

Histološke osobitosti oka određenih vrsta riba Jadranskog mora

Histological characteristics of the eye in selected Adriatic fish species



Tomičić, L.¹, D. Vidušin², E. Gjurčević³, L. Bastiančić⁴, S. Kužir⁴

Sažetak

Tijekom evolucije osjetilo vida prošlo je mnoge prilagodbe te se razlikuje od vrste do vrste. Mnoge je oduvijek zanimalo zašto i kako vidimo te kako vide druge vrste oko nas. Svakodnevno se provode istraživanja koja su odgovorila na većinu tih pitanja, ali isto tako se dolazi i do novih otkrića koja postavljaju nova pitanja na koja treba odgovoriti. U ovom su radu opisane glavne razlike između oka riba i oka sisavaca te karakterističan nalaz na mrežnici tri vrste riba: špar (*Diplodus annularis*), trlja od blata (*Mullus barbatus*) i lastavica glavulja (*Chelidonichthys lastoviza*). Isto tako, u radu se raspravlja o značenju uočenih promjena.

Abstract

During evolution, the sense of sight underwent many changes and it varies from species to species. Many people wonder why and how we can see, and how the sense of sight has developed in other species. Research is being undertaken on a daily basis and it answers most of these questions but discoveries have led to new questions that need to be answered. In this paper, we describe the main differences between fish and mammalian eyes, and present a characteristic finding on the retinas of three fish species Annular Seabream (*Diplodus annularis*), Red Mullet (*Mullus barbatus*) and Streaked Gurnard (*Chelidonichthys lastoviza*). We also discuss the significance of the changes observed.

UVOD

Oko (lat. *organum visus*) pretvara svjetlosni podražaj u sliku pa ga nazivamo fotosenzibilnim organom. Još u najprimitivnijih organizama, poput praživotinja, opisane su fotosenzibilne organele (James i sur., 1992.), koje su se tijekom godina razvile u najsloženiji organ u tijelu kao što je to kod sisavaca (König i Liebich, 2007.).

S obzirom na brojnost vrsta i njihovu različitu životnu sredinu (Nelson i sur., 2006.), makrograđa i mikrograđa (Fernald, 1990., Fishelson i sur., 2004.) kao i patološke promjene u oku

riba (Ramesh i Nagarajan, 2013.) intenzivno se istražuju. Oko riba razlikuje se od oka sisavaca po obliku očne jabučice, obliku i položaju leće, krvožilnoj opskrbi te izostanku vjeđa (Genten i sur., 2009.). Makrograđa oka opisuje očnu jabučicu (lat. *bulbus oculi*) te pomoćne dijelove oka (lat. *organa oculi accessoria*) (Mescher, 2016.). Očna jabučica riba sastoji se od triju koncentričnih očnih ovojnica od kojih se svaka, na osnovi histološke građe i funkcije, može podijeliti na posebne dijelove. Vanjska očna ovojnica (lat. *tunica fibrosa bulbi*) sastoji se od bjeloočnice (lat. *sclera*) i rožnice (lat. *cornea*). Bjeloočnica

¹ Lucija Tomičić, studentica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

² Dinko Vidušin, dr. med. vet., Veterinarska ambulanta Pag, Splitska 20, 23250 Pag

³ izv. prof. dr. sc. Emil Gjurčević, Zavod za biologiju i patologiju riba i pčela, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

⁴ Lucija Bastiančić, dr. med. vet., izv. prof. dr. sc. Snježana Kužir, Zavod za anatomiju, histologiju i embriologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

*e-adresa:
lucijat@gmail.com

Ključne riječi: oko riba, mrežnica, špar, trlja od blata, lastavica glavulja

Key words: fish eye, retina, Annular Seabream, Red Mullet, Streaked Gurnard

mnogih riba sadržava hrskavicu ili čak kost (Koppang i Bjerkås, 2006., Franz-Odendaal, 2008.) U srednjoj očnoj ovojnici (lat. *tunica vasculosa bulbi*) možemo razlikovati tri dijela: žilnicu (lat. *choroidea*), cilijarno tijelo (lat. *corpus ciliare*) i šarenicu (lat. *iris*). Žilnica, kao što sam naziv kaže, sadržava brojne krvne žile za opskrbu drugih dijelova oka. Jedna od specifičnosti ribljega oka jest i položaj čudesne mrežice (lat. *rete mirabile*) koja se nalazi unutar žilnice ribljih vrsta čija mrežnica nema krvnih žila te položaj falciformnog izdanka (lat. *processus falciformis*), koji je izbočen kroz mrežnicu u područje staklovine. Nadalje, cilijarno je tijelo u riba rudimentirano, ali proizvodi očnu vodicu (lat. *humor aquosus*). Šarenica sadržava mišić, ali i on je u mnogih riba rudimentiran (Koppang i Bjerkås, 2006.). Leća (lat. *lens*) je velika i potpuno okrugla. Budući da je smještena blizu rožnice i da je oko pokretljivo, širina vidnog kuta je velika (Douglas i Djamgoz, 1990.). Leća nema krvnih žila ni živaca, a u položaju je drže suspenzorni ligament (lat. *ligamentum suspensorium lentis*) dorzalno te retraktorni mišić (lat. *m. retractor lentis*) ventralno (Genten i sur., 2009.). Treća očna ovojnica jest mrežnica (lat. *retina*). Mrežnica je odgovorna za pretvorbu svjetlosti u živčani impuls koji će optičkim živcem doći do mozga. Sastoji se od deset slojeva, od kojih je prvi pigmentni sloj (lat. *stratum pigmentosum*), a ostalih devet čine tri neurona vidnoga puta s njihovim spojevima i potpornim stanicama: sloj čunjića i štapića (lat. *stratum neuroepitheliale*), vanjska granična membrana (lat. *stratum limitans externum*), vanjski zrnati sloj (lat. *stratum nucleare externum*), vanjski mrežasti sloj (lat. *stratum plexiforme externum*), unutarnji zrnati sloj (lat. *stratum nucleare internum*), unutarnji mrežasti sloj (lat. *stratum plexiforme internum*), sloj ganglijskih stanica (lat. *stratum ganglionare*), sloj ganglijskih aksona (lat. *stratum neurofibrarum*) i unutarnja granična membrana (lat. *stratum limitans internum*) (Douglas i Djamgoz, 1990.; I.C.V.G.A.N. 2017.). Poseban mehanizam prilagodbe oka na količinu svjetlosti kod riba opisuju Donatti i Fanta (2007.), Salem (2016.) i Azab i sur. (2017.). Autori su kod promjene intenziteta svjetla uočili migraciju pigmentnih zrnaca u pigmentnom sloju mrežnice te skraćivanje odnosno izduživanje fotoreceptora prema sloju pigmentnog epitela.

U svom je diplomskom radu Vidušin (2011.) opisao građu oka u šest vrsta riba podrijetlom iz akvatorija otoka Paga. Autor je uočio posebna zadebljanja vanjskoga zrnatog sloja mrežnice uz stanjivanje pigmentnog sloja u dvije vrste: špar i trlja od blata.

Cilj je ovoga istraživanja analizirati novo-prikupljene uzorke očnih jabučica špara i analizirati arhivske histološke preparate oka šest vrsta morskih riba: špar, trlja od blata, fratar (*Diplodus vulgaris*), gire menula (*Spicara smaris*), glavoč bjelaš (*Gobius geniporus*) i lastavica glavulja (*Chelidonichthys lastoviza*) te utvrditi prisutnost promjena koje je opisao Vidušin (2011.).

MATERIJAL I METODE

U ovom su istraživanju korišteni uzorci očnih jabučica 25 primjeraka špara ulovljenih sportskim ribolovom na dubini od 5 do 8 m, na dvjema lokacijama u sjevernom dijelu Jadranskog mora. Četrnaest primjeraka ulovljeno je u akvatoriju otoka Paga (lokacija Pag), a devet u akvatoriju otoka Silbe (lokacija Silba). Od svakog primjerka uzorkovana je jedna očna jabučica, ekstrakcijom kružnim rezom uz rub orbite. U bulbus je, na granici bjeloočnice i rožnice, inzulinskom špicom apliciran 10 %-tni puferirani formalin. Tako pripremljene očne jabučice uronjene su u 10 %-tni puferirani formalin i dopremljene u laboratorij Zavoda za anatomiju, histologiju i embriologiju Veterinarskoga fakulteta Sveučilišta u Zagrebu gdje su napravljene histološki preparati. Uzorci su uklopljeni u parafin i narezani na rezove debljine 7 µm te obojeni hematoksilin-eozinom (HE) (von Romeis, 1968.), periodičnom kiselinom Schiff (PAS) i Malloryjevom metodom za kolagen (Sheehan i Hrapchak, 1980.).

U svrhu ovog istraživanja pregledani su i arhivski histološki preparati oka šest vrsta morskih riba: špar, trlja od blata, fratar, gire menula, glavoč bjelaš i lastavica glavulja. Od svake su vrste pregledani histološki preparati tri oka, podrijetlom od različitih jedinki.

Histološki preparati promatrani su optičkim mikroskopom Olympus BX41 pod povećanjem 100 do 600 puta te su slikani digitalnom kamerom Olympus DP12 i softverom Cell B (Soft Imaging System).

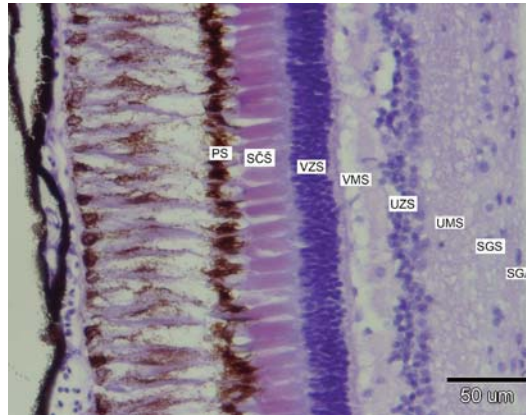
REZULTATI

Oko špara tipične je građe u svih pregledanih primjeraka. Vanjska očna ovojnica građena je od bjeloočnice s hrskavicom i rožnice. Ispod vanjske očne ovojnice nalazi se srednja očna ovojnica, koja se sastoji od čudesne mrežice, žilnice i šarenice prožete brojnim krvnim žilama. Mišići su šarenice rudimentirani kao i cilijarno tijelo. Leća je velika i okrugla.

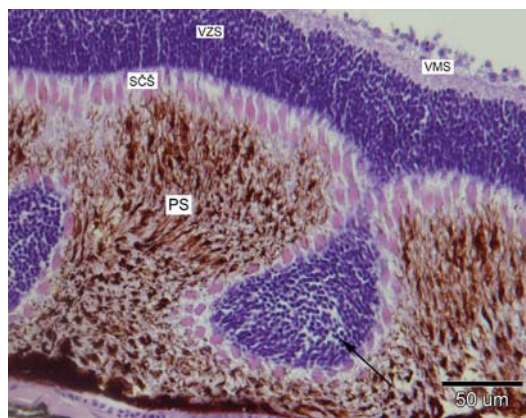
U svim pregledanim primjercima mrežnica je također tipične građe. Sastoji se od deset koncentričnih slojeva, od kojih prvi sloj čine pigmentne stanice, drugi i zadnji sloj su vanjska i unutarnja granična membrana, a ostalih sedam čine tri neurona i njihove međusobne sinapse. To su sloj čunjića i štapića, vanjski zrnati sloj i vanjski mrežasti sloj, unutarnji zrnati sloj, unutarnji mrežasti sloj, sloj ganglijskih stanica i sloj ganglijskih aksona (slika 1).

Zadebljanja vanjskoga zrnatog sloja potvrđena su u obje novouzorkovane skupine špara: lokacija Pag i lokacija Silba. Od 14 primjeraka špara podrijetlom iz lokacije Pag, promjene na mrežnici utvrđene su u tri primjerka. U jednom primjerku vanjski zrnati sloj ima peteljkasta izbočenja koja u potpunosti ulaze unutar pigmentnog sloja zajedno sa slojem čunjića i štapića (slika 2). U drugom i trećem primjerku, također podrijetlom s lokacije Pag, nađena su nepravilna zadebljanja vanjskoga zrnatog sloja uz istodobno stanjivanje pigmentnog sloja. Od devet primjeraka špara s lokacije Silba, promjene mrežnice utvrđene su u samo jednom uzorku. U sva četiri primjerka s utvrđenim promjenama (tri s lokacije Pag i jedan s lokacije Silba) unutarnji slojevi mrežnice nisu promijenjeni (slika 3).

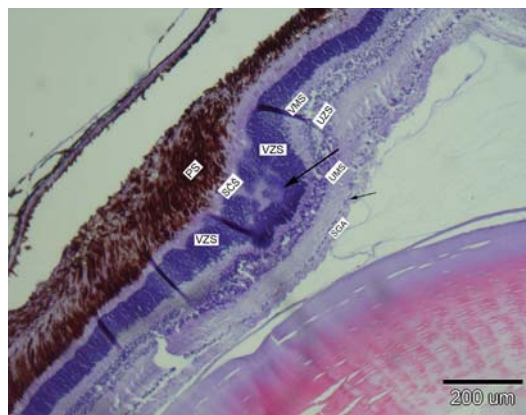
Ponovnim pregledom arhiviranih histoloških preparata (Vidušin, 2011.) potvrđeni su prijašnji nalazi promjena na mrežnici špara i trlje od blata. Sličan nalaz utvrđen je još i na jednom uzorku oka vrste lastavica glavulja. Naime zbog artefakata nastalih prilikom izrade prvih preparata nije bilo moguće sa sigurnošću potvrditi promjene te su napravljeni novi histološki rezovi istog uzorka uklopljenog u parafin, na kojima su potvrđene promjene mrežnice kao i u špara.



Slika 1. Slojevi mrežnice vrste špar (*Diplodus annularis*), HE bojenje. PS – pigmentni sloj, SČŠ – sloj čunjića i štapića, VZS – vanjski zrnati sloj, VMS – vanjski mrežasti sloj, UZS – unutarnji zrnati sloj, UMS – unutarnji mrežasti sloj, SGS – sloj ganglijskih stanica, SGA – sloj ganglijskih aksona.



Slika 2. Mrežnica, špar (*Diplodus annularis*), HE bojenje. Strelica – peteljkasta izbočenja vanjskoga zrnatog sloja u pigmentni sloj mrežnice, okružena slojem fotoreceptora, PS – pigmentni sloj, SČŠ – sloj čunjića i štapića, VZS – vanjski zrnati sloj, VMS – vanjski mrežasti sloj.



Slika 3. Mrežnica, špar (*Diplodus annularis*), HE bojenje. Velika strelica – proširenje vanjskoga zrnatog sloja mrežnice, PS – pigmentni sloj, SČŠ – sloj čunjića i štapića, VZS – vanjski zrnati sloj, VMS – vanjski mrežasti sloj, UZS – unutarnji zrnati sloj, UMS – unutarnji mrežasti sloj, mala strelica – sloj ganglijskih stanica, SGA – sloj ganglijskih aksona.

RASPRAVA

U svih je istraženih vrsta riba građa očne jabučice tipična i u skladu s podacima iz literature (Douglas i Djamgoz, 1990., Genten i sur., 2009.). Vanjska očna ovojnica građena je od bjeloočnice i rožnice. Rožnica, histološki, nema jasno razgraničenih pet slojeva kao u viših kralježnjaka. Bjeloočnica sadržava hijalinu hrskavicu, koja je bitna za održavanje oblika oka. Ispod vanjske

očne ovojnice nalazi se čudesna mrežica, zatim kružni sloj građen od žilnice, cilijarnog tijela i šarenice. Cilijarno tijelo u riba rudimentirano je u smislu akomodacije leće, tj. nema zonularnih vlakana koja bi leću držala u položaju. Leća je velika i potpuno okrugla, zauzima velik dio očne jabučice te kao takva omogućuje širok vidni kut. Pri akomodaciji oka na daljinu leća ne mijenja oblik, već je pomiču suspenzorni ligament i retraktorni mišić. Mrežnica se sastoji od deset slojeva neurona i njihovih potpornih stanica s pigmentnim slojem.

U ovom je radu posebna pažnja posvećena analizi histološke građe mrežnice kako bi se utvrdila prisutnost promjena koje je opisao Vidušin (2011.). Rezultati dobiveni na uzorcima špara prikupljenim s obiju lokacija (lokacija Pag, lokacija Silba) dovode nas do zaključka da uočene promjene na mrežnici oka nisu nastale kao posljedica pogreške pri izradi histoloških preparata (artefakt) niti su slučajna pojava. Naime prema dostupnoj literaturi prisutnost peteljastih ili blago valovitih zadebljanja vanjskoga zrnatog sloja mrežnice kod špara, trlje od blata i lastavice glavulje može upućivati na obilježje vrste ili fiziološku akomodaciju oka na količinu svjetlosti (Donatti i Fanta, 2007.). U sjevernih morskih slonova (*Mirounga angustirostris*) sličan su nalaz opisali Smodlaka i sur. (2016.). Sjeverni morski slonovi jesu morski sisavci koji obitavaju u sjevernim vodama Atlantskoga i Tihog oceana. Do 90 % vremena provode u vodi, vjerojatno solitarnim načinom života, a na kopno izlaze jednom godišnje, tijekom sezone parenja. Obično se zadržavaju na dubinama od 500 do 700 m, ali mogu roniti i do 1000 m. Mužjaci se dulje vrijeme zadržavaju pri dnu, dok ženke često mijenjaju dubinu. Mesožderi su, a vid im je jedno od bitnih osjetila za preživljavanje u uvjetima smanjenog osvjetljenja na velikim dubinama (Warburton, 2002.). Smodlaka i sur. (2016.) u mrežnici sjevernih morskih slonova opisuju više nabora vanjskoga zrnatog sloja, ali i vanjskoga mrežastog sloja te sloja čunjića i štapića. Autori dalje navode da uočeni nabori postupno nestaju prema nazubljenom rubu (lat. *ora serrata*) mrežnice. Slični su nabori opisani i u nekih drugih morskih (Jamieson, 1970.; Jamieson i Fisher, 1971.) i kopnenih sisavaca (Pilleri 1967., Pedler i Tilley, 1969., Fejer i sur. 2001.). Smodlaka i sur. (2016.) pretpostavljaju

da je uočeni nalaz posljedica prilagodbe oka na smanjenu količinu svjetla u dubinama na kojima obitavaju sjeverni morski slonovi. Takva pretpostavka ne objašnjava nalaze dobivene u ovom istraživanju jer istražene vrste riba ne obitavaju na velikim dubinama. Tako Bauchot i Hureau (1990.) navode kako su staništa špara pliča priobalna područja do dubine od 90 m. Primjerci špara s lokacije Silba i lokacije Pag ulovljeni su na dubini od 5 do 8 m.

Nedostatak očnih vjeđa i opisani fiziološki mehanizam prilagodbe na količinu svjetlosti, što su opisali Donatti i Fanta (2007.), Salem (2016.) i Azab i sur. (2017.), može biti uzrok utvrđenim promjenama kod špara, trlje od blata i lastavice glavulje. Tomu u prilog govori i stanjivanje pigmentnog sloja uz uočena zadebljanja vanjskoga zrnatog sloja mrežnice.

Glavni je nedostatak ovog istraživanja nedovoljno velik broj uzoraka koji bi omogućio statističku obradu i donošenje zaključaka s većom vjerojatnošću. Nasuprot tomu već samo ponovno uočavanje karakterističnih promjena na mrežnici špara, trlje od blata i lastavice glavulje važna je potvrda prvotnog nalaza (Vidušin, 2011.) i upućuje na potrebu daljnjeg istraživanja ovih promjena kako bi se utvrdio razlog njihove pojave.

ZAHVALA

Zahvaljujemo na entuzijazmu i velikoj pomoći doc. dr. sc. Krešimiru Matanoviću koji nam je omogućio izradu ovog rada.

LITERATURA

- AZAB, A. M., H. M. SHOMAN, R.M. EL-DEEB, H. M. ABDELHAFEZ, S. E. A. SAMEI (2017.): Comparative Studies on the Histology of Eye Retina in Some Nile Fishes with Different Dial Activities. Egypt. J. Hosp. Med. 68, 815-823.
- BAUCHOT, M. L., J. C. HUREAU (1990): Sparidae. U: Check-list of the fishes of the eastern tropical Atlantic (CLOFETA) (J.C. Quero, J.C. Hureau, C. Karrer, A. Post i L. Saldanha ur.) JNICT, Lisbon; SEI, Paris; and UNESCO, Paris. Vol. 2. str. 790-812.
- DONATTI, L., E. FANTA (2007): Fine structure of the retinal pigment epithelium and cones of Antarctic fish *Notothenia coriiceps* Richard-

- son in light and dark – conditions. Rev. Bras. Zool. 24, 33-40.
- DOUGLAS, R. H., M. B. A. DJAMGOZ (1990): The Visual System of Fish. Chapman and Hall. London, New York, Tokyo, Melbourne, Madras. str. 109-147.
 - FEJER, Z., C. HALDAR, M. GHOSH, L. C. FRANK, Z. SZEPESSY, A. SZEL, M. J. MANZANO E SILVA, B. VIGH (2001): Pineal organ-like organization of the retina in megachiroptean bats. Acta. Biol. Hung. 52, 17-27.
 - FERNALD, R. D. (1990): Teleost vision: seeing while growing. J. Exp. Zool. 5, 167-80.
 - FISHELSON, L., G. AYALON, A. ZVERDLING, R. HOLZMAN (2004): Comparative Morphology of the Eye (With Particular Attention to the Retina) in Various Species of Cardinal Fish (Apogonidae, Teleostei). Anat. Rec. 277A, 249-261.
 - FRANZ-ODENDAAL, T. A. (2008): Scleral Ossicles of Teleostei: Evolutionary and Developmental Trends. Anat. Rec. 291, 161-168.
 - GENTEN, F., E. TERWINGHE, A. DANGUY (2009): Atlas of fish histology. Science Publishers. Enfield (NH), Jersey, Plymouth. str. 179-203.
 - I.C.V.G.A.N. (2017): Nomina Anatomica Veterinaria, 6. izdanje. Editorial Committee Hannover, Ghent, Columbia, MO, Rio de Janeiro. str. 148-150.
 - JAMES, T. W., F. CRESCITELLI, E. R. LOEW, W. N. MCFARLAND (1992): The eyespot of euglena gracilis: a microspectrophotometric study. Vision. Res. 32, 1583-1800.
 - JAMIESON, G. S. (1970): The eye of the harbour seal, Phoca Vitulina. Masters Thesis The University of British Columbia: Vancouver.
 - JAMIESON, G. S., D. FISHER (1971): The retina of the harbour seal, Phoca vitulina. Can. J. Zool. 49, 19-23.
 - KÖNIG, H. E., H. G. LIEBICH (2007): Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas, 3th edition. Schattauer GmbH, Stuttgart, Germany. str. 593-617.
 - KOPPANG, E. O., E. BJERKØS (2006): The eye. U: Systemic Pathology of Fish. (Ferguson, H. W. ur.). Scotian Press, London. str. 245-265.
 - MESCHER, A. L. (2016): Junqueira's Basic Histology, text and atlas. 14th edition. McGraw-Hill Education. str. 409-509.
 - NELSON, J. S., T. C. GRANDE, M. V. H. WILSON (2006): Fishes of the World, 5th edition, John Wiley & Sons. Hoboken, New Jersey. str. 1-4.
 - PEDLER, C, R. TILLEY (1969): The retina of a fruit bat (Pteropus giganteus Brünnich). Vision Res. 9, 909-922.
 - PILLERI, G. (1967): Retinalfalten im Auge von Wassersäugetieren. Experientia 23, 54-55.
 - RAMESH, F., K. NAGARAJAN (2013): Histopathological changes in the retina of the fish Clarias batrachus exposed to untreated and treated sago effluent. IJDS. 2, 1025-1030.
 - SHEEHAN, D. C., B.B. HRAPCHAK (1980): Theory and practice of Histotechnology. Battelle Press, Columbus, Richland.
 - SALEM, M. A. (2016): Structure and function of the retinal pigment epithelium, photoreceptors and cornea in the eye of *Sardinella aurita* (Clupeidae, Teleostei). JOBAZ. 75, 1-12.
 - SMODLAKA, H., W. A. KHAMAS, L. PALMER, B. LUI, J. A. BOROVIĆ, B. A. COHN, L. SCHMITZ (2016): Eye Histology and Ganglion Cell Topography of Northern Elephant Seals (*Mirounga angustirostris*). Anat. Rec. 299, 798-805.
 - VIDUŠIN, D. (2011): Histološko istraživanje oka različitih morskih vrsta riba. Diplomski rad. Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Zagreb, Republika Hrvatska.
 - VON ROMEIS, B. (1968): Mikroskopische technik. R.O. Verlag, München, Wien.
 - WARBURTON, K. (2002): *Mirounga angustirostris* (On-line), Animal Diversity Web. https://animaldiversity.org/accounts/Mirounga_angustirostris/ (24.2.2020.)