ( $\times 10^9$ /L)	25	0	0	5,11	11	0	0	0,69	131	-0,2061	0,839237
Eozinofili degranulirani (%)	26	0	0	6,5	11	0	0	16,99	139,5	-0,0997	0,908839
Eozinofili degranulirani ( $\times 10^9$ /L)	25	0	0	1,42	11	0	0	4,04	137	0	1
Bazofili granulirani (%)	26	6,4	1,8	17,08	11	6,22	1,9	12,56	138	0,1495	0,882955
Bazofili granulirani ( $\times 10^9$ /L)	25	1,59	0,37	4,78	11	1,55	0,11	2,65	120	0,5838	0,564846
Bazofili degranulirani (%)	26	0	0	1,91	11	0	0	1,46	135	-0,2492	0,806129
Bazofili degranulirani ( $\times 10^9$ /L)	25	0	0	0,44	11	0	0	0,3	130	-0,2404	0,812891

## 6.7. Analiza uzoraka krvi u ovisnosti o lokaciji

Jedinke blavora uzorkovane na lokaciji 1 (otok Cres) pripadaju toj populaciji sjevernog Jadrana, dok su jedinke lokacije 2 (Klis) predstavnici kontinentalnog područja južnog Jadrana. Prema tome, željela sam istražiti postoji li statistički značajna razlika između u dviju navedenih lokacija, tj. imaju li jedinke blavora koje obitavaju na različitim područjima također i različite vrijednosti hematoloških parametara. Suprotno od rezultata usporedbe na temelju spola, rezultati temeljeni na različitim lokacijama uzorkovanja pokazali su veću raznolikost i statističku značajnost. Pa tako populacija s Klisa prema rezultatima iz tablice 5. ima veći udio zrelih eritrocita dok blavori s Cresa pokazuju veće vrijednosti polikromatskih, odnosno nezrelih eritrocita. Zanimljivo je da je i koncentracija starih eritrocita viša kod jedinki otočne populacije, a vrijednosti ostalih tipova eritrocita (abnormalnih eritrocita i eritrocita s inkluzijama) više su među jedinkama s Klisa.

Jedinke populacije Klis imaju i veće koncentracije hemoglobina, te vrijednosti MCH i MCHC, dok im je hematokrit (PCV) nešto niži od jedinki s Cresa, ali ta razlika nije statistički značajna (tablica 6.).

Nadalje, stanice monocita pojavljuju se u većem broju u krvi blavora koji žive na području Klisa nego onih na Cresu. No ovo nije slučaj i za azurofile, koji su u klizkoj populaciji manje zastupljeni nego u populaciji Cresa (tablica 7.).

Trombociti papuastog oblika (T1) na Cresu se nalaze u dvostruko većem udjelu nego na Klisu. Ekvivalentno tome, okruglasti trombociti (T2) dolaze u dvostruko manjem udjelu u odnosu na Klis (tablica 8.)

Jedinke na Cresu imaju veće koncentracije azurofila, te značajno manje koncentracije jako granuliranih heterofila od onih na Klisu. Također su na otoku Cresu pri uzorkovanju u nekoliko jedinki zabilježene stanice degranuliranih eozinofila iako to iz srednjih vrijednosti nije vidljivo, dok među jedinkama s Klisa nije zabilježen ovaj tip stanica.

**Tablica 5.** Vrijednosti TRBC i brojnost tipova eritrocita za odrasle jedinke *P.apodus* (usporedba prema lokaciji)

( crveno su ozna eni statisti ki zna ajni rezultati)

Vrijednosti	Cres				Klis				Mann-Whitney U test		
	n	Medijan	Min	Max	n	Medijan	Min	Max	U vrijednost	Z vrijednost	p vrijednost
Eritrociti (%)	20	95,16	90,19	97,08	25	95,17	91,14	97,23	219	-0,6967	0,489794707
TRBC (x 10 <sup>11</sup> / L)	19	13,8	10,5	19,8	25	11,8	2,37	18,8	173	1,5164	0,130394008
Zreli eritrociti (%)	20	95,14	89,71	97,38	25	96,98	92,82	99,72	89	<b>-3,6661</b>	<b>0,000129985</b>
Zreli eritrociti (x 10 <sup>11</sup> / L)	19	13,5	9,75	19,2	25	11,5	2,3	18,2	180	1,3505	0,17868565
Nezreli eritrociti (polikrom.+eritroblast) %	20	4,18	2,48	9,6	25	2,53	0	7,0	101,5	<b>3,3805</b>	<b>0,000450085</b>
Nezreli er. (polikrom.+eritroblast) (x 10 <sup>9</sup> / L)	19	55,9	27,2	105	25	18,3	0	105	80	<b>3,7199</b>	<b>9,74073E-05</b>
Polikromatski eritrociti (%)	20	4,14	2,43	9,52	25	2,43	0	7,01	99	<b>3,4377</b>	<b>0,000369319</b>
Polikromatski eritrociti (x 10 <sup>9</sup> / L)	19	54,3	27,2	105	25	18,2	0	105	87	<b>3,5541</b>	<b>0,000214767</b>
Eritroblasti (%)	20	0	0	0,6	25	0	0	0,1	192,5	1,3019	0,191031235
Eritroblasti (x 10 <sup>9</sup> / L)	19	0	0	8,1	25	0	0	1,58	162	1,7770	0,075389414
Stari eritrociti (%)	20	0,58	0	1,88	25	0,18	0	1,32	120	<b>2,9579</b>	<b>0,002495928</b>
Stari eritrociti (x 10 <sup>9</sup> / L)	19	6,97	0	30,7	25	2,03	0	15,6	121	<b>2,7485</b>	<b>0,005145885</b>
Ostali tipovi eritrocita (inkluzije, abnormalnosti) %	20	0	0	0,26	25	0,18	0	0,67	107	<b>-3,2549</b>	<b>0,000797894</b>
Ostali tipovi eritrocita (inkluzije, abnorm.) (x 10 <sup>9</sup> / L)	19	0	0	4,41	25	1,69	0	8,2	130	<b>-2,5352</b>	<b>0,010203397</b>



**Tablica 6.** Vrijednosti hemoglobina, hematokrita i volumena eritrocita za odrasle jedinke *P.apodus* (usporedba prema lokaciji)

Vrijednosti	Cres			Klis			Mann-Whitney U test				
	n	Medijan	Min	Max	n	Medijan	Min	Max	U vrijednost	Z vrijednost	p vrijednost
Hemoglobin g/L	16	87,67	63,53	106,19	25	96,93	60,66	115,46	97	<b>-2,7394</b>	<b>0,005198989</b>
PCV(%)	19	34	23	38	25	32,5	23,5	36,5	165	1,7059	0,08811807
MCV(fL)	19	236,01	167,64	343,50	23	233,26	165,16	659,65	196	-0,9714	0,33488976
MCH(pg)	16	60,59	46,25	86,33	25	77,01	41,75	395,04	96	<b>-2,7661</b>	<b>0,004747751</b>
MCHC(g/dL)	16	256,51	234,46	303,42	25	301,33	252,77	366,4	33	<b>-4,4499</b>	<b>9,79322E-07</b>

**Tablica 7.** Vrijednosti TWBC, TT i brojnost osnovnih tipova leukocita za odrasle jedinke *P.apodus*

Vrijednosti	Cres				Klis				Mann-Whitney U test		
	n	Medijan	Min	Max	n	Medijan	Min	Max	U vrijednost	Z vrijednost	p vrijednost
Leukociti (%)	20	1,67	0,9	6,54	25	1,75	0,74	4,06	244	-0,1256	0,901041968
TWBC (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	23,8	12,4	83	25	19,9	4,6	45,7	190	1,1136	0,26847416
Trombociti (%)	20	3,02	1,55	4,93	25	3,19	1,52	5,31	236	0,3084	0,760144056
TT (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	44	16,7	76,4	25	37,5	8,52	72,1	158	1,8718	0,060748404
Limfociti (%)	20	10,02	2,31	32,23	25	8,87	4,03	68,81	220	-0,6738	0,504183853
Limfociti (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	2,12	0,522	26,7	25	1,77	0,19	30,2	225	0,2843	0,778408629
Monociti (%)	20	5,62	0	13,89	25	7,69	1,83	19,05	139	<b>-2,524</b>	<b>0,010595304</b>
Monociti (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	1,39	0	4,41	25	1,38	0,29	7,63	208	-0,6871	0,495900866
Azurofili (%)	20	35,52	14,01	52,49	25	31,36	6,88	38,23	127	<b>2,7981</b>	<b>0,004376393</b>
Azurofili (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	9,3	1,73	28,3	25	6,45	1,56	13	122	2,7248	0,005568714
Heterofili s 1 jezgrom (%)	20	36,66	12,13	49,5	25	40,57	13,59	54,54	197	-1,1992	0,233004288
Heterofili s 1 jezgrom (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	8,85	2,89	24,4	25	7,82	2	17,1	188	1,161	0,248454538
Heterofili s 2 jezgre (%)	20	0,9	0	5,79	25	1,36	0	10,38	190,5	-1,3476	0,175868452
Heterofili s 2 jezgre (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	0,15	0	1,57	25	0,2	0	2,05	191	-1,0899	0,278879662
Eozinofili (%)	20	0	0	24,5	25	0	0	11,16	168	1,8616	0,062222993
Eozinofili (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	0	0	4,73	25	0	0	5,11	156,5	1,9074	0,054343531
Bazofili (%)	20	6,2	2,5	17,08	25	6,22	1,8	17,87	218	0,7195	0,475624983
Bazofili (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	1,74	0,52	4,42	25	1,38	0,11	5,2	179	1,3742	0,171086064
Plazma stanice (%)	20	0	0	2	25	0	0	1,46	229	0,4682	0,642802977
Plazma stanice (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	0	0	0,39	25	0	0	0,44	210	0,6397	0,526176673

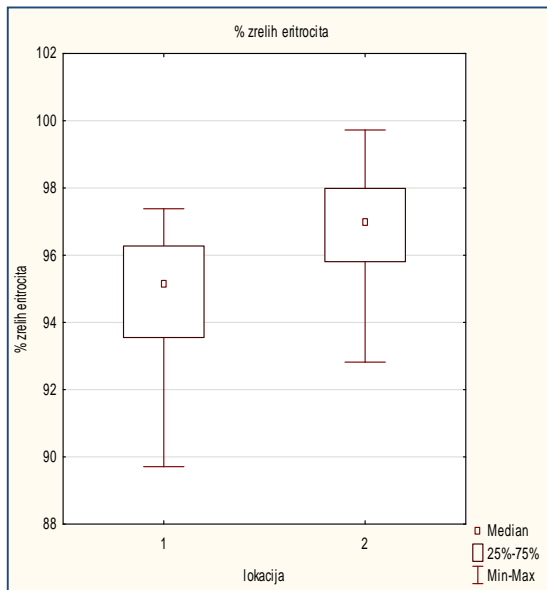
**Tablica 8.** Omjer trombocita i leukocita, brojnost trombocita, podtipova i ostalih tipova leukocita za odrasle jedinke *P.apodus*

Vrijednosti	Cres				Klis				Mann-Whitney U test	Z vrijednost	p vrijednost
	n	Medijan	Min	Max	n	Medijan	Min	Max			
Trombociti : leukociti	20	1,49	0,79	2,24	25	1,36	0,7	2,17	248	-0,0343	0,972948382
Trombociti papu asti (%)	20	71,43	22,06	98,64	25	38,61	1,44	89,3	75	<b>3,9859</b>	<b>2,53726E-05</b>
Trombociti papu asti (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	30,5	13,8	74	25	11	0,22	61,3	83	<b>3,6489</b>	<b>0,000137596</b>
Trombociti okrugli (%)	20	28,57	1,35	77,94	25	61,39	10,69	98,55	75	<b>-3,9859</b>	<b>2,53726E-05</b>
Trombociti okrugli (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	13,7	0,75	32	25	21,6	5,23	42,4	108	<b>-3,0565</b>	<b>0,00171831</b>
Limfociti veliki (%)	20	6,99	1,85	23,22	25	7,07	3,35	42,72	216	-0,7652	0,447958611
Limfociti veliki (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	1,73	0,52	19,3	25	1,19	0,16	19,5	221	0,3791	0,707457851
Limfociti mali (%)	20	1,74	0	11,76	25	2,26	0,45	29,36	228,5	-0,4797	0,626653404
Limfociti mali (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	0,41	0	7,47	25	0,53	0,02	12,9	232	-0,1185	0,906685422
Azurofili normalni (%)	20	35,01	13,04	51,13	25	29,63	6,88	37,25	119	<b>2,9808</b>	<b>0,002296846</b>
Azurofili normalni (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	8,47	1,61	27,1	25	5,92	1,53	12,8	122	<b>2,7248</b>	<b>0,005568714</b>
Azurofili s 2 jezgre (%)	20	0,7	0	4,35	25	0,48	0	3,41	204,5	1,0279	0,301899048
Azurofili s 2 jezgre (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	0,20	0	1,18	25	0,09	0	0,57	157,5	1,8837	0,057473489
Azurofili s vakuolama (%)	20	0	0	1,5	25	0,48	0	3,15	187,5	-1,4162	0,154800509
Azurofili s vakuolama (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	0	0	0,61	25	0,05	0	0,65	204	-0,7819	0,438190174
Heterofili - jako granulirani (%)	20	2,14	0	17,33	25	4,45	0,96	20,97	120	<b>-2,9579</b>	<b>0,002495928</b>
Heterofili - jako granulirani (x 10 <sup>9</sup> /L)	19	0,59	0	1,22	25	0,97	0,14	6,12	146	<b>-2,1561</b>	<b>0,030041299</b>
Heterofili s malo granula ili potpuno degranulirani (%)	20	33,6	11,65	43,1	25	32,34	9,22	47,37	242	0,1713	0,865348878

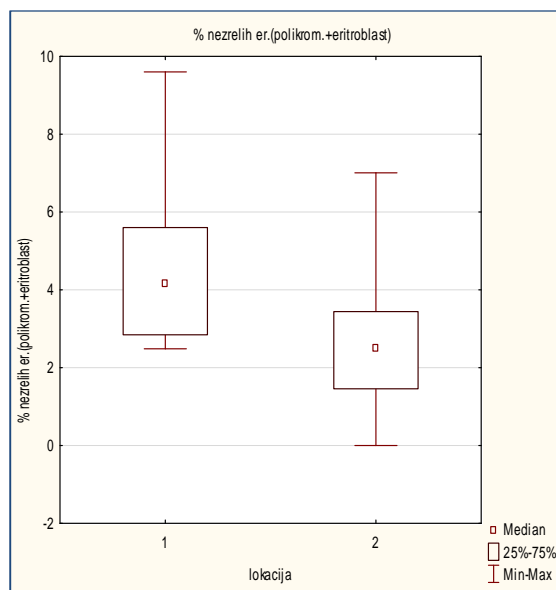
Nastavak tablice 8. Brojnost podtipova i ostalih tipova leukocita za odrasle jedinke *P.apodus*

Vrijednosti	Cres				Klis				Mann-Whitney U test		
	n	Medijan	Min	Max	n	Medijan	Min	Max	U vrijednost	Z vrijednost	p vrijednost
Heterofili s malo granula ili potpuno degranulirani ( $\times 10^9 /L$ )	19	7,7	2,77	23,2	25	6,21	1,47	14,9	162	1,777047	0,075389414
Eozinofili granulirani (%)	20	0	0	18	25	0	0	11,16	194,5	1,256289	0,207113912
Eozinofili granulirani ( $\times 10^9 /L$ )	19	0	0	3,48	25	0	0	5,11	182,5	1,291321	0,194616093
Eozinofili degranulirani (%)	20	0	0	16,99	25	0	0	0	162,5	<b>1,98722</b>	<b>0,04487514</b>
Eozinofili degranulirani ( $\times 10^9 /L$ )	19	0	0	4,04	25	0	0	0	150	<b>2,061374</b>	<b>0,038356691</b>
Bazofili granulirani (%)	20	6,2	2,5	17,08	25	5,74	1,48	16,42	209	0,925085	0,358502875
Bazofili granulirani ( $\times 10^9 /L$ )	19	1,74	0,45	4,42	25	1,38	0,09	4,78	178	1,397943	0,163725976
Bazofili degranulirani (%)	20	0	0	0,51	25	0	0	1,91	179	-1,61033	0,107830957
Bazofili degranulirani ( $\times 10^9 /L$ )	19	0	0	0,2	25	0	0	0,57	176	-1,44533	0,149710546

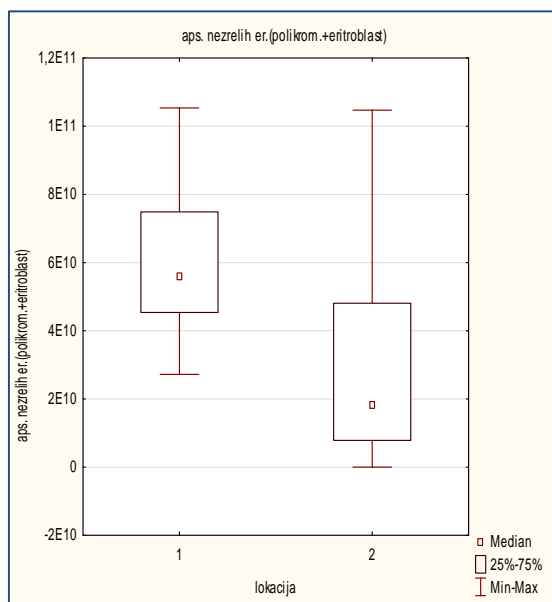
## Box – Whisker prikaz statistički značajnih rezultata, prema lokaciji



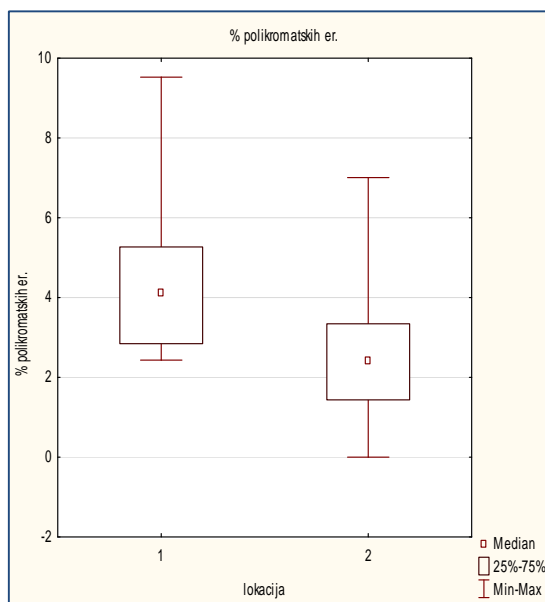
**Slika 5.** Udio zrelih eritrocita kod vrste *P.apodus* na lokacijama Cres (1) i Klis (2)



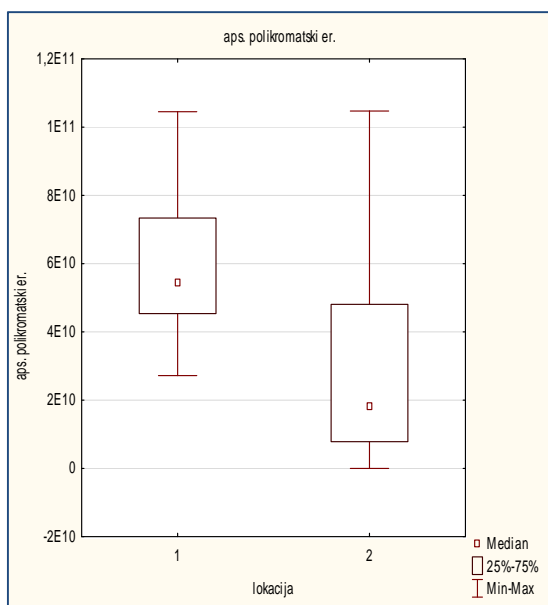
**Slika 6.** Udio nezrelih eritrocita kod vrste *P.apodus* na lokacijama Cres (1) i Klis (2)



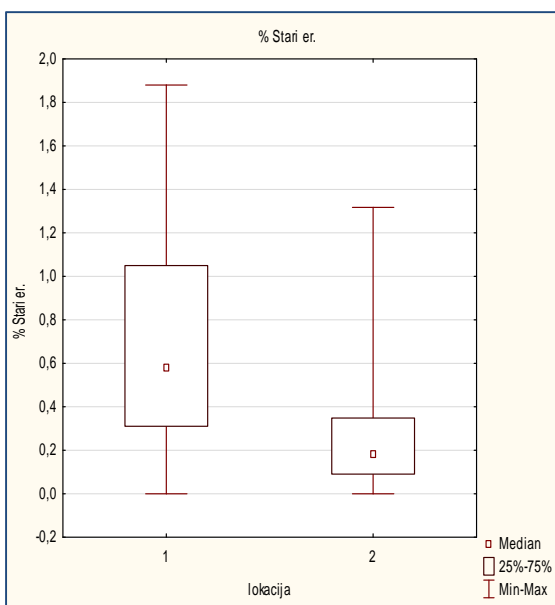
**Slika 7.** Apsolutni broj nezrelih eritrocita vrste *P.apodus* za Cres (1) i Klis (2)



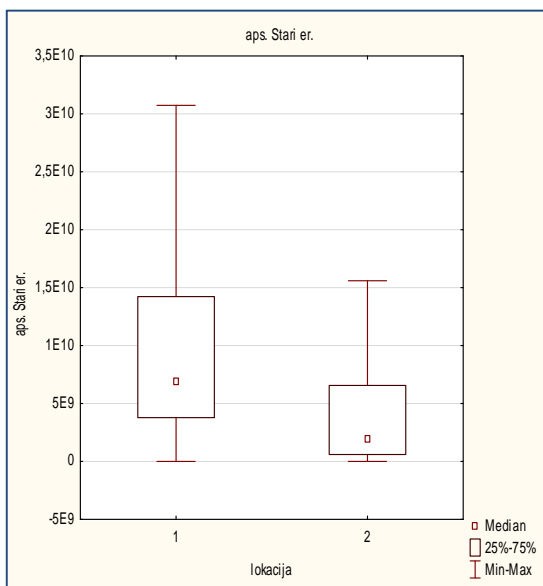
**Slika 8.** Udio polikromatskih eritrocita vrste *P.apodus* za Cres (1) i Klis (2)



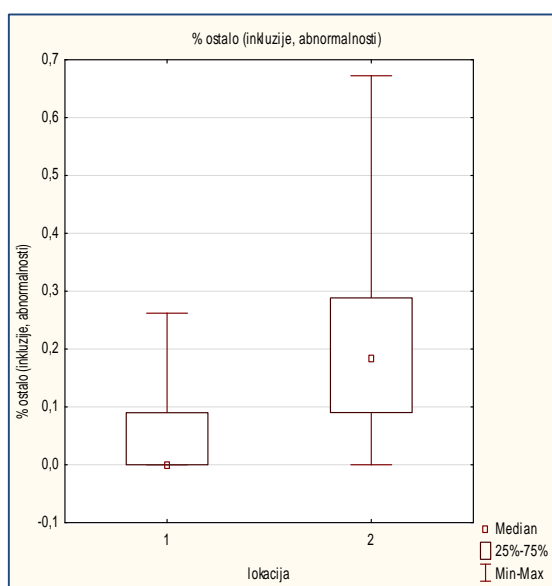
**Slika 9.** Prikaz razlike u apsolutnom br. polikromatskih eritrocita



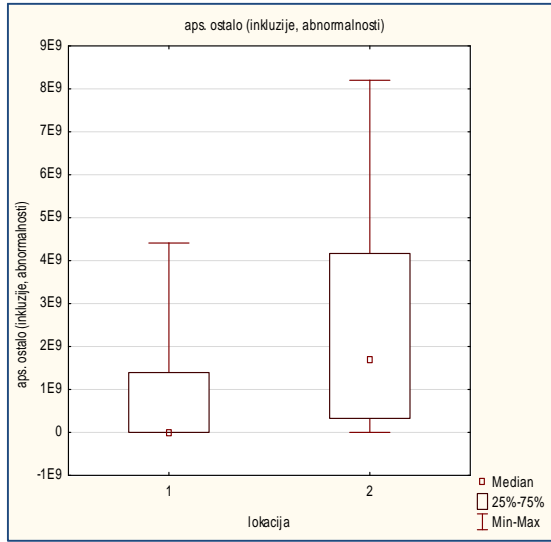
**Slika 10.** Prikaz razlike u udjelu starih eritrocita



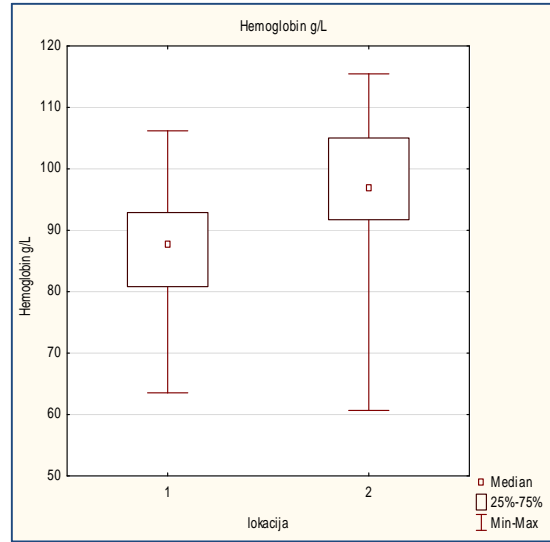
**Slika 11.** Prikaz razlike u apsolutnom broju starih eritrocita



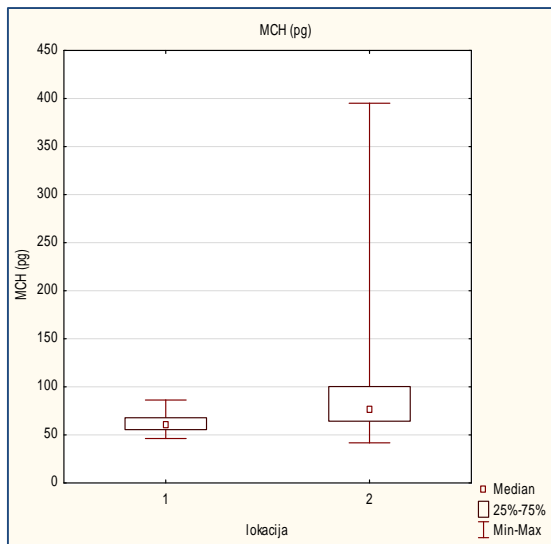
**Slika 12.** Prikaz razlike u udjelu ostalih tipova eritrocita



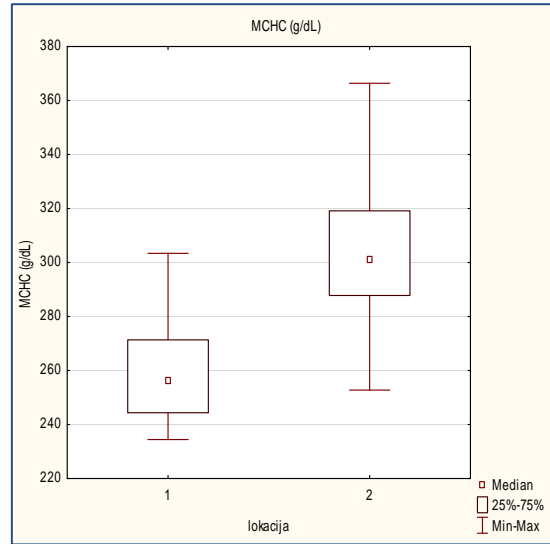
**Slika 13.** Prikaz razlike u apsolutnom broju ostalih tipova eritrocita



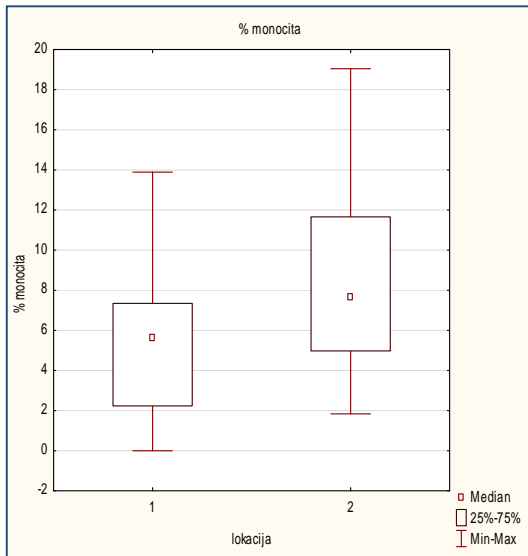
**Slika 14.** Prikaz razlike u vrijednostima hemoglobina



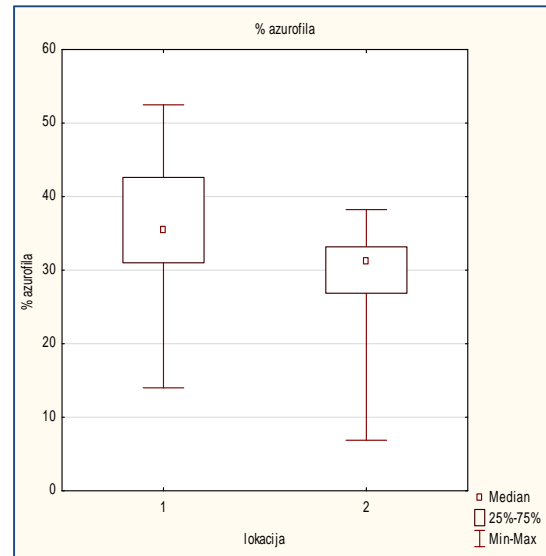
**Slika 15.** Prikaz razlike u vrijednostima MCH



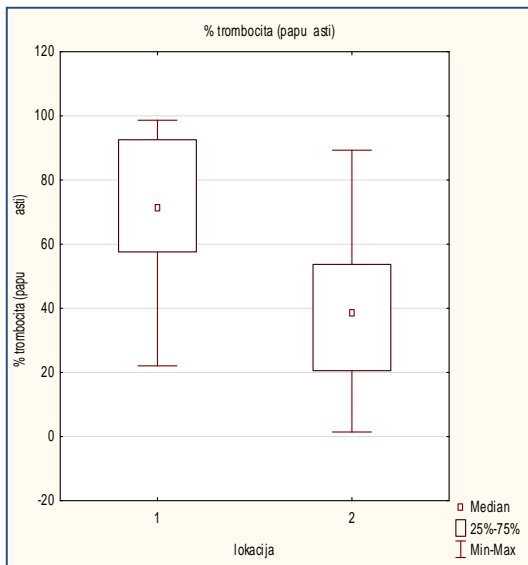
**Slika 16.** Prikaz razlike u vrijednostima MCHC



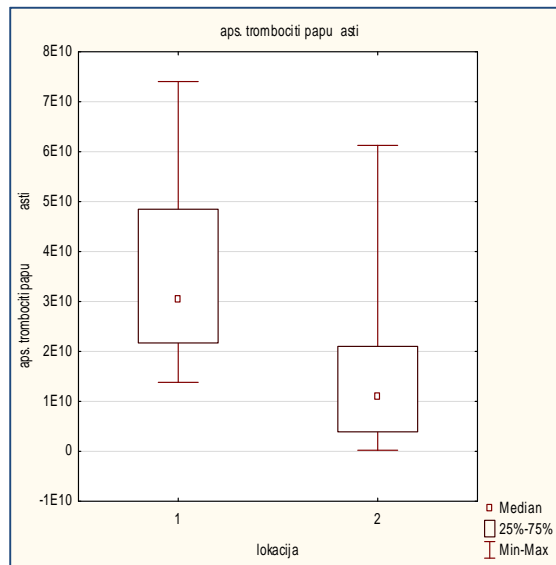
**Slika 17.** Prikaz razlike u udjelima monocita



**Slika 18.** Prikaz razlike u udjelima azurofila

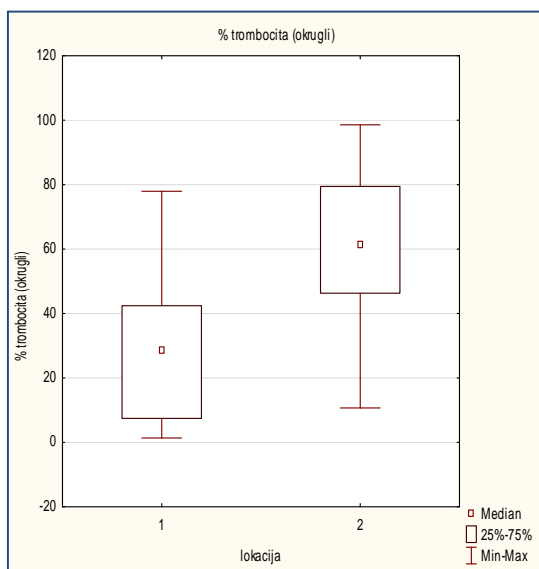


**Slika 19.** Prikaz razlike u udjelima papu astih trombocita

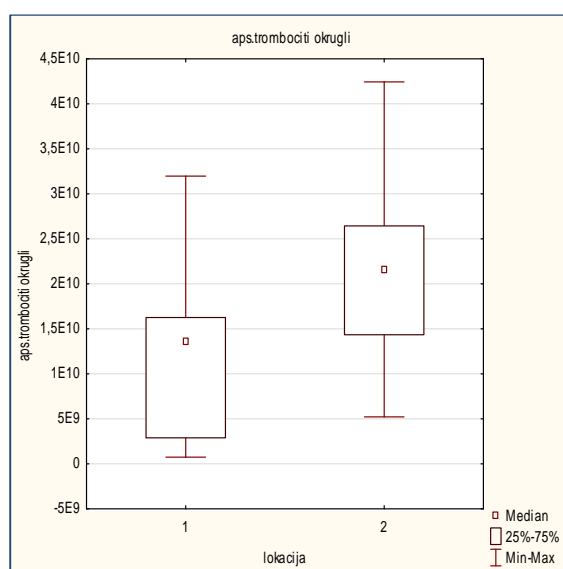


**Slika 20.** Prikaz razlike u aps. br. papu astih trombocita

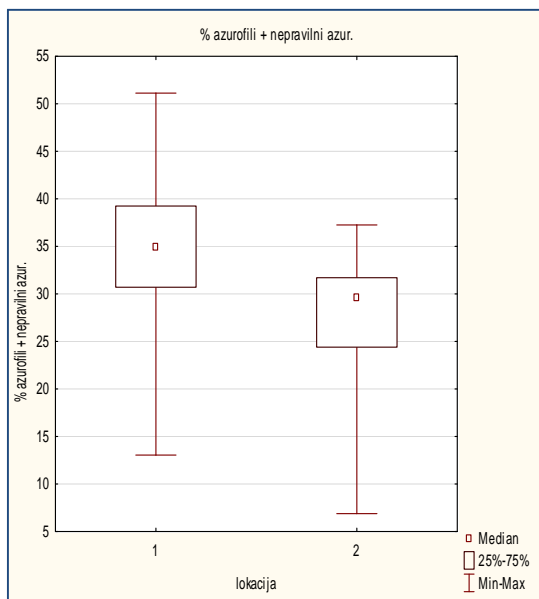




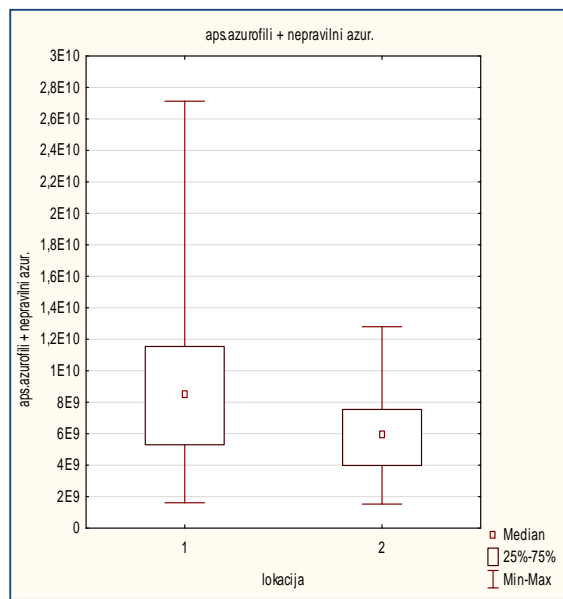
**Slika 21.** Prikaz razlike u udjelima okruglih trombocita



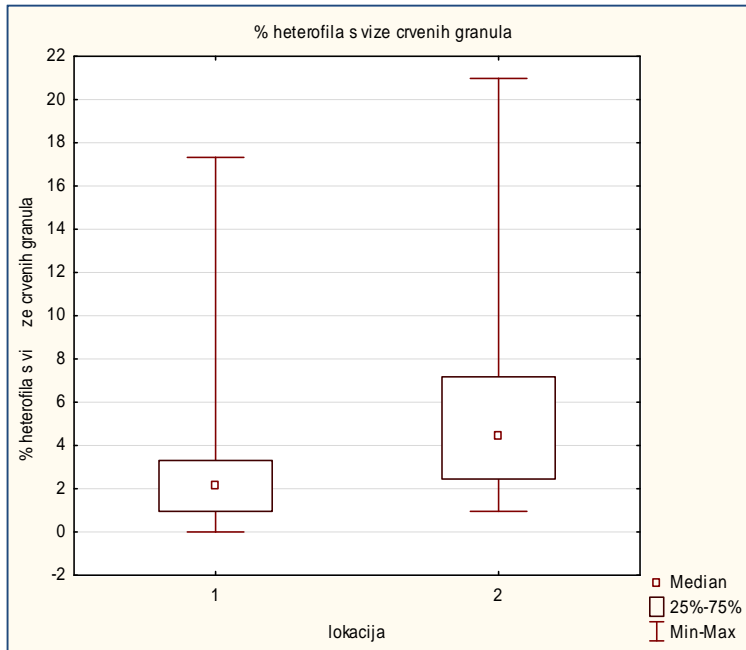
**Slika 22.** Prikaz razlike u aps.br. okruglih trombocita



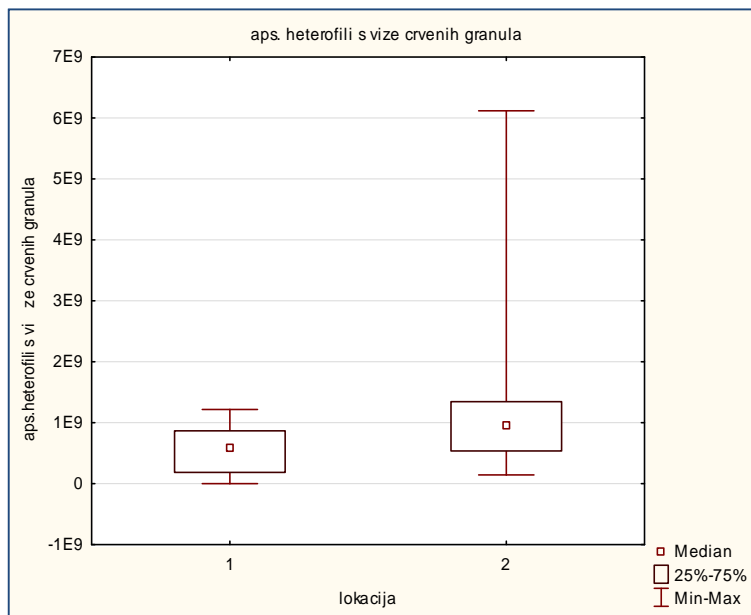
**Slika 23.** Prikaz razlike u udjelima azurofila



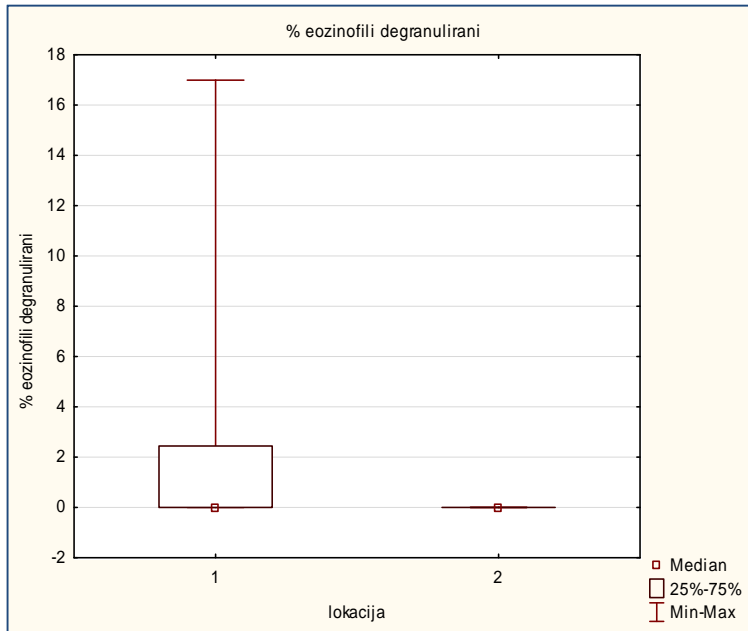
**Slika 24.** Prikaz razlike u aps.br. azurofila



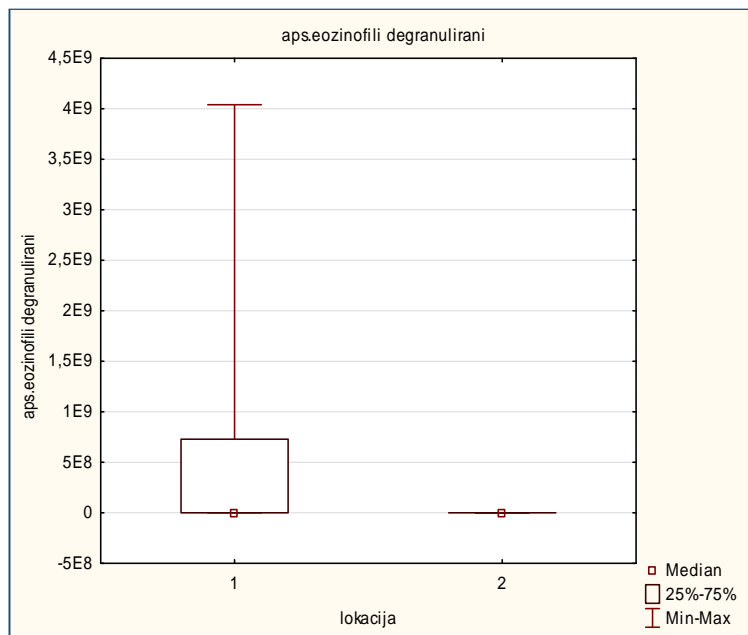
**Slika 25.** Prikaz razlike u udjelima heterofila s vize crvenih granula



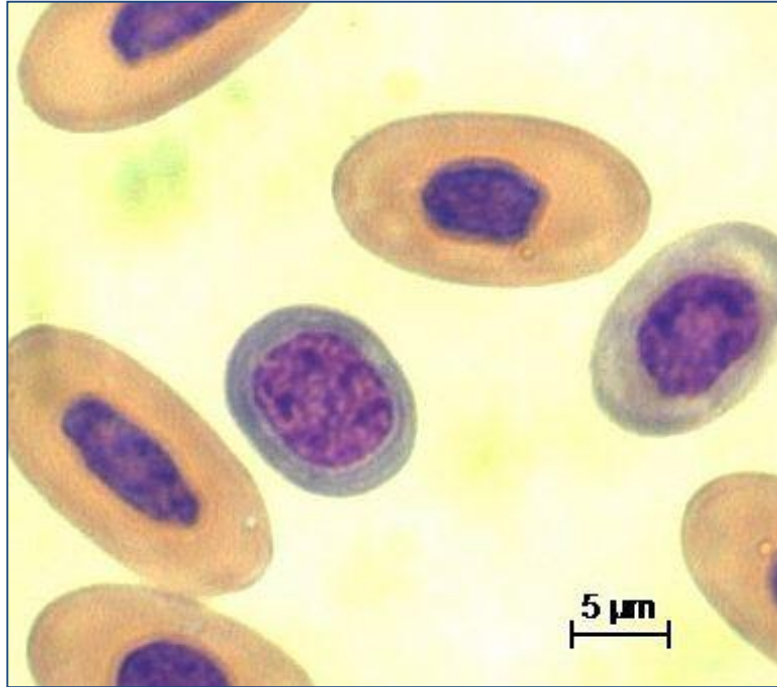
**Slika 26.** Prikaz razlike u apsolutnim brojevima heterofila s vize crvenih granula



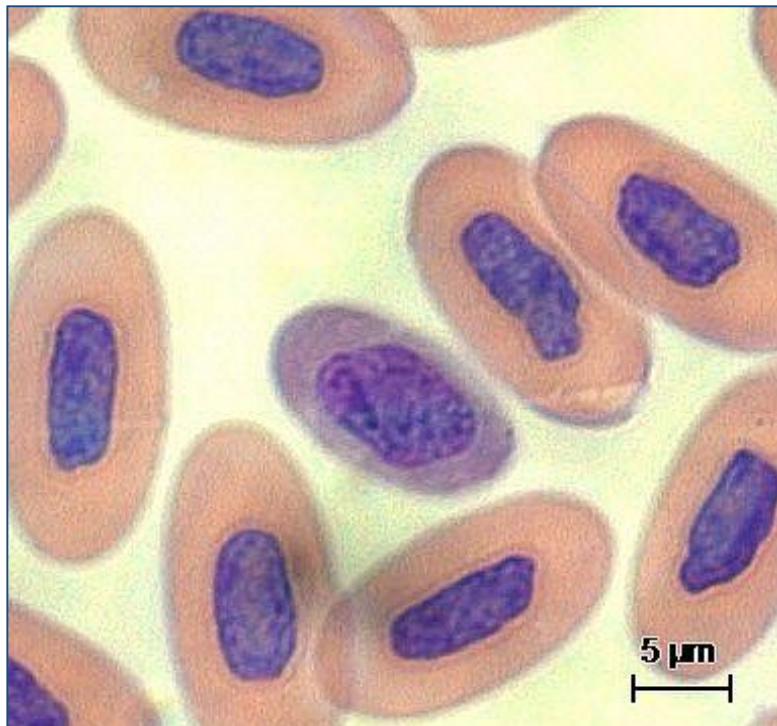
**Slika 27.** Prikaz razlike u udjelima degranuliranih eozinofila



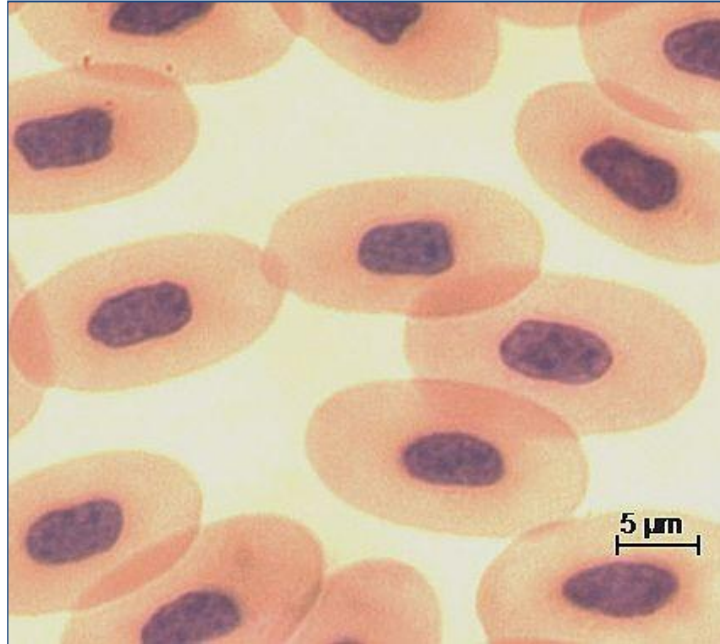
**Slika 28.** Prikaz razlike u apsolutnom broju degranuliranih eozinofila



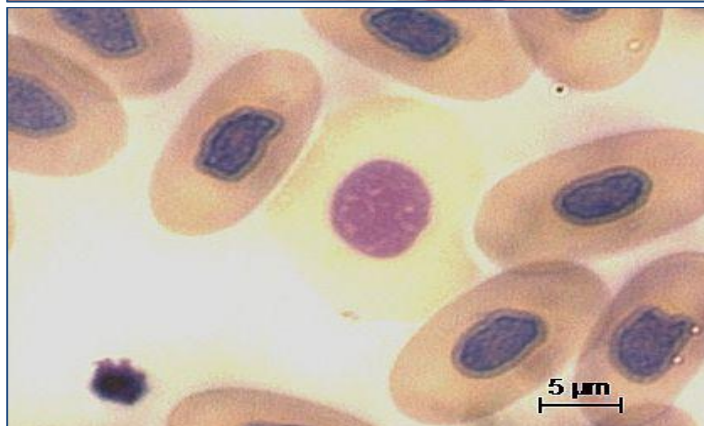
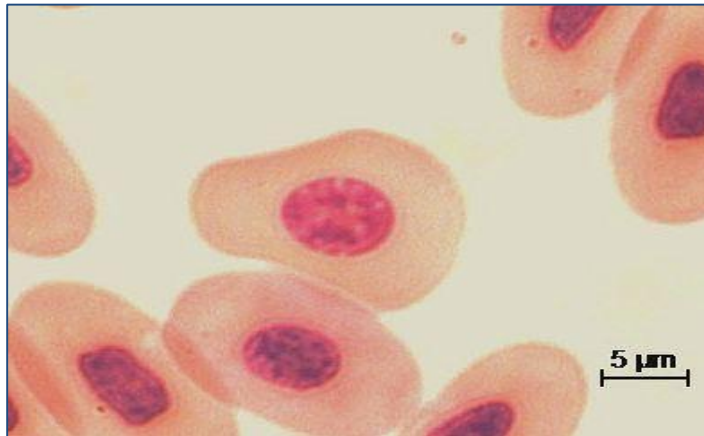
**Slika 29.** Eritroblast (tip E1)



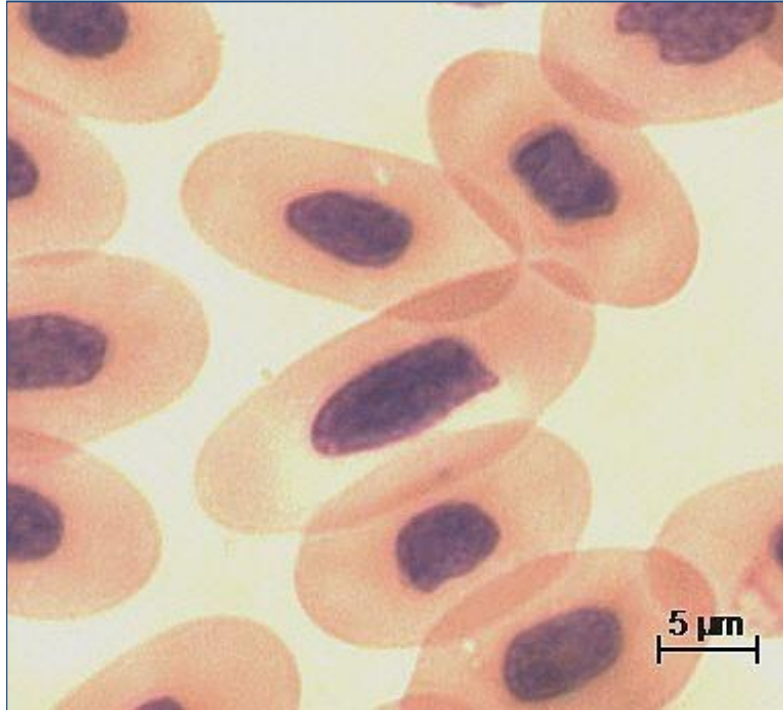
**Slika 30.** Polikromatski eritrocit (tip E2)



**Slika 31.** Zreli eritrociti (tip E3)



**Slika 32. i 33.** Stadiji starih eritrocita (tip E4)

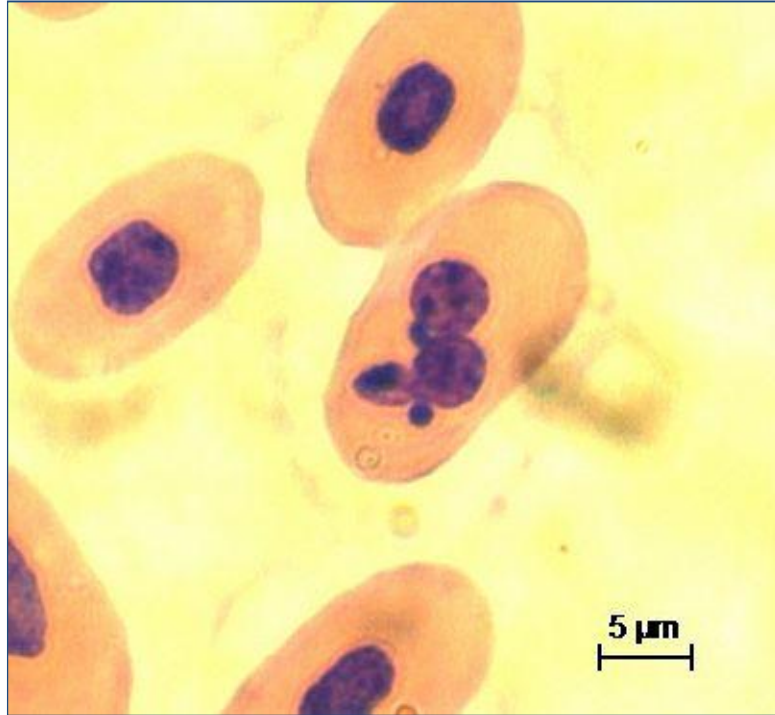


**Slika 34.** Makrocit

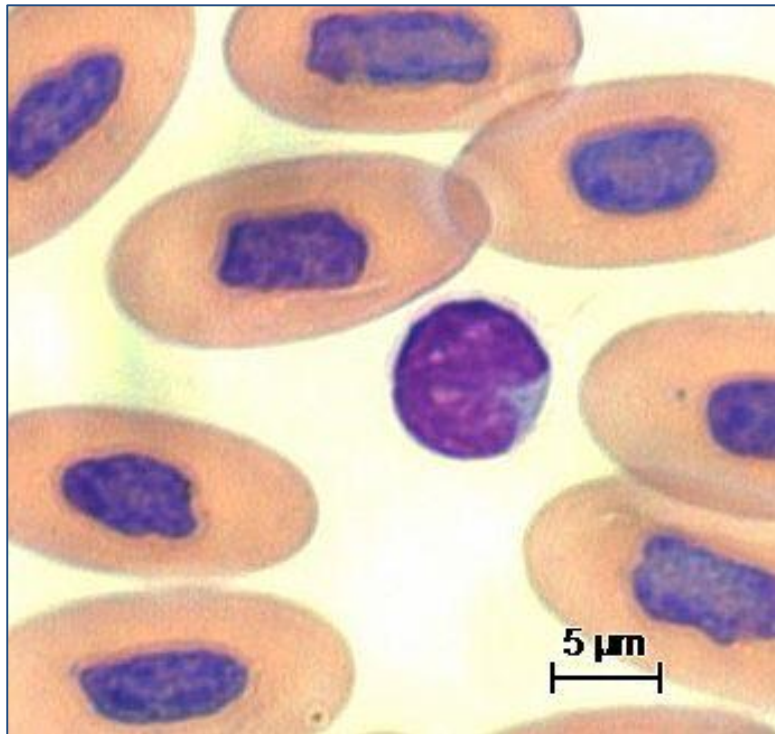


**Slika 35.** Mikroцит

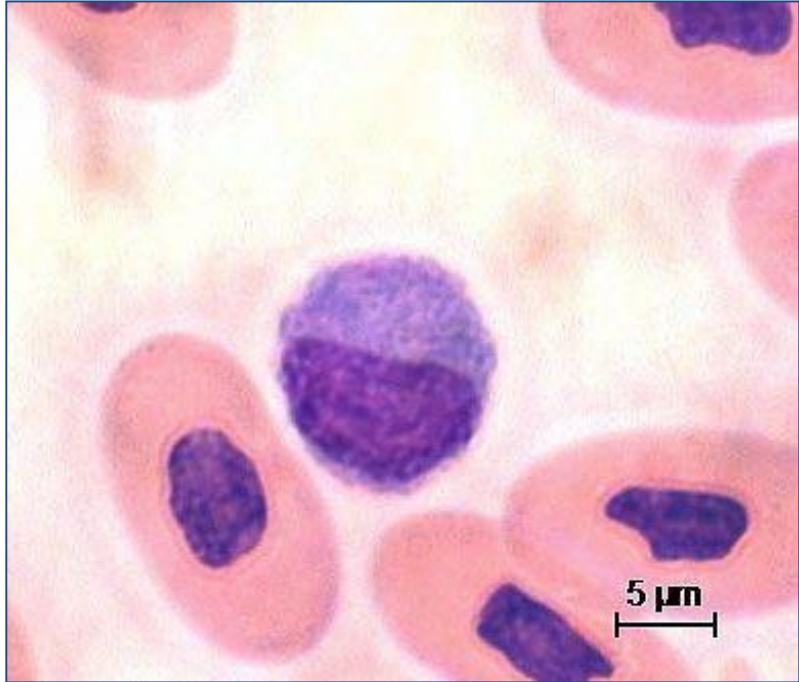




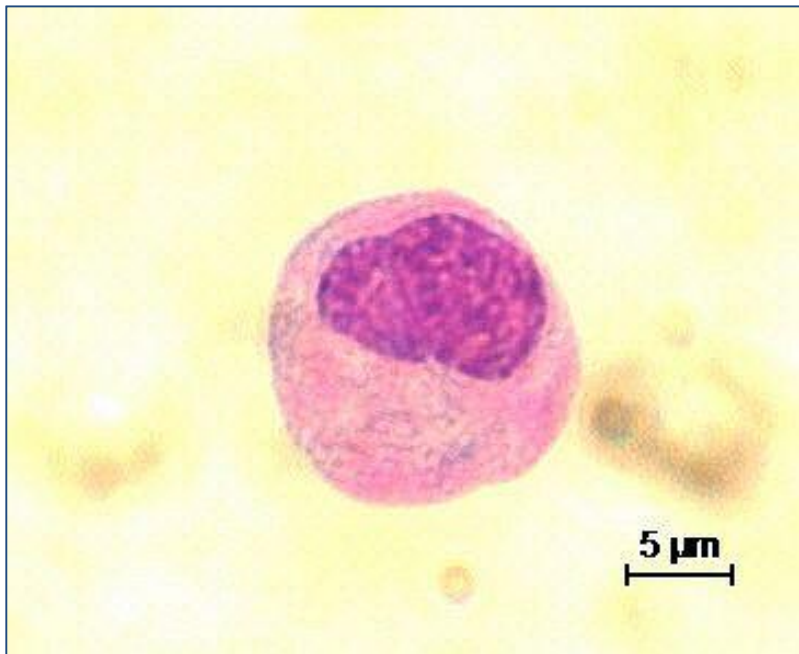
**Slika 36.** Eritrocit s polinuklearnom jezgrom



**Slika 37.** Limfocit (tip L1)

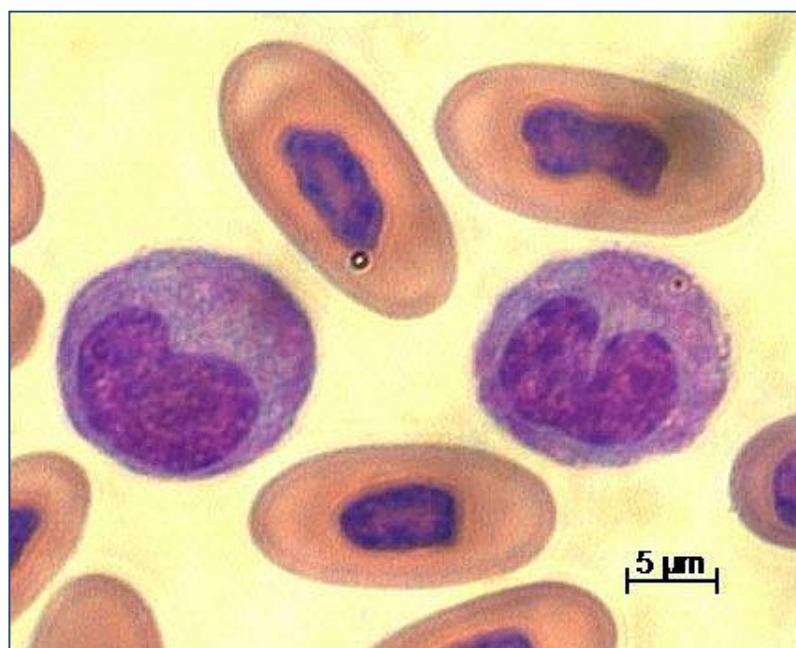


**Slika 38.** Monocit (tip L2)

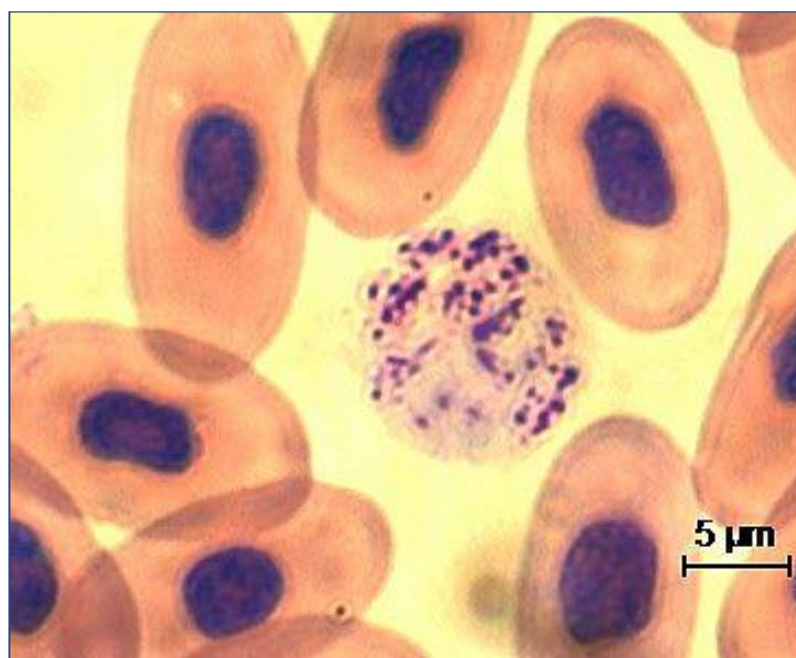


**Slika 39.** Azurofil (tip L3)

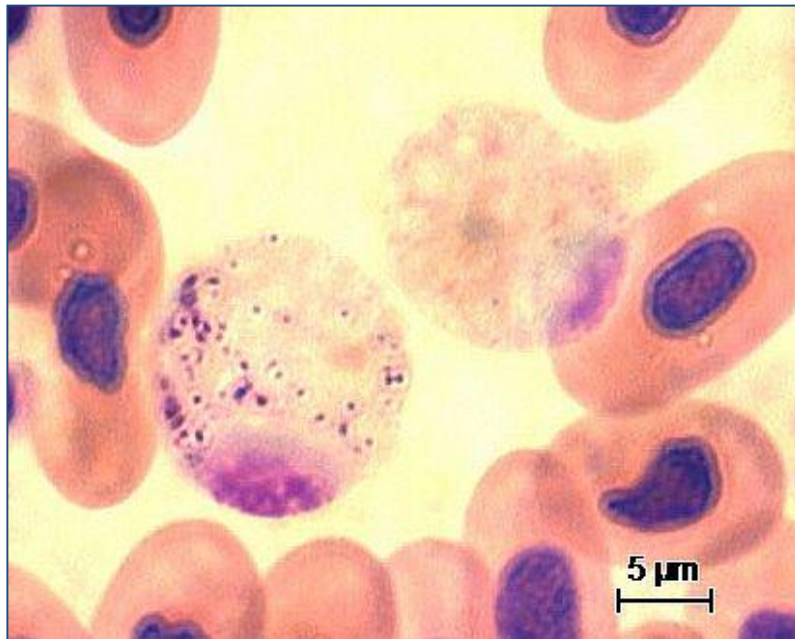




**Slika 40.** Azurofil s bubrežastom jezgrom i azurofil s jezgrom podijeljenom u dva reonja



**Slika 41.** Granulirani heterofil (L4)



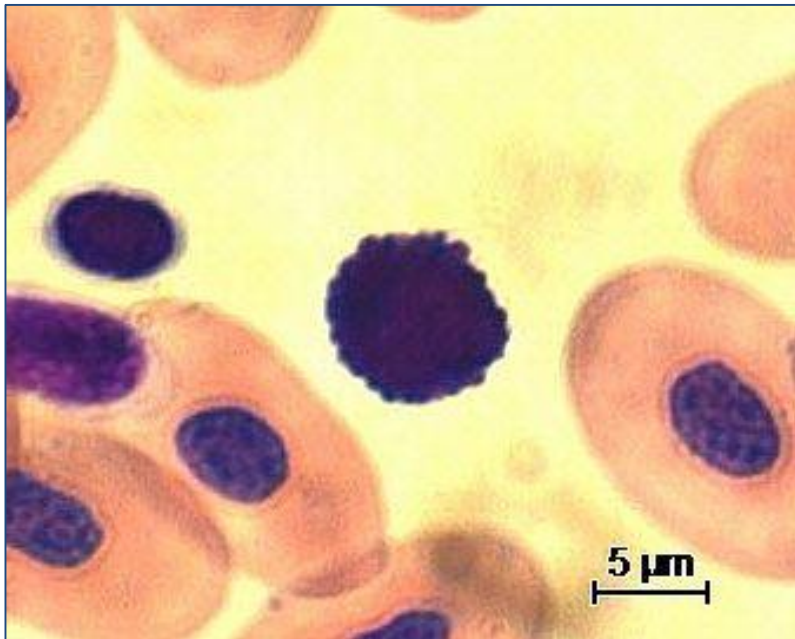
**Slika 42.** Heterofil s malo granula i degranulirani heterofil (L5)



**Slika 43.** Granulirani eozinofil (L6)



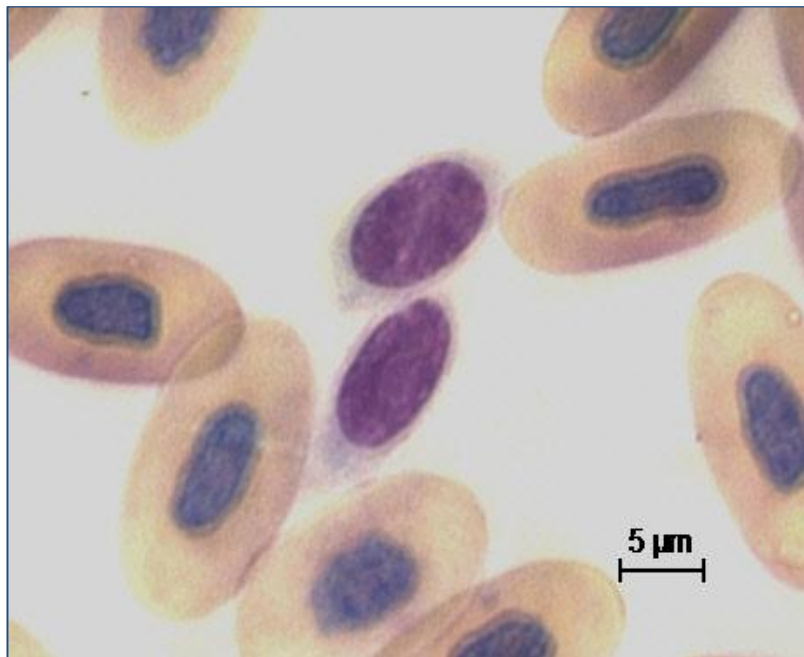
**Slika 44.** Degranulirani eozinofil (L7)



**Slika 45.** Bazofil (tip L8)

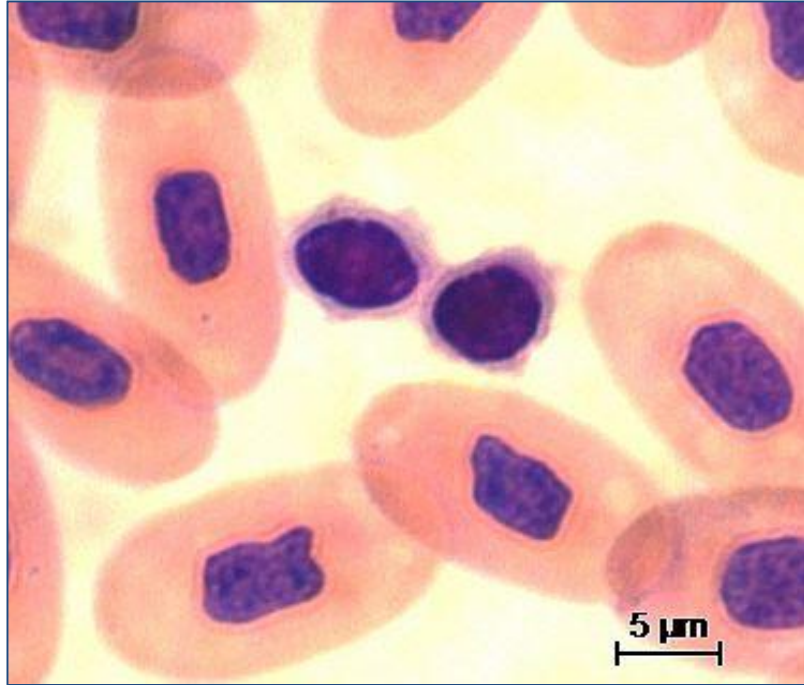


**Slika 46.** Plazma stanica (tip L10)



**Slika 47.** Trombocit tipa T1





**Slika 48.** Trombocit (tip T2)

## 7. Rasprava

Analiza uzoraka krvi na osnovi spola provedena je na 37 jedinki blavora, od kojih je 26 mužjaka i 11 ženki. Rezultati dobiveni za jedinke blavora uspoređeni na temelju spola pokazali su samo dva statistički značajna rezultata unutar 65 hematoloških parametara. Možemo zaključiti da unutar spolova ove vrste nema stvarne varijacije hematoloških značajki već su to male oscilacije koje ne izlaze iz granica referentnih vrijednosti za ostale gmazove.

Međutim, za neke vrste postoji razlika unutar spolova kao u slučaju močvarnog krokodila (*Crocodylus palustris*) gdje mužjaci pokazuju više vrijednosti leukocita i heterofila u odnosu na ženke (Stacy i Whitaker, 2000) ili u slučaju poskoka (*Vipera ammodytes*) gdje ženke pokazuju značajno više vrijednosti koncentracije zrelih eritrocita.

Analiza 45 uzoraka krvi jedinki na osnovi lokacija provedena je na 20 jedinki koje potječu s otoka Cresa, te 25 jedinki s područja Klisa. Rezultati uspoređeni prema lokacijama na kojima su jedinke uzorkovane pokazali su čak 24 statistički značajne vrijednosti od ukupnih 65, prema tome zaključujemo da postoji značajna razlika između ove dvije populacije blavora te da na njih vjerojatno utječu određeni vanjski ili unutarnji čimbenici. Kako ovaj tip istraživanja nije proveden na drugim vrstama gmazova, osobito ne na području Hrvatske te slični podaci nisu opisani u literaturi, za daljnje zaključke nužno je provesti komparativna istraživanja staništa i ekoloških uvjeta kako bi se ustanovilo koji čimbenik ili skup čimbenika utječe na krvne parametre ovih dviju populacija.

Referentne intervale za većinu vrijednosti hematoloških parametara gmazova kao i ostalih ektoterma općenito je vrlo teško utvrditi uslijed djelovanja spomenutih vanjskih i unutarnjih čimbenika kao što su temperatura, stanište, doba godine, prehrana, izloženost patogenima i stresu, te također vrsta, starost, fiziološko stanje same životinje te ranije opisane razlike na temelju spola. Navedene čimbenike nužno je dokumentirati kako bi se osigurala vjerodostojnost podataka (Campbell i Ellis, 2007). Hematološki parametri za gmazove opisani u literaturi često ne uključuju informaciju o navedenim čimbenicima kao mogući utjecajima na hemogram stoga

se javlja velik raspon vrijednosti hematoloških značajki čak i unutar iste vrste, što kod viza kraljeznjaka uglavnom nije slučaj (Campbell, 2006).

Starost oivotinje može utjecati na hematološke parametre kao u slučaju mo varnog krokodila (*Crocodylus palustris*) ije odrasle jedinke imaju veće vrijednosti TRBC od juvenilnih (Stacy i Whitaker, 2000) ili u obrnutom slučaju glavate oelve (*Caretta caretta*) ije juvenilne jedinke imaju gotovo dvostruko veće vrijednosti TRBC od odraslih jedinki (Casal i sur, 2009). Sezonske promjene također imaju velik utjecaj na hemogram gmazova, pa tako u teju guztera (*Tupinambis merianae*) jedinke uzorkovane ljeti imaju niže vrijednosti hematokrita i hemoglobina i TRBC, ali više vrijednosti broja leukocita i trombocita nego zimi (Troiano, Gould i Gould, 2008).

Hibernacija je bitan imbenik koji utječe na broj eritrocita za većinu vrsta gmazova, pa su tako vrijednosti eritrocita najviše prije ulaska u hibernaciju i najniže odmah po izlasku iz nje (Campbell i Ellis, 2007). No čini se da na neke vrste hibernacija nema utjecaja, npr. nikakva razlika u hematološkim vrijednostima nije uočena prije i poslije hibernacije za nekoliko različitih vrsta zmija ljutica umjerenog pojasa (Dutton i Taylor, 2003).

Kako bih dobila što precizniji uvid u vrijednosti hematoloških parametara za oivotinje obrađene u ovome radu odabrala sam isključivo odrasle jedinke prikupljene u istoj sezoni ili godišnjem dobu (proljeće). Iako sam prikupila i uzorke jedinki ulovljenih u jesenskom periodu, one su izostavljene iz daljnjih mjerenja zbog malog broja samih jedinki. Ulovljeno je svega sedam oivotinja od kojih su dvije juvenilne. Prema tome, ove podatke nije moguće statistički uspoređivati sa podacima o oivotinjama iz prethodne sezone, te je nužno uložiti veći i lovni napor kako bi usporedba jedinki u ovisnosti o sezoni bila moguća.

Unutar sljedeće 4 tablice prikazane su referentne vrijednosti hematoloških značajki gmazova prikupljene iz literature i uspoređene s dobivenim rezultatima. Rezultati DKS-a i drugi hematološki parametri za vrstu *Pseudopus apodus* uvrzteni u tablice rezultati su mjerenja i uzorkovanja populacije s Klisa koja obuhvaća najveći broj jedinki te sam je stoga odabrala kao reprezentativnu populaciju. Međutim, vrijednosti za određene hematološke značajke krvi gmazova, npr. brojnost polikromatskih, starih eritrocita i eritroblasta za većinu vrsta nisu opisane u literaturi ili uopće nisu istražene, stoga neke od dobivenih rezultata nisam bila u mogućnosti usporediti sa referentnim vrijednostima.

U tablici 1. prikazane su vrijednosti TRBC te udjeli zrelih i polikromatskih eritrocita 11 vrsta gmazova uspore enih s dobivenim rezultatima za blavora. Referentne vrijednosti dane su za etiri vrste zmija, tri vrste guztera, dvije vrste kornja e i dvije vrste krokodila. Dobivene vrijednosti TRBC za blavora uklapaju se u one prikazane za ostale vrste gmazova. Gmazovi o ekivano imaju manje vrijednosti TRBC u usporedbi s pticama i sisavcima. Tako er, unutar samog razreda gmazova dolazi do obrnuto proporcionalne veze izme u vrijednosti TRBC i veli ine, tj. volumena eritrocita. Guzteri uglavnom imaju manje eritrocite (vrijednosti MCV manje od 300 fL) od drugih gmazova ali zato imaju vize vrijednosti TRBC (cca 10 do 15  $\times 10^{11}/L$ ). Zmije u pravilu imaju ni0i TRBC od guztera ali ipak vizi od vrijednosti TRBC u kornja a. Kornja e imaju najve e eritrocite od svih gmazova (MCV vizi od 500 fL) ali ni0i TRBC (cca 5  $\times 10^{11}/L$ ) (Campbell,2006).

Udio zrelih i polikromatskih eritrocita uspore en je samo s jednom dostupnom referentom vrijednoz u, dok se eritroblasti i stari eritrociti uglavnom ne uklju uju u hematolozka istra0ivanja. U slu aju polikromatskih eritrocita blavora vrijednost udjela je mnogo ve a od referentne vrijednosti zto mo0e ukazivati na polikromaziju. Pove ane koncentracije polikromatskih eritrocita i eritroblasta pokazatelji su pove ane eritropoeze koja se javlja u gmazova koji pate od anemije ili prolaze kroz stadij presvla enja (Campbell i Ellis, 2007). Za ve inu zdravih odraslih gmazova udio polikromatskih eritrocita ne prelazi 1% od ukupnih eritrocita zto je vjerojatno posljedica dugovje nosti eritrocita gmazova (600 do 800 dana) (Claver i Quaglia, 2009) i njihove spore izmjene u krvotoku no i niske stope metabolizma. Mlade jedinke za razliku od odraslih, esto imaju ve i broj nezrelih eritrocita i to upravo eritrocite u polikromatskom stadiju (Campbell,2006).

Prema danim rezultatima, udio zrelih i nezrelih eritrocita iznosi otprilike 99,0% ukupnih eritrocita dok ostatak ine ostali tipovi eirtrocita. Podaci za ove tipove eritrocita kao zto su eritrociti bez jezgre (eritroplastidi), mikro i makrociti te eritrociti s inkluzijama tako er se rijetko obra uju i objavljuju unutar hematolozkih studija.



**Tablica 1.** Usporedba referentnih vrijednosti eritrocita za 11 vrsta gmazova sa vrijednostima dobivenim za vrstu *P.apodus*

Vrste / Vrijednosti	TRBC (x10 <sup>11</sup> /L)	Zreli eritrociti (%)	Zreli er. (x 10 <sup>11</sup> / L)	Polikromatski eritrociti (%)	Polikromatski er. (x 10 <sup>9</sup> /L)	izvor
<i>Heloderma horridum</i>	7,0- 10,9					Espinosa-Aviles i sur., 2008
<i>Dermatemys mawii</i>	4,4- 5,7					Rangel-Mendoza i sur., 2009
<i>Tupinambis merianae</i>	9,55					Troiano, Gould i Gould, 2008
<i>Caretta caretta</i>	0,2-4					Casal i sur, 2009
<i>Chamaeleo chamaeleon</i> (ženke)	0,4- 1,7					Cuadrado i sur., 2002
<i>Crocodylus palustris</i>	6,7- 9,5					Stacy i Whitaker, 2000
<i>Ophiophagus hannah</i>	6,0					Salakij i sur., 2002
<i>Vipera ammodytes</i> (ženke)	4,88 - 14,1	97,03- 99,46	4,77- 13,1	0- 1,24	0- 8,37	Lisi i ,2005
<i>Crocodylus porosus</i>	6,0-13,0					Millan, 1997
<i>Natrix natrix</i>	15,45- 17,5					Wojtaszek, 1991
<i>Crotalus durissus terrificus</i>	15,6					Troiano, 1997
<i>Pseudopus apodus*</i>	13,3	96,24	13,1	2,91	41,8	*Dere0anin, 2012

\*uvrztene srednje vrijednosti za dobivene rezultate populacija na obje lokacije (Cres i Klis)

Nadalje, u tablici 2. dane su vrijednosti hemoglobina, hematokrita (PCV), MCV; MCH; MCHC za 13 vrsta gmazova. Vrijednosti za hemoglobin gmazova objavljene u literaturi uglavnom su niske, esto ne prelaze 100 g/L (Campbell i Ellis, 2007). Dobivena srednja vrijednost hemoglobina blavora uklapa se unutar referentnih vrijednosti kao i hematokrit iji udio ne prelazi gornju granicu danih parametara. Naime, normalne vrijednosti hematokrita (PCV) kre u se izme u 15% i 55% (Frye, 1991) ili 20 i 40% (Campbell,2006).

Povizeni PCV ukazuje na eritrocitozu (policitemiju), stanje dehidracije ili neki drugi uzrok smanjenja volumena plazme (Olufemi 1994), dok su sni0ene vrijednosti hematokrita naj ez e posljedica anemije ukoliko nije dozlo do razrje enja limfom (Sykes i Klaphake, 2008; Campbell i Ellis, 2007). Dobiveni rezultati za MCV, MCH i MCHC tako er odgovaraju zadanim referentnim vrijednostima, izuzev onih danih za vrstu rije ne kornja e (*Dermatemys mawii*) iji je MCV o ekivano ve i u odnosu na vrijednosti MCV drugih vrsta gmazova, dok su MCH i MCHC nezto ni0i.

Op enito se vrijednost MCHC pri usporedbi uzima kao najto nije hematološki parametar jer se za razliku od MCV i MCH izvodi iz dva najpreciznije određena podatka (hemoglobin/ hematokrit) te se ne oslanja na broj eritrocita koji može biti određen s većom ili manjom greškom (Olufemi 1994).

**Tablica 2.** Usporedba referentnih vrijednosti hemoglobina, hematokrita, MCV; MCH i MCHC za 13 vrsta gmazova sa vrijednostima dobivenim za vrstu *P.apodus*

Vrste/ Vrijednosti	Hg g/L	PCV(%)	MCV(fL)	MCH(pg)	MCHC(g/dL)	izvor
<i>Heloderma horridum</i>	7. 10,9	28 . 41	360,80. 511,36	81,44. 122,85	225,70. 287,60	Espinosa-Aviles i sur., 2008
<i>Boiga irregularis</i>		16,5- 41,0				Lamirande i sur., 1999
<i>Dermatemys mawii</i>	18. 33	28. 43	538,3. 811,3	33,3. 62,3	50. 103,6	Rangel-Mendoza i sur., 2009
<i>Tupinambis merianae</i>		25	261	119		Troiano, Gould i Gould, 2008
<i>Iguana iguana</i>			165-305	48-78	200-380	Divers, Redmayne, Aves 1996
<i>Caretta caretta</i>		28. 54				Casal i sur, 2009
<i>Chamaeleo chamaeleon (ženke)</i>	50. 104	10,0. 33,0				Cuadrado i sur., 2002
<i>Crocodylus palustris</i>	66. 101	19. 30	241. 448	67,5. 136	329. 347	Stacy i Whitaker, 2000
<i>Ophiophagus hannah</i>	60	19,3	331,4	103,6	313	Salakij i sur., 2002
<i>Vipera ammodytes (ženke)</i>	52,87-81,25	17- 38	179- 646	55,16- 129,76	179,62-280,17	Lisi i ,2005
<i>Crocodylus porosus</i>			240-311	72-92		Millan, 1997
<i>Natrix natrix</i>			191,3	53,09	281,3	Wojtaszek, 1991
<i>Crotalus durissus terrificus</i>			145	74	51	Troiano, 1997
<i>Pseudopus apodus</i>	93,54	33,75	238,4	68,22	282	*Dere0anin, 2012

\*uvrztene srednje vrijednosti za dobivene rezultate populacija na obje lokacije (Cres i Klis)

Ukupni broj leukocita (TWBC) i trombocita (TT) dobiven za blavora uklapa se u referentne vrijednosti dane u tablici 3. iako su ovi podaci prilično rijetko zastupljeni u literaturi te zbog utjecaja ranije navedenih vanjskih i unutarnjih imbenika esto postoje teško e pri njihovom određivanju (Campbell i Ellis, 2007). Vrijednosti su dane za etiri vrste guztera, dvije vrste zmija, dvije vrste kornjaka i jednu vrstu krokodila. Nadalje, koncentracije limfocita i eozinofila blavora u usporedbi s drugim vrstama su unutar granica referentnih vrijednosti, dok su koncentracije monocita, azurofila, heterofila i bazofila u odnosu na većinu vrijednosti osjetno povizene.

**Tablica 3.** Usporedba referentnih vrijednosti TWBC; TT i tipova leukocita za 9 vrsta gmazova sa vrijednostima dobivenim za vrstu *P.apodus*

Vrste / Vrijednosti	TWBC (x 10 <sup>9</sup> /L)	TT (x10 <sup>9</sup> /L)	Limfociti (x 10 <sup>9</sup> /L)	Monociti (x 10 <sup>9</sup> /L)	Azurofili (x 10 <sup>9</sup> /L)	Heterofili (x 10 <sup>9</sup> /L)	Eozinofili (x 10 <sup>9</sup> /L)	Bazofili (x 10 <sup>9</sup> /L)	izvor
<i>Heloderma horridum</i>	2,86- 7,30		0,3- 1,2	0,03- 0,15	0,17- 2,29	1,38- 4,44	0,06- 0,57	0,03- 0,016	Espinosa-Aviles i sur., 2008
<i>Dermatemys mawii</i>	12- 30,3								Rangel-Mendoza i sur., 2009
<i>Tupinambis meriana</i>	16,75	8,25	7,52	1	1,84	2,17	4,10	0,36	Troiano, Gould i Gould, 2008
<i>Iguana iguana</i>	3 -10		0,5-5,5	0,0-0,1	0-0-1,7	0,35-5,2	0,0-0,3	0,0-0,5	Divers, Redmayne i Aves, 1996
<i>Caretta caretta</i>	0,3- 4,4	30- 90	0,1- 0,6	0- 0,2		0,3- 3,1	0,1- 1,3	0- 0,00001	Casal i sur, 2009
<i>Chamaeleo ch. (ženke)</i>	12,5- 56,2								Cuadrado i sur., 2002
<i>Crocodylus palustris</i>		19- 32	1,2- 2,01	0- 0,26		4,58- 6,7	0,39- 0,95		Stacy i Whitaker, 2000
<i>Ophiophagus hannah</i>	13,53		8,5		3,27	1,76	0,01		Salakij i sur., 2002
<i>Vipera ammodytes (ženke)</i>	5,77- 34,2	7-64,21	0,38- 17,7		0,9- 11,05	0,52- 10,68	0,21- 5,95	0- 0,97	Lisi i ,2005
<i>Pseudopus apodus*</i>	20,8	40,9	1,79	1,35	6,84	7,81	0	1,63	*Dere0anin, 2012

\*uvrztene srednje vrijednosti za dobivene rezultate populacija na obje lokacije (Cres i Klis)

Posljednji prikaz (Tablica 4.) sastoji se od referentnih vrijednosti tipova leukocita za 11 vrsta gmazova koji obuhvaaju etiri vrste guztera, pet vrsta zmija i dvije vrste kornja a.

Udio limfocita blavora u usporedbi s ve inom zadanih parametara nalazi se ispod donje granice vrijednosti. ak i u odnosu na svojeg najbli0eg srodnika, sljepi a (*Anguis fragilis*) blavor ima smanjen broj ovih stanica. Mali udio limfocita u krvi blavora mo0e ukazivati na limfopeniju koja se obi no javlja sekundarno uslijed nekoliko razli itih bolesti povezanih s imunosupresijom, kroni nim stresom ili izgladnjeloz u 0ivotinje (Campbell i Ellis, 2007).

Monociti blavora su blago povizeni te najvize odgovaraju vrijednostima opisanim za vrstu *Chamaeleo chamaeleon* i *Dermatemys mawii*. Koncentracija monocita slabo varira tijekom sezonskih promjena, a monocitoza, tj. pove ani broj ovih stanica ukazuje na upalne procese (Campbell, 2006).

Manjak podataka o azurofilima u krvi gmazova ne daje realan uvid u brojnost ovog tipa leukocita, no prema opisanim parametrima, udio azurofila nalazi se unutar zadanih vrijedosti te je prema veličini drugi po redu najzastupljeniji oblik leukocita, odmah nakon heterofila. Udio heterofila najbliži je vrijednostima danih za vrste *Natrix maura*, *Vipera aspis*, *Vipera ammodytes* kao i onima za vrstu *Anguis fragilis*.

Stanice eozinofila zabilježila sam na 11 krvnih razmaza jedinki blavora od ukupnih 37 i to u vrlo malim udjelima, dok u ostalih jedinki ove stanice nisam primjetila, stoga je srednja vrijednost (medijan) eozinofila za obje populacije blavora jednaka 0, dok aritmetička sredina dviju populacija iznosi 2,26. Općenito je zabilježeno da je u zdravih guztera broj eozinofila varijabilan ali uglavnom nizak, osobito u usporedbi s kornjama čije vrijednosti za ove stanice mogu dosezati do 20% (Campbell, 2006).

Udio bazofila se uklapa unutar vrijednosti većine navedenih vrsta. Zdrave jedinke nekih vrsta gmazova u uobičajenim okolnostima imaju vrijednosti čak do 40% kao što je to slučaj za zmiju ribaricu (*Natrix maura*) (Frye, 1991).

**Tablica 4.** Usporedba udjela pojedinih tipova leukocita za 11 vrsta gmazova sa vrijednostima dobivenim za vrstu *P.apodus*

Vrste / Vrijednosti	Limfociti (%)	Monociti (%)	Azurofili (%)	Heterofili (%)	Eozinofili (%)	Bazofili (%)	izvor
<i>Boiga irregularis</i>	33- 93	0 -4	2 -64	0- 15		0-8	Lamirande i sur., 1999
<i>Dermatemys mawii</i>	31. 63	0. 7		17. 57	5. 31	0. 2	Rangel-Mendoza i sur., 2009
<i>Tupinambis merianae</i>	45	6	11	13	24,5	1,90	Troiano, Gould i Gould, 2008
<i>Chamaeleo ch. (ženke)</i>	22. 31	5. 18		55. 72		0. 2	Cuadrado i sur., 2002
<i>Ophiophagus hannah</i>	60,8		26	13,2			Salakij i sur., 2002
<i>Vipera ammodytes (ženke)</i>	35,32- 67,14		11,44- 42,21	7,46- 50,24	1,48- 21,7	0- 4,48	Lisi i .,2005
<i>Natrix maura</i>	2,0-90,0	0,0-5,0		2,0-65,0	0,0-75,0	0,0-40,0	Frye, 1991
<i>Vipera aspis</i>	4,0-87,0	0,0-5,0		5,0-75,0	1,0-68,0	0,0-25,0	Frye, 1991
<i>Anguis fragilis</i>	10,0-77,0	0,0-3,0		4,0-62,0	3,0-67,0	0,0-28,0	Frye, 1991
<i>Lacerta muralis</i>	45,0-96,0	0,0-5,0		2,0-23,0	1,0-30,0	0,0-12,0	Frye, 1991
<i>Emys orbicularis</i>	45,0-76,0	0,0-1,0		2,0-21,0	12,0-89,0	0,0-25,0	Frye, 1991
<i>Pseudopus apodus</i>	8,86	6	32,33	37,38	0	6,7	*Dere0anin, 2012

\*uvrztene srednje vrijednosti za dobivene rezultate populacija na obje lokacije (Cres i Klis)

Pri promatranju i opisivanju krvnih tipova stanica susrela sam se s nekoliko potezko a. Naime, jedan od glavnih problema je kategorizirati odre eni tip stanica. Tako npr. problem azurofila ve ranije spomenut u poglavlju sHematologija gmazova%ostvara poprili ne potezko e pri klasifikaciji jer razli iti autori ili prihvaaju ovaj tip stanica kao zaseban ili ga svrstavaju u ve postoje e monocite, zto posljedi no dovodi do razli itih zaklju aka i podataka o udjelima ovih stanica u krvotoku gmazova.

Tako er je velik problem precizno utvrditi kojem tipu pripada odre ena stanica jer su esto vrlo male razlike me u njima, pa tako vrlo lako dolazi do zabune pri razlikovanju stanica eozinofila i heterofila, pogotovo na lozijem krvnom preparatu. Heterofili imaju prete0no ztapi ast oblik acidofilnih granula u citoplazmi dok eozinofili sadr0e okruglaste granule (Campbell i Ellis, 2007; Knotková 2001; Saint Girons, 1970). No ipak je prili no tezko na krvnim preparatima uo iti konkretan oblik granula ovih leukocita osobito ako se radi o vrlo gusto granuliranoj citoplazmi stanice ili u drugom slu aju, nebojenim granulama, tj. degranuliranim stanicama heterofila i eozinofila.

Okruglasti trombociti i manje stanice limfocita također su uobičajeni problem pri determinaciji tipova stanica, no uz neznatna iskustva čak i manje razlike postaju uočljive.

Bazofili su stanice koje su slične u svih skupina kralježnjaka pa tako i u krvi blavara zadržavaju svoju uniformnu morfologiju. Oblikom nalikuju na smorulu (jedan od po etnih embrionalnih stadija) te ih je gotovo nemoguće zamijeniti za ostale tipove leukocita.

Nitko od navedenih autora do sada nije se pozabavio s ostalim tipovima i podtipovima stanica leukocita, kao što su heterofili s dvije jezgre, plazma stanice i ostali. Zabilježeno je da se plazma stanice u malom broju pojavljuju pri imunološkoj reakciji organizma uz reaktivne limfocite dok se za dvojezgrene heterofile u krvi gmazova za koje to nije uobičajeno, smatra da su povezani s kroničnim upalnim procesima (Campbell i Ellis, 2007). Također, degranulirane stanice bazofila, heterofila i eozinofila vrlo se rijetko spominju u hematološkim istraživanjima te se najčešće navode kao posljedica toksičnih promjena ili nepravilnog rukovanja pri izradi krvnih preparata (Campbell, 2006).

Trombociti su stanice koje se na krvnim preparatima pojavljuju u dva oblika, pa tako mogu biti ovalni ili papuasti (T1) i okruglasti (T2) trombociti. Ovisno o sastavu krvi i fiziološkom stanju jedinke, obično jedan od ovih oblika trombocita dominira nad drugim. Prema ovim zaključcima, unutar krvnih preparata blavara udio T1 tipa je 53,7% dok je tip T2 zastupljen s 46,3%. Podaci o poremećajima trombocita nisu zabilježeni u detaljnom pregledu literature niti su promjene ovih stanica zapažene u radovima autora (Sykes i Klaphake, 2008).

Omjer trombocita prema leukocitima je 1,5 na 200 prebrojanih stanica na krvnim preparatima blavara.

## 8. Zaključak

Unatoč velikoj zastupljenosti blavora na području primorske Hrvatske, gotovo se ništa ne zna o hematologiji ove vrste. Zadnja istraživanja rađena su 1986. u tadašnjoj Jugoslaviji (Meek, 1986) no nisu uključivala rezultate vezane za hematološke parametre te je ovo istraživanje jedino koje nudi osnovu za determinaciju referentnih vrijednosti navedenih parametara.

Na temelju dobivenih rezultata zaključujem sljedeće:

- Postoji značajna razlika unutar 24 hematološke vrijednosti od ukupnih 65 između jedinki populacija uzorkovanih na dvije opisane lokacije.
- Značajna razlika unutar vrijednosti uspoređenih na osnovi spola zabilježena je u samo dva hematološka parametra od ukupnih 65 te se ne može govoriti o stvarnoj razlici između mužjaka i ženki ove vrste.
- Vrijednosti broja eritrocita, leukocita, trombocita, hemoglobina, PCV, MCV, MCH i MCHC sukladni su sa vrijednostima za ostale vrste gmazova iznesenima u literaturi.
- Usporebu i postojeće podatke o udjelima različitih tipova leukocita sa dobivenim veličinama za leukocite blavora zaključujem da se svi tipovi stanica ove skupine uklapaju u već postojeće intervale vrijednosti dobivene za gmazove.
- Također, smatram kako su razlike između sezona proljeće i jesen ekvivalentne, iako je nužno uzorkovati i obraditi veći broj jedinki jesenske sezone kako bi rezultati statističke obrade bili što vjerodostojniji.
- Daljnja istraživanja su potrebna kako bi se utvrdilo koji čimbenik uvjetuje navedene različitosti i postoji li mogućnost većoj izloženosti parazitskim infekcijama jedne od populacija što bi uvelike utjecalo na krvnu sliku jedinki.

## 9. Literatura

Acuña ML (1974) The haematology of the tropical lizard, *Iguana iguana* L. II. Seasonal variations. *Herpetologica* 30: 229 . 303

Allender MC, Mitchell MA, Phillips CA, Gruszynski K, Beasley VR (2006) Hematology, plasma biochemistry and antibodies to select viruses in wild- caught eastern Massasauga rattlesnakes (*Sistrurus catenatus catenatus*) from Illinois. *Journal of Wildlife Diseases*, 42: 107. 114

Arnold EN, Oviden D (2002) Field guide to the reptiles and amphibians of Britain and Europe, 2<sup>nd</sup> edition. Harper Collins, London, U.K.

Campbell TW, Ellis CS (2007) Avian and exotic animal hematology and cytology, 3<sup>rd</sup> edition. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, U.S.A

Campbell TW (2006) Clinical pathology of reptiles. In: Mader DR (2006) Reptile Medicine and Surgery. W.B. Saunders Co., Philadelphia, U.S.A., 453-470.

Campbell TW (1995) Avian Haematology and Citology. 2<sup>nd</sup> ed, Iowa State University Press, Ames

Canfield PJ (1998) Comparative cell morphology in the peripheral blood film from exotic and native animals. *Australian Veterinary Journal* 76: 793-800



Casal AB, Camacho M, Lopez- Jurado LF, Juste C, Oros J (2009) Comparative study of hematologic and plasma biochemical variables in Eastern Atlantic juvenile and adult nesting loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Veterinary Clinical Pathology* 38: 213. 218

Claver JA; Quaglia AIE (2009) Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates. *Journal of Exotic Pet Medicine* 8: 87. 97

Cuadrado M, Diaz- Paniagua C, Quevedo MA, Aguilar JM, Prescott M (2002) Hematology and clinical chemistry in dystocic and healthy post . reproductive female chameleons. *Journal of Wildlife Diseases* 38: 395. 401

Divers SJ, Redmayne G, Aves EK (1996) Haematological and biochemical values of 10 green iguanas. *Veterinary Record* 138: 203-205

Duguy R (1970) Numbers of blood cells and their variations. In: *Biology of the Reptilia* (C. Gans, T. Parsons, eds.), Academic Press, New York, Vol C, 93 - 109

Dutton C, Taylor P (2003) A comparision between pre- and posthibernation morphometry, hematology and blood chemistry in viperid snakes. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 34: 53. 58

Espinosa-Aviles D, Salomon-Soto VM, Morales-Martinez S (2008) Hematology, blood chemistry and bacteriology of the free . ranging mexican beaded lizard (*Heloderma horridum*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 39: 21. 27

Eterovi D, Kardum G (2010) *Biostatistika za studente medicine*, 5.izdanje, Medicinski fakultet Split

Frye FL (1991) *Reptile care; an atlas of diseases and treatments* Vol. 1.T.F.H. publications, inc., Neptune city, N.J

- Gee GF, Carpenter JW, Hensler GL (1976) Species differences in hematological values of captive cranes, geese, raptors and quail. *Journal of Wildlife management* 45: 463 . 483
- Greene HW (1997) *Snakes . Evolution of Mystery in Nature*, University of California Press, Berkeley
- Knotková Z, Doubek J, Knotek Z, Hájková P (2002) Blood cell morphology and plasma biochemistry in russian tortoises (*Agrionemys horsfieldi*). *Acta Vet. Brno* 71: 191-198
- Lamirande EW, Bratthauer AD, Fischer DC, Nichols DK (1999) Reference hematologic and plasma chemistry values of brown tree snakes (*Boiga irregularis*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 30: 516-520
- Lisi i D (2005) Hematologija poskoka (*Vipera ammodytes*). Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb
- Millan JM, Janmaat A, Richardson KC; Chambers LK, Fomiatti KR (1997) Reference ranges for biochemical and haematological values in farmed saltwater crocodile (*Crocodylus porosus*) yearlings. *Australian Veterinary Journal* 75: 814 . 817
- Meek R (1986) Field body temperature of the glass lizard *Ophisaurus apodus* in Yugoslavia. *Amphibia Reptilia* 7: 43- 49
- Olufemi AS, Ogunjobi AA (1994) Haematological values of the rainbow lizard *Agama agama* L. *Herpetological journal* 4: 86-90
- Pianka ER, Vitt LJ (2003) *Lizards; Windows to the evolution of diversity*. University of California Press, Los Angeles, California

Pough FH, Andrews RM, Cadle JE, Crump ML, Savitzky AH, Wells DK (2001) Herpetology, 2nd edition. Prentice Hall, Inc., New Jersey

Rangel-Mendoza J, Weber M, Zenteno-Ruiz CE, López-Luna MA, Barba-Macías E (2009) Hematology and serum biochemistry comparison in wild and captive Central American river turtles (*Dermatemys mawii*) in Tabasco, Mexico. Research in Veterinary Science 87: 313. 318

Saint Girons MC (1970) Morphology of the circulating blood cells. In: Biology of the Reptilia (C. Gans, T. Parsons, eds.), Academic Press, New York, Vol C, 73 . 91

Salakij C, Salakij J, Apibal S, Narkkong NA, Chanhom L, Rochanapat N (2002) Hematology, Morphology, Cytochemical Staining, and Ultrastructural Characteristics of Blood Cells in King Cobras (*Ophiophagus hannah*). Veterinary Clinical Pathology 31: 116-126

Stacy BA; Whitaker N (2000) Hematology and blood biochemistry of captive mugger crocodiles (*Crocodylus palustris*). Journal of Zoo and Wildlife Medicine 31: 339. 347

Sykes JM, Klaphake E (2008) Reptile Hematology. Veterinary Clinics Exotic Animal practice 11: 481. 500

Troiano JC, Gould EG, Gould I (2008) Hematological reference intervals in argentine lizard. Comparative Clinical Pathology 17: 93. 97

Troiano JC, Vidal JC, Gould J, Gould E (1997) Haematological reference intervals of the south american rattlesnake (*Crotalus dirusus terrificus*, Laurenti, 1768) in captivity. Comparative Haematology International 1: 109-112

Wintrobe MM (1961) Clinical Hematology. Lea and Febiger, Philadelphia

Wojtaszek JS (1992) Seasonal changes of circulating blood parameters in the grass snake *Natrix natrix* L. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 103: 461-471

Wojtaszek JS (1991) Haematology of the grass snake *Natrix natrix* L. *Comparative Biochemistry and Physiology* 100: 805-812

Zug GR (1993) *Herpetology; An introductory biology of amphibians and reptiles*. Academic Press, Inc., San Diego, California

[www.googlemaps.com](http://www.googlemaps.com) (21. rujan 2012)

[www.iucn.org](http://www.iucn.org) (11. listopad 2012)