

Jelensko rogovlje – funkcionalno modificirana kost



Deer antlers – functionally modified bone

Škvorc*, N., M. Bujanić, S. Kužir, D. Konjević

Sažetak

Jelen obični (*Cervus elaphus* L.) autohtona je krupna divljač u Hrvatskoj. Rogovlje punorožaca parne su koštane strukture, vizualni znak društvene hijerarhije, te služe u pokaznim i borbenim interakcijama u sezoni parenja, a jeleni se njime koriste i za označivanje teritorija. U pravilu rogovlje u jelena običnoga nose samo mužjaci. Mineralizirano rogovlje sastoji se od kompaktne kosti koja okružuje središnju spužvastu, trabekularnu kost. Iako je rogovlje po strukturi i sastavu prava kost, između ova dva organa ipak postoje brojne razlike. Rogovlje sadržava više organske tvari i manji volumni postotak minerala, uglavnom se sastoji od primarnih osteona i prolazi redovitu potpunu regeneraciju na godišnjoj razini. Histološke analize rogovlja mogu se provoditi na mineraliziranim neuklopljenim uzorcima ili uzorcima uklopljenima u plastiku te demineraliziranim (dekalcificiranim) uzorcima uklopljenima u parafin. Nakon postupka dekalcifikacije, koja se provodi pomoću kiselina ili kelatnih sredstava, dobivaju se tanki rezovi uzoraka pogodni za daljnja histološka bojenja. Histološka struktura rogovlja izravno je povezana s njihovim mehaničkim svojstvima. Smjer kolagenih vlakana i njihova međusobna povezanost mineralnim pločicama uzrokuju snažnu plastičnost i čvrstoću koja im omogućuje spremnost za borbu. Kostima smjer kolagenih vlakana i njihova međusobna povezanost mineralnim pločicama daje veliku elastičnost i stoga sposobnost apsorpcije energije prilikom utjecaja mehaničke sile.

Ključne riječi: jelen obični, rogovlje, kost, dekalcifikacija

Abstract

The red deer (*Cervus elaphus* L.) is an indigenous large game species in Croatia. The antlers of red deer are bony structures, serving as a visual sign of social hierarchy, and are used in display and combat interactions during the mating season. Red deer also use their antlers for marking their territory. Antlers are generally present in males. The mineralized antlers consist of compact bone surrounding a central cancellous, or trabecular bone. Although structurally and compositionally similar to "real bone," there are numerous differences between antlers and bones. Antlers contain more organic matter and a lower volume percentage of minerals, mainly consisting of primary osteons, and they undergo regular regeneration on an annual basis. Histological analyses of antlers can be conducted on mineralized unembedded samples or samples embedded in plastic, as well as on demineralized (decalcified) samples embedded in paraffin. After the

Nikolina ŠKVORC, dr. med. vet., dr. sc. Miljenko BUJANIĆ, dr. med. vet., dr. sc. Snježana KUŽIR, dr. med. vet., redovita profesorica, dr. sc. Dean KONJEVIĆ, dr. med. vet., Dipl. ECZM, redoviti profesor, Veterinarski fakultet, Sveučilište u Zagrebu. Dopisna autorica: nskvorc@vef.unizg.hr

decalcification process, conducted using acids or chelating agents, thin sections of samples suitable for further histological staining can be obtained. The histological structure of antlers is directly linked to their mechanical properties. The direction of the collagen fibers and their interconnection with mineral platelets result in strong plasticity and strength, enabling them to be prepared for combat. The arrangement of collagen fibers in the bones and their interconnection with the mineral plates provides for great elasticity and, consequently, the ability to absorb energy during the impact of mechanical force.

Key words: red deer, antlers, bone, decalcification

Uvod

Jelen obični (*Cervus elaphus* L.) sisavac je iz porodice jelena (Cervidae) i naša autohtona krupna divljač rasprostranjena na gotovo cijelom teritoriju Hrvatske. Njegova su najupečatljivija oznaka kranijalni izdanci koje još nazivamo rogovljem (Janicki i sur., 2007.; Chen i sur., 2009.). Rogovlje punorožaca parne su koštane strukture koje rastu s koštanih nastavaka čeonih kostiju (rožišta) u pravilnim ciklusima svake godine kada je riječ o vrstama iz umjerenog klimatskog područja (Konjević i sur., 2005.). Dok je rogovlje u svojoj građi puna kost, rogovi šupljorožaca sastoje se od rožišta, takozvanog živca i rožine (Janicki i sur., 2007.), pa dio stručnjaka stoga i predlaže različite nazive, kako je to i u engleskoj terminologiji (*antlers* – rogovlje, *horns* – rogovi). Anatomski gledano, rogovlje se sastoji od trajnog dijela (rožišta) i promjenjivog dijela (grana s parošcima) (Geist, 1998.; Crigel i sur., 2001.). Ova se podjela razlikuje od autora do autora, pa tako u lovačkoj terminologiji rogovlje u smislu trofeja jesu obje grane s parošcima i dijelom lubanje ili cijelom lubanjom. Nasuprot tome, u užem smislu rogovlje čine samo grane s parošcima.

U većine vrsta jelena rogovlje nose samo mužjaci, a njihov je oblik vrsno specifičan te se čak upotrebljava i u taksonomske svrhe. Iznimka je sob, odnosno karibu (*Rangifer tarandus* L.), kod kojega oba spola imaju rogovlje te, suprotno tome, vodeni jelen (*Hydropterus inermis* L.) kod kojega u uobičajenim okolnostima ni jedan spol nema ni rožišta ni rogovlja (Bubenik i Bubenik, 1990.; Hall, 2015.; Landete-Castillejos i sur., 2019.; Heckeberg i sur., 2022.). Rogovlje kao sekundarno spolno obilježje vizualni je znak društvene hijerarhije i služi u pokaznim i borbenim interakcijama u sezoni parenja (Clutton-Brock, 1982.; Geist, 1998.). Društvenu hijerarhiju mužjaci postižu međusobno uspoređujući veličinu i izgled rogovlja, isprva bez fizičkog kontakta. Ako na taj način ne uspostave hijerarhiju, dolazi do međusobne borbe u kojoj rogovlje koriste kao oružje, početno u udarcima, a nakon toga u naguravanju. Tijekom borbi katkad dolazi do lomljenja vrhova parožaka ili čak većih dijelova rogovlja. Također, jeleni se rogovljem

koriste i za označavanje teritorija trljajući se njime o grmlje, lišće i koru drveća (Jin i Shipman, 2010.).

U jelenske teladi rožište počinje rasti u dobi od oko osam mjeseci, dok prvo rogovlje raste u dobi od približno jedne godine. Nakon odbacivanja prvog rogovlja mužjak ulazi u redoviti godišnji ciklus rasta i odbacivanja rogovlja koji se sastoji od sljedećih faza: (1) rast rogovlja, (2) mineralizacija, (3) skidanje basta (specifične kože koja prekriva rastuće rogovlje) i (4) odbacivanje rogovlja (Janicki i sur., 2007.). U prosjeku su potrebna oko četiri mjeseca za dovršetak faze rasta, što rogovlje čini jednim od najbrže rastućih tkiva sisavaca (Chapman, 1975.; Goss, 1983.; Gómez i sur., 2013.; Wang i sur., 2019.). U prirodnim okolnostima u odraslih mužjaka jelena običnoga rogovlje počinje rasti u proljeće (kraj veljače – početak ožujka), dok u srpnju/kolovozi, neposredno pred riku, dolazi do skidanja basta (Gómez i sur., 2022.). Tijekom rasta rogovlja razina je testosterona u krvi niska, dok porast razine ovog hormona neposredno pred riku dovodi do okoštavanja rogovlja i skidanja basta (Suttie i sur., 1995.). Ponovni pad razine testosterona nakon rike stimulira aktivnost osteoklasta u rožištu što dovodi do slabljenja veze rožište – grana roga i, posljedično, odbacivanja rogovlja (Waldo i sur., 1949.; Kierdorf i sur., 2013.).

Značajke kosti i rogovlja

Mineralizirano rogovlje sastoji se od dvaju glavnih područja: središnje spužvaste, tj. trabekularne kosti (lat. *substantia spongiosa* v. *trabecularis*) okružene kompaktnom (lat. *substantia compacta*). Spužvasta kost sastoji se od helikoidnih koštanih struktura u kojima koštane gredice oblikuju tubularne šupljine paralelne s podužnom osi rogovlja. Kompakta je izgrađena od osteona lamelarne strukture te sadržava kolagena vlakna tipa I i kalcijev fosfat (hidroksiapatit) (Currey, 2002.). Najveći dio kompakte sastoji se od primarnih osteona različita oblika koji često sadržavaju više krvnih kanala (Kierdorf i sur., 2013.). Sekundarni su osteoni mali, rijetki i okruženi cementnom linijom koja je rezultat nejednake resorpcije prethodno formiranog koštanog tkiva (Gómez i sur., 2013.). Ostaci mineralizirane hrskavice (intenzivnija

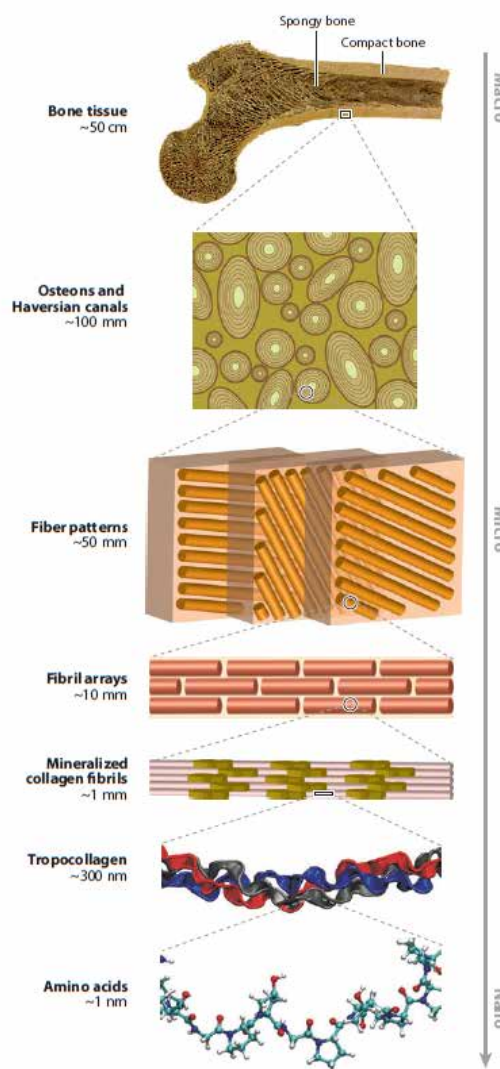


Slika 1. Poprečni presjek rogovlja jelena običnoga od proksimalnog dijela prema distalnom

mineralizacija hrskavičnog matriksa u usporedbi s koštanim matriksom) unutar kompakte, posebice distalnih dijelova rogovlja (prema vrhu), upućuju na nepotpunu zamjenu hrskavice, najvjerojatnije zbog kratkog života rogovlja (Gómez i sur., 2013.; Kierdorf i sur., 2013., 2022.). Sekundarni osteoni nastaju prilikom kontinuirane pregradnje kosti kao odgovor na mehanički stres. Nedostatak sekundarnih osteona u rogovlju također se može pripisati kratkom životnom vijeku rogovlja zbog kojega nije moguća znatnija pregradnja (Krauss i sur., 2011.; Gomez i sur., 2013.; Kierdorf i sur., 2013.; Skedros i sur., 2014.).

Kompaktna i spužvasta kost razlikuju se u poroznosti i koštanoj masi. U dobro oblikovanom rogovlju kompakta ima manju poroznost (manje od 5 %) od spužvaste kosti (preko 60 %). Kompakta čini većinu mineraliziranog područja rogovlja (slika 1), a njezina debljina smanjuje se od proksimalnog dijela rogovlja (dio bliži glavi) prema njegovu distalnom dijelu (prema vrhu) (Landete-Castillejos i sur., 2019.).

U mehanička svojstva kosti ubrajaju se njihova krutost (otpornost na elastičnu deformaciju), čvrstoća (otpornost na plastičnu deformaciju) i žilavost (otpornost na lom) (Launey i sur., 2010.). S obzirom na to da su mehanička svojstva rogovlja povezana s njihovom histološkom strukturom, u kompakti su procijenjeni razni histološki parametri, poput poroznosti, broja lakuna, primarnih i sekundarnih osteona te orijentacije kolagenih vlakana, što je ujedno i najvažniji parametar (Skedros i sur., 2006.; Picavet i Balligand, 2016.). Gledajući poprečan presjek rogovlja polariziranim svjetlom većina strukture primarnih osteona izgleda tamno, što upućuje na podužnu orijentaciju kolagenih vlakana, dok je periferija oste-



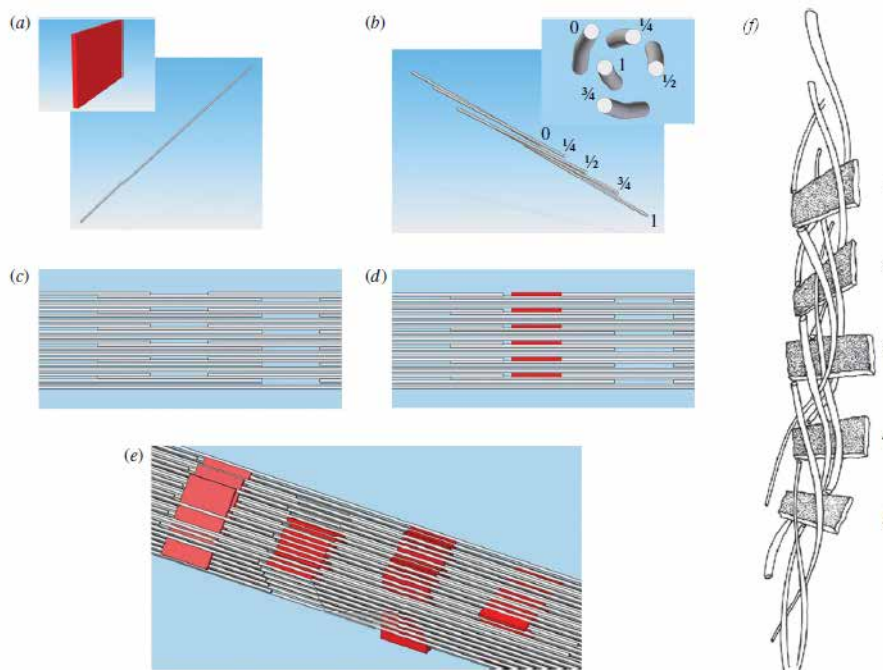
Slika 2. Građa kosti (izvor Launey i sur., 2010.)

ona svijetla, što upućuje na okomitu orijentiranost kolagenih vlakana u odnosu na put svjetlosti (Krauss i sur., 2011.; Skedros i sur., 2014.).

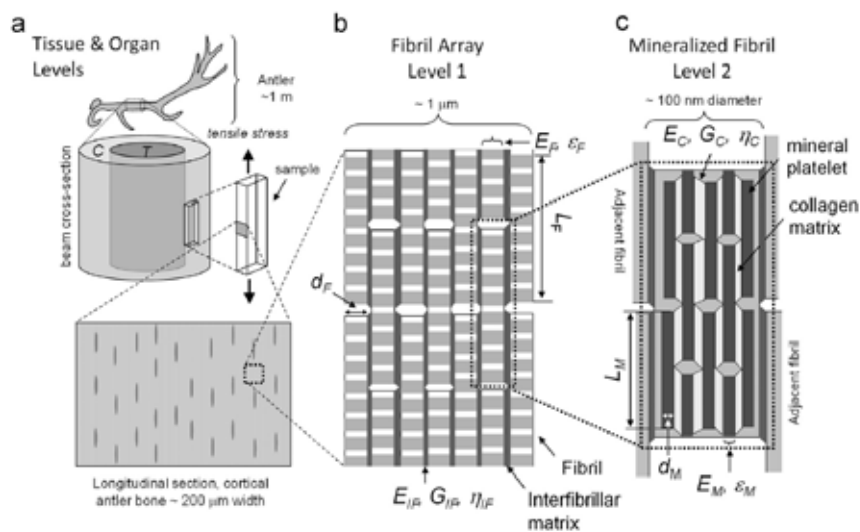
Uz sastav rogovlja (hidroksiapatit, kolagen, nekolageni proteini i voda) i njihova mikrostruktura slična je onoj u dugim kostima sisavaca (Currey, 2002.; Gomez i sur., 2013.; Picavet i Balligand, 2016.). U kompaktnoj kosti (slika 2) kolagena vlakna tipa I i hidroksiapatit raspoređeni su u osteone, a u spužvastoj kosti u lamelarnu strukturu (Currey, 1979.).

Osteoni se sastoje od različitog broja koncentričnih lamela koje okružuju središnji, Haversov kanal. Svaka lamela sadržava paralelno usmjerena kolagena vlakna. U susjednim su lamelama kolagena vlakna usmjerena u različitim smjerovima, tvoreći mrežu koja daje stabilnost kosti pod silama pritiska i napetosti (Liebich, 2019.).

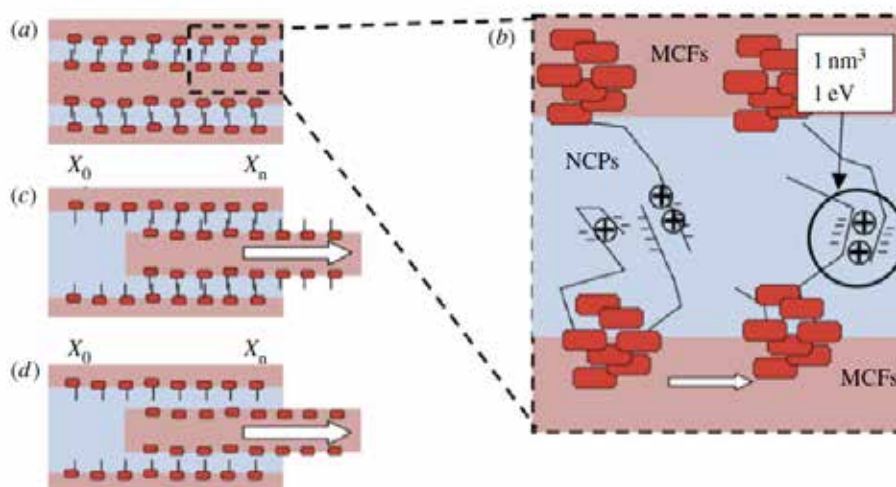
Na slici 3 shematski je prikazana građa mineraliziranih kolagenih vlaknaca, gdje su kolagena vlaknaca sive boje, a minerali crvene. Na slici 3.b vid-



Slika 3. Shematski prikaz mikrostrukturne građe kosti (izvor Alexander i sur., 2012.)



Slika 4. Shematski prikaz mikrostrukturne građe rogovlja (izvor Gupta i sur., 2013.)



Slika 5. Shematski prikaz ionskog vezanja u nekolagenom proteinskom području (engl. non-collagenous protein, NCP) (izvor Hang i sur., 2014.)

ljivo je da osnovnu građu kolagenog vlakanca čini pet molekula kolagena čiji su počeci u podužnoj liniji zamaknuti za četvrtinu dužine. Između vlaknaca u podužnoj liniji postoji slobodan prostor (slika 3.c) u kojemu se nakupljaju minerali (slika 3.d). Trodimenzionalno, minerali se lateralno u susjednim vlakancima spajaju u ploču (slika 3.e). Precizan raspored molekula kolagena u pojedinom kolagenom vlakancu helikoidne je strukture (slika 3.f).

Unatoč navedenom, postoje određene razlike između rogovlja i kosti. Rogovlje sadržava više organske tvari te manji volumni postotak minerala (~ 30 %) u usporedbi s kostima (~ 40 %) (Currey, 1979., 2002.). Nadalje, rogovlje se uglavnom sastoji od primarnih osteona, dok se većina cjevastih kostiju odraslih jedinki sastoji od sekundarnih osteona i starije intersticijske kosti (Skedros i sur., 1995.). Jedna je od razlika i funkcija kostiju odnosno rogovlja. Dok rogovlje ponajprije služi kao sekundarna spolna oznaka i treba biti spremno i za eventualnu borbu s drugim jelenom, funkcije su kosti višestruke. One formiraju kostur tijela, osiguravaju mjesta pričvršćivanja mišića i čine strukturni okvir prsne i trbušne šupljine. Također, kost sadržava krvotvorno tkivo (koštanu srž) i služi kao spremnik za razne minerale (Liebich, 2019.).

Na podužnom presjeku rogovlja unutar kolagenog vlakna nalaze se mineralizirana kolagena vlaknca položena paralelno jedno uz drugo u smjeru podužne osi roga (slika 4.b). Kolagena su vlakna dužine preko 10 μm . Na slici 4.c prikazana je građa mineraliziranog kolagenog vlakanca koje se sastoji od kolagenog matriksa (odnosno molekula kolagena) i mineraliziranih pločica. Molekule kolagena podužno

su raspoređene u nizu i međusobno povezane mineraliziranim pločicama. Nizovi molekula kolagena i mineraliziranih pločica izmjenjuju se paralelno jedan uz drugi.

Gledajući nanostrukturnu građu (slika 5), glavni su strukturni sastojci rogovlja mineralizirana kolagena vlaknca međusobno povezana nekolagenim proteinskim područjima. Ta su područja veličine 1 – 2 nm, čine ih brojni proteini, a ponajprije osteopontin i proteoglikanske veze između kolagenih vlaknaca. Na slici 5.a i 5.b crveni kvadratići označuju kristale minerala, svjetlocrveno područje kolageno vlaknce, a zajedno čine mineralizirano kolageno vlaknce (engl. mineralized collagen fibril, MCF). Negativno nabijene proteinske molekule povezane su s pozitivno nabijenim dvovalentnim kalcijevim ionima. Strelice pokazuju kretanje mineraliziranog kolagenog vlakanca koje uzrokuje klizanje u nekolagenom proteinskom području tijekom pojedinačnog izvlačenja mineraliziranog kolagenog vlakanca zbog djelovanja vanjske sile. Dva granična stanja međusobnog povezivanja vlaknaca prikazana su na slikama 5.c i 5.d. Ovisno o jačini sile koja djeluje na vlaknce, u prvom se slučaju ionske veze reverzibilno ponovno stvaraju, dok u drugom slučaju nema ponovnog stvaranja ionskih veza. Žilavost rogovlja proizlazi iz samog proteinskog sastava nekolagenog proteinskog područja, zbog nedostatka specifičnih proteina koji bi rezultirali elastičnošću. Nedostatak elastičnosti rogovlja dovodi do nastanka plastičnosti prilikom mikroozljedama što im daje veću čvrstoću i spremnost za međusobnu borbu (Hang i sur., 2014.). Ovdje se ne smiju zanemariti ni svojstva biomehanike i prijenos

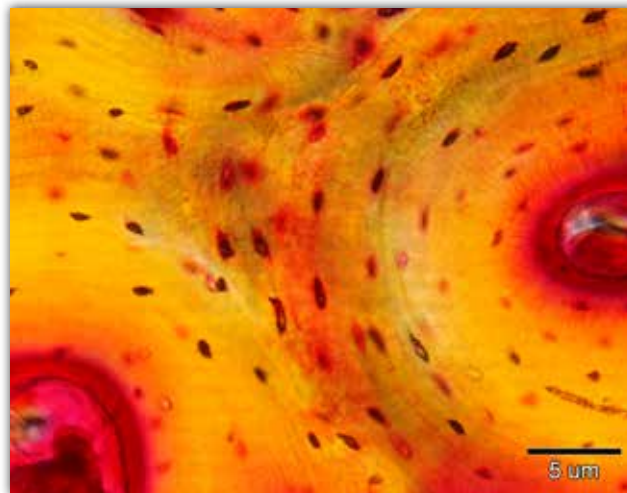
sa sila putem rogovlja na jaki i elastični vrat jelena, čime se upija određena količina sile, čuvajući rogovlje od lomova. Također, istraživanje Gupte i suradnika (2013.) dokazuje da intrafibrilarno klizanje između minerala i kolagena dovodi do trajnog plastičnog naprezanja i na razini vlaknaca i na razini tkiva te da je intrafibrilarna plastičnost dominantan mehanizam za ekstremnu žilavost rogovlja. Žilavost i naprezanje do pucanja mnogo su veći kod rogovlja, čak 2 – 3 puta (Currey, 2002.; Currey i sur., 2009.) u usporedbi s drugim vrstama kostiju.

Priprema uzoraka rogovlja za izradu histološkog preparata

Za proučavanje strukture rogovlja potrebno je izraditi histološki preparat. S obzirom na to da postoje razne metode pripreme histoloških preparata, odabir odgovarajuće metode ovisi o ciljevima istraživanja ili analize. Za dobivanje malih koštanih uzoraka rogovlja pogodnih za fiksaciju i daljnju obradu u prvom je redu potrebno koristiti se različitim vrstama pila (Suvarna i sur., 2019.). Zbog očuvanja strukture uzorka rogovlja najčešće se upotrebljavaju pile s vodenim hlađenjem i dijamantnim reznim pločama. Nakon rezanja uzorci se fiksiraju, a izbor fiksativa ovisi o uklopnom sredstvu. Kod uklopa tkiva kosti u parafin najčešće se koristi 10 %-tni neutralni puferirani formalin (Suvarna i sur., 2019.), dok se kod uklopa u plastiku (slika 6) osim formalina može upotrijebiti i 70 %-tni etanol. Istraživanja na rogovlju najčešće se provode na mineraliziranim uzorcima uklopljenima u plastiku (Gomez i sur., 2013.; Landete-Castillejos i sur., 2019.; Kierdorf i sur., 2022.). Postoje tehnike bojenja i za svježe ili fiksirane neuklopljene uzorke

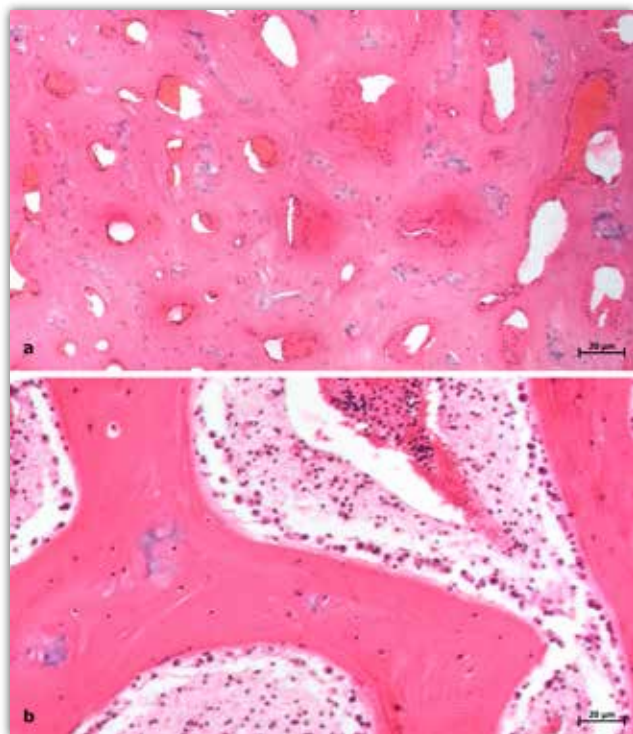


Slika 6. Uzorci rogovlja uklopljeni u plastiku (Biodur@)



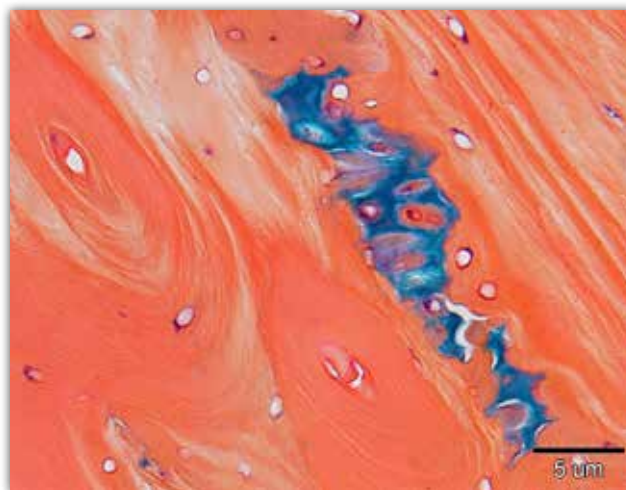
Slika 7. Villanueva – četverobojno bojenje za kosti, debljina uzorka rogovlja 100 µm. Lamelle, kružno raspoređene oko Haversova kanala žutonarančaste boje, osteociti i kanalikuli crvene (Olympus BX41).

mineralizirane kosti (Frost – bojenje fuksinom, Villanueva – bojenje za kosti, Villanueva – četverobojno bojenje za kosti; slika 7) (Sheehan i Hrapchak, 1980.). No da bi se dobio tkivni isječak debljine od 3 do 10 µm, tkivo je potrebno demineralizirati, tj. dekalificirati. Dekalcifikacija je proces uklanjanja kalcijevih soli iz kosti ili drugog kalcificiranog tkiva. Uzorci se dekalificiraju pomoću kiselina (koje stvaraju topljive kalcijeve soli) ili kelatnih sredstava (vežu se na ione kalcija i magnezija). Kiseline mogu biti jake anorganske (dušična, klorovodična) i slabe organske (mrvlja, octena, pikrinska). Kelatno sredstvo koje se upotrebljava za dekalifikaciju jest etilendiamin-tetraoctena kiselina (EDTA) (Suvarna i sur., 2019.). Prilikom tog procesa isječak rogovlja treba zamotati u gazu i objesiti u sredinu posude napunjene odabranim dekalifikacijskim sredstvom (100 puta veći volumen otopine od veličine uzorka) (Sheehan i Hrapchak, 1980.). Posuda u kojoj je uzorak može se staviti na tresilicu (engl. *shaker*) kako bi se otopina stalno miješala. Dekalcifikacijsko sredstvo potrebno je redovito mijenjati, a probom savijanja uzorka redovito provjeravati stupanj dekalifikacije (kod proksimalnih dijelova rogovlja s debljom kompaktom sam proces dekalifikacije dulje traje). Izbor dekalifikacijskog sredstva ovisi o nekoliko međuovisnih čimbenika (hitnosti, stupnju mineralizacije, opsegu istraživanja i potrebnim tehnikama bojenja). Prije postupka dekalifikacije uzorci kosti trebaju biti u potpunosti fiksirani kako bi se sačuvalo tkivo od štetnih učinaka dekalifikacijskog sredstva. Fiksativi na bazi alkohola ne preporučuju se za kosti namijenjene dekalifikaciji jer alkohol može usporiti ili čak i spriječiti dekalifikaciju (Suvarna i sur., 2019.). Čimbenici koji



Slika 8. Prikaz strukture rogovlja pred odbacivanjem bosta. Acidofilno obojena kolagena vlakna (koštano tkivo), bazofilno obojene jezgre stanica i hrskavično tkivo, HE (Zeiss AXIO Vert.A1; a – objektiv 10 x, b – objektiv 20 x).

utječu na brzinu dekalifikacije jesu veličina i debljina uzorka, dob životinje, vrsta kosti, koncentracija i volumen aktivne tvari, temperatura, pH otopine, miješanje otopine i vakuum (Urban, 1981.; Suvarna i sur., 2019.). Katkad je čak i nakon dekalifikacije gusti kolagen kompaktne kosti tvrd i ima tendenciju stvrdnjavanja nakon obrade parafinom (Suvarna i sur., 2019.). Sljedeći je korak rezanje pripremljenog uzorka. Za uzorke kosti uklopljene u parafin koje je potrebno rezati mikrotomom postoji velik izbor oštrica i noževa (čelični, volfram-karbid) koje se uobičajeno upotrebljavaju. S obzirom na to da je rogovlje tvrda i gusta kost, njegovo je rezanje uobičajenim oštricama teško, pa je u tu svrhu bolje koristiti se nožem. To pak zahtijeva odgovarajući držač, a sam je nož potrebno redovito oštriti. Općenito se tvrda tkiva lakše režu ako se ohlade u zamrzivaču kratko vrijeme ili ako se tijekom rezanja hlade ledom. Optimalna je debljina rezova kosti od 4 do 5 μm (Suvarna i sur., 2019.). Izrezane uzorke tkiva treba postaviti na predmetno stakalce. Izrezani isječki kosti u pravilu dobro prijanjaju na predmetno stakalce ako je ono premazano nekom vrstom ljepljiva. Postoje različite vrste stakalaca koja se u tu svrhu mogu upotrijebiti, poput primjerice silaniziranih ili onih prekrivenih poli-L-lizinom. Također, postoje i druge metode učvršćivanja koštanih isječaka na staklo. Jedna je od metoda



Slika 9. Modificirano bojenje za prikaz okoštavanja rogovlja. Narandžasto područje prikazuje koštano tkivo, dok plavo prikazuje hrskavično tkivo (Olympus BX41).

za učvršćivanje uzoraka rogovlja dodavanje želatine u vodenu kupelj (Suvarna i sur., 2019.). Time se postiže bolje prijanjanje i smanjuje odljepljivanje uzorka od stakalca. Postavljanjem uzoraka na stakalce oni su spremni za bojenje. Za prikaz strukture rogovlja primjenjuje se rutinska metoda bojenja hematoksilin-eozin (slika 8), dok se za razlikovanje hrskavičnog od koštanog tkiva može primijeniti modificirano bojenje za prikaz okoštavanja (slika 9).

Zaključak

Iako je rogovlje prema definiciji, strukturi i sastavu prava kost, između ovih dvaju organa ipak postoje brojne razlike. Jedna je od njih redovita regeneracija rogovlja, pri kojoj se staro rogovlje odbacuje kako bi bilo zamijenjeno novim, u pravilu većim do određene dobi životinje (lovnogospodarska dob). Prilikom kratke faze mineralizacije rogovlja, zbog velike potrebe za mineralima u kratkom razdoblju, organizam povlači nužan kalcij iz svojih zaliha u kostima, a kasnije ga nadoknađuje putem hrane. Kako bi mogao izgraditi što veće rogovlje specifične arhitekture koja mu daje čvrstoću za borbu, a uštedjeti na količini utrošenog kalcija, kompakta u rogovlju je tanja prema njegovom distalnom dijelu, dok je spužvasti dio mnogo deblji. Smjer kolagenih vlakana i njihova međusobna povezanost mineralnim pločicama kostima daje veliku elastičnost, dok kod rogovlja uzrokuje snažnu plastičnost i čvrstoću. Ta plastičnost omogućuje rogovlju spremnost za borbu i daje im čvrstoću po podužnoj osi, a osjetljiviji su na bočne udarce.

Literatura

- ALEXANDER, B., T. L. DAULTON, G. M. GENIN, J. LIPNER, J. D. PASTERIS, B. WOPENKA, S. THOMOPOULOS (2012): The nanometre-scale physiology of bone: steric modelling and scanning transmission electron microscopy of collagen-mineral structure. *J. R. Soc. Interface* 9, 1774–1786. doi:10.1098/rsif.2011.0880.
- BUBENIK, G. A., A. B. BUBENIK (1990): *Horns, Pronghorns, and Antlers: Evolution, Morphology, Physiology, and Social Significance*. Springer Verlag, New York, USA.
- CHAPMAN, D. I. (1975): Antlers-bones of contention. *Mamm. Rev.* 5, 121-172. doi:10.1111/j.1365-2907.1975.tb00194.x.
- CHEN, P. – Y., A. G. STOKES, J. MCKITTRICK (2009): Comparison of the structure and mechanical properties of bovine femur bone and antler of the North American elk (*Cervus elaphus canadensis*). *Acta Biomater.* 5, 693-706. doi:10.1016/j.actbio.2008.09.011.
- CLUTTON-BROCK, T. H. (1982): The function of antlers. *Behaviour* 79, 108-125. doi: 10.1163/156853982X00201.
- CRIGEL, M. – H., M. BALLIGAND, E. HEINEN (2001): Les bois de cerf: revue de littérature scientifique. *Ann. Med. Vet.* 145, 25-38.
- CURREY, J. D. (1979): Mechanical properties of bone tissues with greatly different functions. *J. Biomech.* 12, 313–319. doi: 10.1016/0021-9290(79)90073-3.
- CURREY, J. D. (2002): *Bones: Structure and Mechanics*, Princeton University Press, Princeton, USA.
- CURREY, J. D., T. LANDETE-CASTILLEJOS, J. A. ESTEVEZ, A. OLUGIN, A. J. GARCIA, L. GALLEG0 (2009): The Young's modulus and impact energy absorption of wet and dry bone. *Open Bone J.* 1, 38–45. doi:10.2174/1876525400901010038.
- GEIST, V. (1998): *Deer of the World, their Evolution, Behavior, and Ecology*. Stackpole Books, Mechanisburg.
- GÓMEZ, J. A., J. PÉREZ-BARBERÍA, A. J. GARCÍA, J. CAPPELLI, L. CHONCO, F. CEACERO, M. PÉREZ-SERRANO, T. LANDETECASTILLEJOS (2022): Factors affecting antler growth period and casting date in red deer. *J. Mammal.* 103, 169-177. doi:10.1093/jmammal/gyab097.
- GÓMEZ, S., A. J. GARCIA, S. LUNA, U. KIERDORF, H. KIERDORF, L. GALLEG0, T. LANDETE-CASTILLEJOS (2013): Labelling studies on cortical bone formation in the antlers of red deer (*Cervus elaphus*). *Bone* 52, 506-515. doi:10.1016/j.bone.2012.09.015.
- GOSS, R. J. (1983): *Deer Antlers. Regeneration, Function, and Evolution*, Academic Press, New York, USA.
- GUPTA, H. S., S. KRAUSS, M. KERSCHNITZKI, A. KARUNARATNE, J. W. C. DUNLOP, A. H. BARBER, P. BOESECKE, S. S. FUNARI, P. FRATZL (2013): Intrafibrillar plasticity through mineral/collagen sliding is the dominant mechanism for the extreme toughness of antler bone. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 28, 366-382. doi:10.1016/j.jmbbm.2013.03.020.
- HALL, B. K. (2015): *Bones and Cartilage: Developmental and Evolutionary Skeletal Biology* (Second edition), Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.
- HANG, F., H. S. GUPTA, A. H. BARBER (2014): Nanointerfacial strength between non-collagenous protein and collagen fibrils in antler bone. *J. R. Soc. Interface* 11, 20130993. doi:10.1098/rsif.2013.0993.
- HECKEBERG, N. S., F. E. ZACHOS, U. KIERDORF (2022): Antler tine homologies and cervid systematics – a review of past and present controversies with special emphasis on *Elaphurus davidianus*. *Anat. Rec.* 306, 1-24. doi:10.1002/ar.24956.
- JANICKI, Z., A. SLAVICA, D. KONJEVIĆ, K. SEVERIN (2007): *Zoologija divljači. Zavod za biologiju, patologiju i uzgoj divljači Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska (17-22)*.
- JIN, J. J. H., P. SHIPMAN (2010): Documenting natural wear on antlers: A first step in identifying use-wear on purported antler tools. *Quat. Int.* 211, 91-102. doi:10.1016/j.quaint.2009.06.023.
- KIERDORF, U., S. FLOHR, S. GOMEZ, T. LANDETE-CASTILLEJOS, H. KIERDORF (2013): The structure of pedicle and hard antler bone in the European roe deer (*Capreolus capreolus*): a light microscope and backscattered electron imaging study. *J. Anat.* 223, 364–384. doi:10.1111/joa.12091.
- KIERDORF, U., S. R. STOCK, S. GOMEZ, O. ANTIPOVA, H. KIERDORF (2022): Distribution, structure, and mineralization of calcified cartilage remnants in hard antlers. *Bone Rep.* 16, 101571. doi:10.1016/j.bonr.2022.101571.
- KONJEVIĆ, D., G. A. BUBENIK, Z. JANICKI (2005): Rogovlje u bastu kao medicinski pripravak i do-datak prehrani. *Meso* 8, 45-51.
- KRAUSS, S., W. WAGEMEIER, J. A. ESTÉVEZ, J. D. CURREY, P. FRATZL (2011): Tubular frameworks guiding orderly bone formation in the antler of the

- red deer (*Cervus elaphus*), Bone 175, 457-464. doi:10.1016/j.jsb.2011.06.005.
- LANDETE-CASTILLEJOS, T., H. KIERDORF, S. GOMEZ, S. LUNA, A. J. GARCIA, J. CAPPELLI, M. PÉREZ-SERRANO, J. PÉREZBARBERÍA, L. GALLEGO, U. KIERDORF (2019): Antlers - Evolution, development, structure, composition, and biomechanics of an outstanding type of bone. Bone 128, 115046. doi:10.1016/j.bone.2019.115046.
 - LAUNEY, M. E., M. J. BUEHLER, R. O. RITCHIE (2010): On the Mechanistic Origins of Toughness in Bone. Annu. Rev. Mater. Res. 40, 25-53. doi:10.1146/annurev-matsci-070909-104427.
 - LIEBICH, H.-G. (2019): Veterinary Histology of Domestic Mammals and Birds. 5th Edition. Textbook and Colour Atlas. 5M Publishing Ltd, UK.
 - PICAUVET, P. P., M. BALLIGAND (2016): Organic and mechanical properties of Cervidae antlers: a review. Vet. Res. Commun. 40, 141-147. doi:10.1007/s11259-016-9663-8.
 - SHEEHAN, D. C., B. B. HRAPCHAK (1980): Theory and Practice of Histotechnology. Battelle Press, Columbus, Ohio, USA (89-107).
 - SKEDROS, J. G., P. DURAND, R. D. BLOEBAUM (1995): Hypermineralized peripheral lamellae in primary osteons of deer antler: potential functional analogs of cement lines in mammalian secondary bone. J. Bone Miner. Res. 10, 441.
 - SKEDROS, J. G., K. E. KEENAN, D. M. L. COOPER, R. D. BLOEBAUM (2014): Histocompositional organization and toughening mechanisms in antler. J. Struct. Biol. 187, 129-148. doi:10.1016/j.jsb.2014.06.004.
 - SKEDROS, J. G., M. R. DAYTON, C. L. SYBROWSKY, R. D. BLOEBAUM, K. N. BACHUS (2006): The influence of collagen fiber orientation and other histocompositional characteristics on the mechanical properties of equine cortical bone. J. Exp. Biol. 209, 30025-30042, doi:10.1242/jeb.02304.
 - SUTTIE, J. M., P. F. FENNESSY, K. R. LAPWOOD, I. D. CORSON (1995): Role of steroids in antler growth of red deer stags. J. Exp. Zool. 271, 120-130. doi:10.1002/jez.1402710207.
 - SUVARNA, S. K., C. LAYTON, J. D. BANCROFT (2019): Suvarna Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone Elsevier, London, UK (280-305).
 - URBAN, K. (1981): Routine Decalcification of Bone. Lab. Med. 12, 207-212. doi:10.1093/labmed/12.4.207.
 - WALDO, C. M., G. B. WISLOCKI, D. W. FAWCETT (1949): Observations on the blood supply of growing antlers. Am. J. Anat. 84, 27-61. doi: 10.1002/aja.1000840103.
 - WANG, Y., C. ZHANG, N. WANG, Z. LI, R. HELLER, R. LIU, Y. ZHAO, J. HAN, X. PAN, Z. ZHENG, X. DAI, C. CHEN, M. DOU, S. PENG, X. CHEN, J. LIU, M. LI, K. WANG, C. LIU, Z. LIN, L. CHEN, F. HAO, W. ZHU, C. SONG, C. ZHAO, C. ZHENG, J. WANG, S. HU, C. LI, H. YANG, L. JIANG, G. LI, M. LIU, T. S. SONSTEGARD, G. ZHANG, Y. JIANG, W. WANG, Q. QIU (2019): Genetic basis of ruminant headgear and rapid antler regeneration. Science 364, 6446. doi: 10.1126/science.aav6335.