



UNIVERZITET U BANJOJ LUCI  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET



mr Maja Manojlović

**EKOTOKSIKOLOŠKA ISTRAŽIVANJA INTOKSIKACIJE  
OLOVO-ACETATOM I ALLOXAN-OM WISTAR PACOVA INFIGIRANIH  
EŠERIHIJOM (*Escherichia coli*)**

*Doktorska teza*

Mentori: dr Ivica Radović, redovni profesor  
dr Radoslav Dekić, vanredni profesor

Banja Luka, 2016.

*Eksperimentalni dio rada je urađen u vivarijumu (štalici) Prirodno – matematičkog fakulteta u Banjaluci, čije uspostavljanje su omogućili prof. dr Rajko Grjato, prof. dr Mitar Novaković i prof. dr Radoslav Dekić, te im se ovom prilikom zahvaljujem, a posebnu zahvalnost upućujem i Ministarstvu nauke i tehnologije, kroz čije je projekte financirano održavanje štalice, kao i izrada ove doktorske teze.*

*Ne mogu da ne pomenem pokojnog prof. dr Milenka Radevića, koji je prepoznao potencijal u meni i pružio mi mogućnost da postanem dio kolektiva Prirodno-matematičkog fakulteta.*

*Posebnu zahvalnost iskazujem prof. dr Ivici Radoviću i prof. dr Radoslavu Dekiću, svojim uvažanim mentorima, koji su me stručnim znanjem nesebično vodili u izradi doktorskog rada, kao i doc. dr Svyetani Lolić, na korisnim savjetima, kako u praktičnom, tako i u teoretskom dijelu teze.*

*Zahvaljujem se i Sanji Karajlić koja mi je, što radom što razumijevanjem, bila izuzetna podrška svo vrijeme, Milici Balaban, mom nepresušnom izvoru informacija, kao i svim dragim kolegama iz kancelarije 44, te ostalim divnim ljudima koji su mi pomogli u izvođenju eksperimenta i, što je još važnije, pružali mi prijateljstvo i razumijevanje tokom izrade ovog doktorskog rada.*

*Podrška porodica Radovanović, Manojlović i Tešić mi je bila od neprocjenjivog značaja sve ove godine, a posebno ljubav i strpljenje mojih zvjezdica... za vas...*

*Marja,*

*Danilo,*

*Relja...*

## SAŽETAK

U okviru doktorske disertacije u laboratorijskim uslovima je praćen uticaj intoksikacije aloksanom, kao i olovo-acetatom uz prisustvo infekcije ešerihijom (*Escherichia coli*) na Wistar pacovima, 24h i 72h od intraperitonealne aplikacije bakterijske suspenzije ( $3 \times 10^7$  CFU/ml).

Naime, istraživanja pokazuju da su nakon infekcije *Escherichia coli* koja je započela u Njemačkoj 2011. godine, zapažene ozbiljnije komplikacije, pri čemu je uočeno kod pedijatrijskih pacijenata, usljed oštećenja pankreasa, povećana incidenca inzulin zavisnog *diabetes mellitus*-a. Takođe, u krvi dijabetičara, u odnosu na nedijabetičare, javlja se signifikantno veća koncentracija olova i kadmijuma, praćena nedostatkom selena, što upućuje na zaključak da ovi toksični metali predstavljaju jedan od faktora patogeneze dijabetesa kod ljudi. Uočeno je i značajno povećanje koncentracije aloksana u krvi djece sa potvrđenom hiperglikemijom, pri čemu se zna da aloksan kod eksperimentalnih životinja izaziva dijabetes tipa 1.

Naša istraživanja su obuhvatala analizu morfometrijskih (prirast mase i organosomatski indeksi jetre, srca, bubrega, testisa i slezene) i hematoloških parametara (eritrogram i leukogram), a dobijeni podaci su obrađeni upotrebom statističkog paketa SPSS 20.0 (ANOVA, Post Hoc LSD test i Independent T Test).

Efekti intoksikacije olovo-acetatom i aloksanom se ogledaju u povećanju indeksa unutrašnjih organa i gubitkom tjelesne mase. Hematološki parametri crvene (ukupan broj eritrocita, koncentracija hemoglobina, vrijednosti hematokrita) i bijele loze bilježe pad, dok se u slučaju infekcije ešerihijom broj leukocita u krvi značajno povećao.

Pod sinergističkim dejstvom intoksikacije olovo-acetatom i aloksanom udruženim sa bakterijskom infekcijom došlo je do signifikantnih promjena posmatranih parametara, pri čemu se ističu: značajno povećanje organosomatskih indeksa bubrega, jetre i srca, smanjenje ukupnog broja eritrocita, koncentracije hemoglobina, vrijednosti hematokrita, kao i povećanje proporcije neutrofila (neutrofilija) praćeno smanjenim udjelom limfocita (limfopenija) u odnosu na jedinice kontrolne grupe. Promjene u hematološkom statusu su jedan od prvih pokazatelja promjena u stanju organizma, endogenog ili egzogenog porijekla i predstavljaju veoma važan indikator narušavanja životne sredine.

## SUMMARY

For the purpose of writing a doctoral thesis, the influence of intoxication with alloxan and lead acetate is observed on Wistar rats infected with *Escherichia coli* within the periods of 24 and 72 hours respectively after intraperitoneal administration of the bacterial suspension ( $3 \times 10^7$  CFU/ml).

In fact, studies show that after a mass infection with *Escherichia coli* that occurred in Germany in 2011 there were many serious complications, especially in pediatric patients. Due to the damage caused to pancreas, there was an increased incidence of insulin-dependent *diabetes mellitus*. Also, in the blood of the diabetics, compared to the non-diabetics there occurred significantly higher concentrations of lead and cadmium, and lack of selenium, which suggests that these toxic metals are a factor in the pathogenesis of diabetes in humans. Finally, a significant increase of alloxan's concentration in the blood of children with confirmed hyperglycaemia was observed, and it is common knowledge that in experimental animals alloxan causes Type I diabetes.

The research included a morphometric analysis (weight gain and indices of liver, heart, kidney, testis and spleen) and haematological parameters (eritrogram and leukogram), and the data obtained were processed with the SPSS 20.0 statistical package (ANOVA, Post Hoc LSD test and Independent T Test).

The intoxication with lead acetate and alloxan results in the increase of the indices of internal organs and decrease of the weight gain. The values of haematological parameters of red (the total number of erythrocytes, hemoglobin and hematocrit) and white blood cells decrease, while in the case of infection with *Escherichia* the number of leukocytes in the blood significantly increases.

Under the synergistic influence of intoxication with lead acetate and alloxan, combined with a bacterial infection, there comes to a significant change in the parameters observed, the most notable ones being increasing of the kidney, liver and heart indices, reducing of the total number of erythrocytes, concentration of hemoglobin and values of hematocrit, and an increased proportion of neutrophils (neutrophilia), followed by a reduced proportion of lymphocytes (lymphopenia) in relation to the control group. Changes in a haematological status are one of the first indicators of changes in the state of the organism and they are an important indicator of environmental degradation.



## SADRŽAJ:

<b>1. UVOD .....</b>	<b>11</b>
Cilj rada i očekivani rezultati.....	13
<b>2. OPŠTE KARAKTERISTIKE .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Olovo i njegov toksični efekat .....</b>	<b>16</b>
2.1.1 Toksični metali.....	16
2.1.2 Olovo .....	17
<b>2.2 Aloksan i njegovo dejstvo.....</b>	<b>23</b>
2.2.1 Aloksanski dijabetes .....	24
2.2.2 Diabetes mellitus.....	25
<b>2.3 <i>Escherichia coli</i> i efekti infekcije na životinjski i ljudski organizam.....</b>	<b>28</b>
<b>2.4. Oksidativni stres .....</b>	<b>32</b>
2.4.1. Olovo i oksidativni stres .....	33
2.4.2. Aloksan i oksidativni stres .....	34
2.4.3. <i>Escherichia coli</i> i oksidativni stres .....	36
<b>2.5 Laboratorijski pacov <i>Rattus norvegicus</i> soj Wistar, albino tip .....</b>	<b>37</b>
2.5.1. Biološki parametri laboratorijskog pacova <i>Rattus norvegicus</i> .....	38
2.5.2. Hematološki parametri laboratorijskog pacova <i>Rattus norvegicus</i> .....	43
<b>2.6 Krv .....</b>	<b>44</b>
2.6.1 Nastanak uobičenih elemenata krvi .....	45
2.6.2 Eritrociti .....	46
2.6.3 Leukociti .....	48
2.6.3.1 Granulociti .....	48
2.6.3.2 Agranulociti.....	50
<b>3. MATERIJAL I METODE RADA .....</b>	<b>51</b>
<b>3.1. Postavka eksperimenta .....</b>	<b>51</b>
3.1.1. Uzgoj i držanje eksperimentalnih jedinki .....	51
3.1.2. Bakterijska suspenzija.....	51
3.1.3. Tretman aloksanom.....	52
3.1.4. Tok eksperimenta.....	52

3.1.5. Anesteziranje životinja.....	52
3.1.6. Način žrtvovanja .....	53
<b>3.2. Uzimanje uzoraka krvi i određivanje hematoloških parametara.....</b>	<b>54</b>
<b>3.3. Morfometrijske metode i uzorkovanje unutrašnjih organa.....</b>	<b>55</b>
<b>3.4. Statistička obrada podataka .....</b>	<b>56</b>
<b>4. REZULTATI RADA I DISKUSIJA.....</b>	<b>57</b>
<b>4.1 Morfometrija.....</b>	<b>57</b>
4.1.1. Kontrolne jedinice (K-0).....	57
4.1.1.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h) .....	60
4.1.1.2 Morfometrijske karakteristike i pol .....	61
4.1.2. Kontrolne jedinice inficirane ešerihijom (K-E) .....	63
4.1.2.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h) .....	67
4.1.2.2 Morfometrijske karakteristike i pol .....	69
4.1.3. Tretman olovo-acetatom (Pb-0).....	71
4.1.3.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h) .....	74
4.1.3.2. Morfometrijske karakteristike i pol .....	76
4.1.4. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih olovo-acetatom (Pb-E).....	78
4.1.4.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h) .....	82
4.1.4.2. Morfometrijske karakteristike i pol .....	84
4.1.5. Tretman aloksanom (All-0).....	86
4.1.5.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h) .....	91
4.1.5.2. Morfometrijske karakteristike i pol .....	93
4.1.6. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih aloksanom (All-E) .....	94
4.1.6.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h) .....	97
4.1.6.2. Morfometrijske karakteristike i pol .....	99
4.1.7. Tretman aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-0) .....	101
4.1.7.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h) .....	105
4.1.7.2. Morfometrijske karakteristike i pol .....	107
4.1.8. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-E).....	109
4.1.8.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h) .....	115
4.1.8.2. Morfometrijske karakteristike i pol .....	117
4.1.9. Komparacija morfometrijskih vrijednosti tretiranih i kontrolnih jedinki .....	119
<b>4.2 Eritrocitni profil.....</b>	<b>126</b>
4.2.1. Kontrolne jedinice (K-0).....	126
4.2.1.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	129
4.2.1.2. Eritrogram i pol .....	130

4.2.2. Kontrolne jedinice inficirane ešerihijom (K-E) .....	132
4.2.2.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	135
4.2.2.2. Eritrogram i pol .....	136
4.2.3. Tretman olovo-acetatom (Pb-0) .....	138
4.2.3.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	141
4.2.3.2. Eritrogram i pol .....	142
4.2.4. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih olovo-acetatom (Pb-E).....	144
4.2.4.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	146
4.2.4.2. Eritrogram i pol .....	148
4.2.5. Tretman aloksanom (All-0).....	149
4.2.5.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	153
4.2.5.2. Eritrogram i pol .....	155
4.2.6. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih aloksanom (All-E) .....	156
4.2.6.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	159
4.2.6.2. Eritrogram i pol .....	161
4.2.7. Tretman aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-0) .....	162
4.2.7.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	167
4.2.7.2. Eritrogram i pol .....	168
4.2.8. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-E).....	170
4.2.8.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	174
4.2.8.2. Eritrogram i pol .....	175
4.2.9. Komparacija vrijednosti eritrograma tretiranih i kontrolnih jedinki .....	177
<b>4.3. Leukocitni profil .....</b>	<b>182</b>
4.3.1. Kontrolne jedinice (K-0).....	182
4.3.1.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	186
4.3.1.2. Leukogram i pol .....	187
4.3.2. Kontrolne jedinice inficirane ešerihijom (K-E) .....	189
4.3.2.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	193
4.3.2.2. Leukogram i pol .....	194
4.3.3. Tretman olovo-acetatom (Pb-0) .....	196
4.3.3.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	199
4.3.3.2. Leukogram i pol .....	200
4.3.4. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih olovo-acetatom (Pb-E).....	202
4.3.4.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	206
4.3.4.2. Leukogram i pol .....	207
4.3.5. Tretman aloksanom (All-0).....	209
4.3.5.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	211
4.3.5.2. Leukogram i pol .....	213
4.3.6. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih aloksanom (All-E) .....	214
4.3.6.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	217

4.3.6.2. Leukogram i pol .....	218
4.3.7. Tretman aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-0) .....	220
4.3.7.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	223
4.3.7.2. Leukogram i pol .....	224
4.3.8. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-E).....	226
4.3.8.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h).....	229
4.3.8.2. Leukogram i pol .....	230
4.3.9. Komparacija dobijenih vrijednosti leukograma tretiranih i kontrolnih jedinki .....	232
<b>5. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>238</b>
<b>6. LITERATURA.....</b>	<b>241</b>
<b>7. PRILOG.....</b>	<b>257</b>

## SKRAĆENICE:

- ADP** - adenzin-difostat,
- AOX** - antioksidativni sistem,
- ARDS** - sindrom akutnog respiratornog distresa (acute respiratory distress syndrome),
- ATP** - adenzin-trifosfat,
- AVG** - prosjek, srednja vrijednost,
- CAT** - katalaza,
- COV** - koeficijent variranja,
- CPS** - acidni kapsularni polisaharid,
- DAEC** - difuzno adherentna *E. coli*,
- DKS** - diferencijalna krvna slika,
- DM** - *diabetes mellitus*,
- DNK** - dezoksiribonukleinska kiselina,
- E** – eritrociti,
- EAEC** - enteroagregativna *E. coli*,
- EHEC** - enterohemoragična *E. coli*,
- EIEC** - enteroinvazivna *E. coli*,
- ETEC** - enterotoksična *E. coli*,
- ExPEC** - patotipovi *E. coli* uzročnici ekstraintestinalnih infekcija,
- GLUT 2** - transporter niskog afiniteta za glukozu, koji se nalazi na površini ćelija jetre, pankreasa i crijevnog epitela,
- GPx** - glutation peroksidaze,
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** - vodonik-peroksid,
- Hb** - hemoglobin,
- HC** - hemoragični kolitis,
- Hct** - hematokrit,
- HLA** (*Human Leukocyte Antigen*) - humani leukocitarni antigen (glavni sistem histokompatibilnosti),
- HUS** - hemolitičko-uremički sindrom,
- i.p.** - intraperitonealno,
- i.v.** - intravenski,

**i.m.** - intramuskularno,  
**IDDM** - Insulin zavisan dijabetes melitus,  
**IDF** - Internacionalna federacija za dijabetes,  
**L** - leukociti,  
**LPS** - lipopolisaharidi,  
**MAX** - maksimalna vrijednosti,  
**MCH** - srednja vrijednost količine Hb u eritrocitu  
**MCHC** - srednja vrijednost količine Hb u litru eritrocita,  
**MCV** - srednja vrijednost zapremine eritrocita,  
**MDA** - malondialdehid,  
**MIN** - minimalna vrijednost,  
**MNEC** - *E. coli* uzročnik meningitisa,  
**MPO** - mieloperoksidaza,  
**NADPH**- nikotinamid adenin dinukleotid fosfat  
**NIDDM** - Insulin nezavisan dijabetes melitus,  
**p.o.** - peroralno,  
**Px**- peroksidaza,  
**RNK** - ribonukleinska kiselina,  
**RES** - retikuloendotelijalni sistem,  
**ROS** (*reactive oxygen species*) - reaktivne kiseonične vrste,  
**s.c.** - subkutano, potkožno,  
**SOD**- superoksid dismutaza,  
**SR** - slobodni radikali,  
**STDEV** - standardna devijacija,  
**UPEC** - enteropatogena *E. coli*,  
**UTI** - infekcija urinarnog trakta,  
 $\bar{X}$  - srednja vrijednost.

## 1. UVOD

**Ekotoksikologija** prati i proučava promjene u ekosistemima (prirodnim i antropogenim) i biosferi u cjelini, koje su se dogodile i događaju se pod uticajem antropogenih aktivnosti (toksikološki pristup) i destruktivne promjene na nivou ekosistema i njegovu degradaciju i stabilizaciju (ekološki pristup) (Jablanović *et al.*, 2003). Termin ekotoksikologija, spoj ekologije i toksikologije, se u literaturi javlja krajem šesdesetih godina (Truhaut, 1977). Toksikologija istražuje efekte trovanja koji se ispoljavaju na nivou individue. Oboljenja koja izazivaju zagađujuće supstance u ljudskoj populaciji često su masovna i mogu imati epidemijski karakter. Klasična ekologija, kao biološka disciplina, proučava odnose biotičkih i abiotičkih komponenti u ekosistemima, ne zanemarujući jedinke. Izmjena samo jedne od komponenti (prvenstveno pojavom različitih polutanata) izaziva lančane promjene u cijelom ekosistemu. Ekotoksikologija, „kćerka“ ekologije i toksikologije, se bavi izvorima i vrstama zagađivanja ekosistema, odnosno životne sredine, prati njihovu sudbinu u ekosistemima (monitoring) i proučava štetne efekte zagađenja na fizičku sredinu i biološke sisteme, planira i sprovodi aktivnosti predviđanja mogućih posljedica, pronalazi mogućnosti zaštite životne sredine, koristeći različita sredstva i metode (Jablanović *et al.*, 2003).

U okviru ekotoksikoloških istraživanja koriste se brojni testovi (**OECD metode** – 201 Alga, Growth Inhibition Test, 202 Daphnia sp. Acute Immobilisation Test, 203 Fish, Acute Toxicity Test, 206 Avian Reproduction Test, 207 Earthworm, Acute Toxicity Tests, 208 Terrestrial Plants, Growth Test, 474 Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test, 475 Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test, 478 "Genetic Toxicology: Rodent Dominant Lethal Test" ..., **EU test metode**- C.1. Acute toxicity for fish, C.2. Daphnia sp. Acute immobilisation test, C.3. Algal inhibition test...). Uobičajeni ekotoksikološki testovi prvenstveno imaju za cilj utvrditi letalnu dozu toksikanta, kao i najveću dozvoljenu dozu za dnevni unos. U opsegu između ove dvije doze, javljaju se brojne biohemijske i fiziološke promjene u organizmu intoksikovane jedinke. Ove promjene variraju u zavisnosti od visine doze, kao i od vrste organizma. Dejstvo toksina se mijenja u interakciji sa drugim polutantima, kao i biotoksinima.

Pored određivanja letalne i najveće doze polutanta, izuzetno je značajno utvrditi efekte zajedničkog dejstva dva ili više polutanata na sisteme organa, reprodukciju i ponašanje jedinki.

Brojni polutanti mogu izazvati raznovrsne efekte u živim organizmima. Za ovaj eksperiment su odabrani **olovo-acetat, aloksan (*diabetes mellitus tip 1*) i *Escherichia coli***, čiji je uticaj praćen na Wistar pacovima.

Razlog za primjenu ovih toksikanata nalazi se u činjenici da je nakon infekcije *Escherichia coli* 2011. godine, koja je započela u Njemačkoj, postalo jasno da su teške dijareje izazvane ovom bakterijom često praćene ozbiljnijim komplikacijama. Evidentirano je da je u nekim težim slučajevima kod pacijenata došlo do renalnih komplikacija u vidu hemolitičkog uremijskog sindroma (HUS) (Wiwanitkit, 2011, Suri, 2009). HUS je poznat po povezanosti sa diabetesom. Usljed oštećenja pankreasa (Wiwanitkit, 2011, Robitaille, 1997), kod pedijatrijskih pacijenata zaraženih *Escherichia coli* uočena je povećana incidenca inzulin zavisnog *diabetes mellitus*-a. Obično je povezana sa otkazivanjem renalnih funkcija, kao posljedica hemolitičkog uremijskog sindroma (Taylor, 1986; al Herbish, 1992; Robitaille, 1997; Suri, 2005; Suri, 2009, Wiwanitkit, 2011). Suri i ostali govore kako “je kod pacijenata koji su prebolovali HUS praćen dijarejom povećan broj slučajeva dijabetesa usljed potpune deficijencije insulina, te se može vratiti nekoliko godina nakon početne infekcije” (Suri *et al.*,2009). Suri predlaže praćenje pacijenata radi dijabetesa usljed akutnog stanja i duže vrijeme nakon teške infekcije (Wiwanitkit, 2011; Suri *et al.*,2005).

Pored komplikacija u vidu HUS-a, infekcija ešerihijom kod dijabetičara može da dovede do razvoja peritonitisa. U animalnim studijama je potvrđeno da endotelin-1 igra značajnu ulogu u razvoju peritonitisa, a povećane koncentracije plazma endotelina-1 bile su česte pri septičkom peritonitisu izazvanom ešerihijom (Wiwanitkit, 2011, Tsukada, 1993). Kako su zabilježeni slučajevi bili karakteristični prvenstveno za stanovnike gradova, logičan slijed je da se kao treći toksikant uvede olovo-acetat, čija je koncentracija u urbanim centrima i dalje visoka i pored smanjene, ali i dalje dozvoljene upotrebe olovnog benzina u mnogim zemljama širom svijeta (Jablanović *et al.*, 2003).



Radi utvrđivanja efekata intoksikacije vršene su hematološke i morfološke analize, uz stalno posmatranje jedinki i praćenje uticaja ovih polutanata na njihovo ponašanje i uzimanje hrane i vode.

### Cilj rada i očekivani rezultati

Cilj istraživanja je da se u laboratorijskim uslovima ispita dejstvo intoksikacije olovo-acetatom i aloksanom na Wistar pacove inficirane ešerihijom *Escherichia coli* intraperitonealnim ubrizgavanjem, nakon 24h i 72h. Eksperimentalnim jedinkama, podijeljenim u četiri grupe u odnosu na vrstu tretmana, izazvana je infekcija nakon koje je pristupljeno žrtvovanju i prikupljanju podataka i to u dva vremenska intervala inkubacije, nakon 24 i 72 sata. Pretpostavljeno je da će se istaći jasna razlika u vrijednostima hematoloških parametara (Hgb, E, L, Hct, DKS) između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata.

Kako jedan od tretmana podrazumijeva intoksikaciju jedinki olovo-acetatom u subletalnoj dozi (1500 ppm), praćen je uticaj olova na morfološke karaktere unutrašnjih organa, jetre, srca, slezene, bubrega i testisa, pri čemu je očekivano uočavanje značajnih razlike kod indeksa navedenih organa i veća odstupanja ovih vrijednosti jedinki tretiranih olovom u odnosu na ostale grupe. Krvni parametri se mijenjaju pod uticajem oba tretmana, tako da je bio cilj odrediti njihove vrijednosti pri zajedničkom dejstvu (olovo-acetata i bakterijske infekcije).

Kako se aloksan javlja u ljudskoj ishrani unošenjem proizvoda od bijelog brašna, bilo je značajno utvrditi njegov efekat na organizam u sadejstvu sa svakodnevno prisutnim toksinom olovom i biotoksinom ešerihijom. Ujedno, intraperitonealni unos većih subletalnih koncentracija aloksana izaziva *diabetes mellitus* tip 1 kod laboratorijskih pacova, čija incidencija u ljudskoj populaciji varira od 30 na 100.000 ljudi u Skandinaviji, do 2 na 100.000 ljudi u Japanu, pri čemu se očekuje povećanje broja oboljelih u urbanim područjima (King *et al.*, 1999). Iz tog razloga je bilo značajno utvrditi dejstvo olova na dijabetičare, čija je podložnost infekcijama ujedno znatno veća nego kod zdravih ljudi.

Bakterijska infekcija i *diabetes mellitus* tip 1 utiču na cjelokupno zdravstveno stanje jedinki, tako da je jedan od ciljeva rada bio uočiti njihovo zajedničko dejstvo na vrijednosti krvnih parametara, kao i na morfološke karaktere unutrašnjih organa.

Objedinjavanjem toksikanata i bakterijske infekcije (kod četvrte grupe eksperimentalnih jedinki) utvrđen je njihov zajednički uticaj na morfometrijske i hematološke parametre Wistar pacova.

Dobijeni podaci imaju značaj u budućim istraživanjima iz ekotoksikologije i ekologije uopšte i doprinjeće boljem razumijevanju uticaja bakterijske infekcije na jedinke vrsta koje naseljavaju kopne ekosisteme.

Analitičko-statistički pristup daje uvid u korelaciju dužine izlaganja infekciji sa promjenama pojedinih hematoloških i morfometrijskih parametara, a takođe je poslužio za procjenu nivoa uticaja ovih faktora na zdravstveno stanje ispitivanih jedinki.

## **2. OPŠTE KARAKTERISTIKE**

Ekologija, kao nauka o domaćinstvu prirode, o međusobnim odnosima i uticajima žive i nežive prirode, o međusobnim zavisnostima živih bića i njihove životne sredine, ne fokusira se isključivo na organizam, populaciju ili životnu zajednicu, kao ni samu građu ili osobinu životnog prostora, već joj je u središtu pažnje njihova međusobna zavisnost. Iz tog razloga ekologija predstavlja sinoptičku, multidisciplinarnu nauku, za čije potrebe nastaju sinteze mnogobrojnih drugih naučnih disciplina i istraživačkih metoda, među kojima se javljaju: botanika, zoologija, antropologija, geologija, pedologija, klimatologija, hidrologija, fizička geografija, humana biologija, ekonomija, sociologija, etika, politika i brojne druge. Uzrok popularizacije ekologije, posebno njenog dijela koji se odnosi na zaštitu životne sredine, je u više ili manje očiglednom pogoršanju životnih uslova, kao i u sve razvijenijoj svijesti o opasnostima koji proizilaze iz daljeg nekontrolisanog razvoja ljudskog društva (Glavač, 2001).

Ekologija se može podijeliti po više osnova na područja ili grane istraživanja. Uobičajena je podjela na autekologiju, demekologiju i sinekologiju s jedne strane, kao i prema carstvima živih bića, u zavisnosti od autora, na ekologiju biljaka, životinja, protista, gljiva i dr. U toku vremena efekat čovjekovog dejstva na globalnom nivou se povećao i doveo do uticaja na rasprostiranje živih bića u biosferi. Na taj način su se posebno izdvojile ekologija čovjeka, urbana ekologija, ekotoksikologija, zaštita životne sredine i druge grane ekologije (Klepac, 1980).

„Veza između ljudske civilizacije i Zemlje bila je u potpunosti promijenjena međusobno isprepletenim činiocima kao što su demografska eksplozija, tehnološka revolucija i spremnost da se zanemare posljedice po budućnost onog što sada činimo.“ (Gor, 2008).

Kroz istoriju se mogu pratiti ključni, prelomni momenti u razvoju ljudske civilizacije (otkriće vatre, razvoj poljoprivrede, industrijalizacija...), koji su doveli do enormnog povećanja ljudske populacije praćenog naglom urbanizacijom, što je za posledicu imalo vidnu degradaciju ekosistema i smanjivanje biodiverziteta. Svojim aktivnostima u pravcu urbanizacije i eksploatacije, čovjek je promijenio u velikoj mjeri, a to i dalje čini, prirodno okruženje, najčešće u smislu djelimičnog ili potpunog narušavanja odnosa u životnoj sredini. Doveo je do promjene cijelih područja izgradnjom hidrocentrala i akumulacija, sječom šuma, pošumljavanjem, eksploatacijom

mineralnih sirovina, stvaranjem deponija, emisijom gasova, nuklearnim probama i dr., što je dalje rezultovalo narušavanjem cijelih ekosistema, kao i klimatskim promjenama na lokalnom i globalnom nivou (Sekulić *et al.*, 2003). Mučibabić i Berberović (1980) konstatuju da: „živi svijet predstavlja za čovjeka jedinstven fond dragocjenih i većinom nenadomjestivih dobara; klasični oblici eksploatacije tog fonda odlikuju se nepromišljenom trkom ka ostvarenju trenutne koristi, bez obzira na posljedice.“ „Pod zagađenjem životne sredine podrazumijevaju se kvantitativne ili kvalitativne promjene bioloških, hemijskih i fizičkih osobina (vode, vazduha, zemljišta i dr.), čija posljedica je narušavanje zakonitosti ekosistema zasnovanih na mehanizmima samoregulacije“, navode Sekulić i saradnici (2003).

Broj i vrste zagađivača životne sredine je gotovo nemoguće u potpunosti odrediti, jer su se mijenjali zajedno sa promjenom načina iskorišćavanja resursa od strane ljudske populacije kroz istorijski razvoj društva. Uobičajene su podjele zagađivača životne sredine u odnosu na fizička i hemijska svojstva, izvor emisije, prema efektima zagađenja, postojanosti u prirodi i živim sistemima, u zavisnosti od sredine koju zagađuju i slično. Ozbiljan problem predstavlja i sama činjenica da u većini slučajeva jedan zagađivač zagađuje različite ekosisteme (Sekulić *et al.*, 2003).

## 2.1 Olovo i njegov toksični efekat

### 2.1.1 Toksični metali

---

Usljed povećanih koncentracija toksikanata u životnoj sredini, dolazi do njihovog akumuliranja u biljkama, a samim tim u lancima ishrane i ljudima, kao krajnjim karikama. Neki toksikanti su manje značajni zahvaljujući minimalnom uticaju na žive sisteme, dok su drugi izuzetno toksični i stvaraju niz zdravstvenih problema (Obradović i Đekić, 2012). Među toksičnim hemikalijama, metali su kritični toksikanti životne sredine zahvaljujući sposobnosti bioakumulacije, nemogućnosti biorazgradnje i izrazite štetnosti unutar ekoloških sistema (Sainath *et al.*, 2011).

U toksične (teške) metale se ubrajaju oni metali koji nisu biogeni, nemaju fiziološku ulogu u organizmu, a ispoljavaju toksični efekat. Ističu se: kadmijum, olovo, aluminijum, živa i dr. (Jablanović *et al.*, 2003).

Opterećenje zemljišta i površinskih voda antropogenim emisijama teških metala, kao i njihov ulazak u ciklus kruženja vode, ugrožavaju biodiverzitet, a posebno šumske ekosisteme i proizvodnju zdravstveno bezbjedne hrane (Kastori, 1993).

Unos teških metala u organizam životinja, biljaka i ljudi dovodi do pojave bolesti, degenerativnih promjena i poremećaja fiziološko - biohemijskih procesa. Pojedini metali, među kojima ima i gradivnih elemenata (Fe, Zn, Cu, Mn, Co, Pb i dr.), pri većim koncentracijama djeluju veoma toksično na žive organizme.

Toksični metali u ekosistem dospijevaju uglavnom iz antropogenih emisija, a u procese kruženja materija ih uvode primarni proizvođači, koji ih ugrađuju u svoj organizam iz podloge (matične stijene) ili iz drugih izvora. Onaj oblik teškog metala koji je pristupačan za biljke ima značaja sa toksikološkog i ekotoksikološkog stanovišta, jer usvajanjem od strane biljaka metali ulaze u lanac ishrane (Arsenijević-Maksimović, Pajević, 2003). Većina toksičnih metala se akumulira u organizmu, tako da se na svaku narednu kariku u lancu ishrane prenosi, uz dodatnu akumulaciju iz svih izvora ishrane. Krajnji potrošač u svom organizmu akumulira najveću koncentraciju ovih metala.

### 2.1.2 Olovo

---

Olovo je jedan od najznačajnijih toksičnih (teških) metala zbog svoje široke primjene u različitim industrijskim proizvodima, radi čega se smatra ozbiljnim rizikom brojnih profesija širom svijeta (Ahmed *et al.*, 2012).

Olovo je prirodan slabo zastupljen element, sa prosječnom koncentracijom od 1.3  $\mu\text{g/g}$  zemljine kore. Olovo (Pb), element IVb grupe periodnog sistema, se javlja u dva oksidovana oblika Pb (II) i Pb (IV), od kojih je dominantniji  $\text{Pb}^{2+}$  jon. Zastupljeno je u stijenama i zemljištu kao element u tragovima ( $< 0.1\%$  težinski), a zbog afiniteta prema sumporu S, je koncentrisano u stijenama i mineralima sulfida, posebno u mineralima galenitu (PbS) i anglezitu ( $\text{PbSO}_4$ ). Najmanje koncentracije olova su zabilježene u sedimentima aluvijalnog porijekla (Jablanović *et al.*, 2003).

U pitanju je mekan metal, velike gustine i niske tačke topljenja. Olovo nije rastvorljivo u vodi, ali se rastvara u kiselinama sa oksidacionim djelovanjem (npr. azotna kiselina). Pri dejstvu razblažene sumporne kiseline stvara se zaštitni sloj olovo - sulfata  $\text{PbSO}_4$  te rastvaranje prestaje. Baze ne djeluju na olovo. Na vazduhu se olovni prah, tzv. piroforno olovo, pali samo od sebe.

Olovo se, zahvaljujući lakoj obradivosti, počelo koristiti još u praistoriji, tako da je danas izuzetno široko distribuirano u životnoj sredini (Tong *et al.*, 2000). Njegova toksičnost je uočena prije 3000 godina, što nije dovoljno smanjilo izloženost ovom polutantu. Iako je jedan od najranije otkrivenih otrova, izloženost olovu i danas ima značajan udio u globalnim problemima, posebno u razvijenim urbanim centrima i zemljama trećeg svijeta. (Lidsky i Schneider, 2003).

Olovo (II) oksid ima široku primjenu u ljudskom društvu, od glaziranja keramičkih proizvoda, izrade minijuma, kao žuta boja u slikarstvu, preko izrade limova, kanalizacionih i vodovodnih cijevi ukoliko vode nisu kisele; do oblaganja električnih kablova i posuđa. Olovo se koristi i u vojnoj industriji, industriji boja, za izradu olovnih akumulatora, te za zaštitu od rendgenskog i radioaktivnog zračenja.



*Slika br. 1 Olovo* (<https://en.wikipedia.org/wiki/Lead>)

Olovo se emituje u atmosferu iz prirodnih i antropogenih izvora. Prirodna emisija obuhvata resuspenziju vjetro, erupcije vulkana, šumske požare, morski aerosol i biogene izvore (Nriagu i Pacyna, 1988). Prema Nriagu (1992) ova emisija olova u atmosferu nije u potpunosti prirodna, jer joj doprinosi antropogeno olovo nataloženo kroz istoriju.

Globalno gledano, glavni emisijski izvori olova uključuju sagorijevanje fosilnih goriva, proizvodnju obojenih metala, željeza i čelika. Znatna količina olova se emituje i proizvodnjom cementa, kao i odlaganjem industrijskog i urbanog otpada (Pacyna i Pacyna, 2001). Dugo vremena najveći izvor antropogenog olova je predstavljao olovni benzin, tako da organizmi koji naseljavaju rubna područja autoputeva predstavljaju svojevrsne determinante izlaganja olovu (Strömberg *et al.*, 2003), kao i organizmi koji naseljavaju uže područje oko fabričkih i rudničkih postrojenja.

Olovo se u atmosferi nalazi isključivo vezano sa drugim elementima čineći partikule veličine 0.1-1  $\mu\text{m}$  (AMAP, 1998), odakle dospijeva u zemljište ili vodu putem

mokre i suve depozicije, često veoma daleko od izvora emisije. Sitnije čestice olova se u atmosferi zadržavaju dugo, pri čemu mogu preći stotine, pa čak i hiljade kilometara. Ova pojava je najuočljivija u polarnim krajevima, daleko od urbanih sredina, gdje se olovo nalazi u različitim koncentracijama na različitim dubinama leda (AMAP, 2001).

Olovo dospijeva u površinske i podzemne vode iz atmosfere, mokrom depozicijom i taloženjem, primjenom đubriva bogatih olovom i kanalizacionog mulja na okolnom zemljištu, izlivanjem kanalizacionih u tekuće vode i slično. Od izuzetnog značaja su i veliki industrijski i rudarski centri koji svoje otpadne vode bez prethodnog prečišćavanja ispuštaju u okolne riječne tokove (Kastori, 1997). Rijeke se dodatno bogate olovom prolaskom kroz velike urbane sredine (Tedeschi, 1990). Vodotoci u blizini deponija su direktno ugroženi brojnim kontaminantima, samim tim i olovom u koncentracijama znatno većim od dozvoljenih (Odukoya i Abimbola, 2010). Olovo u vodi za piće se javlja i u krajevima sa izraženim aciditetom vode, koji koriste stare olovne cijevi. Ukoliko je pH vode neutralan ili alkalni ne dolazi do topljenja olova iz vodovodnih cijevi.

Pošto organske komponente zemljišta imobiliziraju olovo, deponovano olovo se nalazi u gornjem sloju zemljišta dubine 2-5 cm (CDC, 1991). Količina prirodnog olova u zemljištu se najčešće kreće između 10 i 30 mg/kg zemljišta. Ukupna koncentracija olova u gornjem sloju zemljišta zavisi od depozicije i akumulacije olova iz antropogenih izvora. U Evropi je koncentracija olova u zemljištu prostorno heterogena i kreće se od 10 do preko 70 mg/kg, generalno opadajući porastom udaljenosti od izvora kontaminacije. Koncentracije olova u zemljištu udaljenom do 25 metara od saobraćajnica su za 30 - 2000 mg/kg veće od prirodnih, dok im vrijednost eksponencijalno opada na udaljenosti većoj od 25 m. U zemljištu pored topionica obojenih metala olovo je zastupljeno u koncentracijama od nekoliko hiljada do čak 60000 mg/kg (ATSDR, 2005).

Zemljišta bogata olovom pokazuju signifikantan pad produktiviteta. Brojni su i izuzetno kompleksni efekti olova na biljke (Sengar *et al.*, 2008; Kastori, 1993), životinje (Ćupić, 1999; Modrall i Pokras, 2010), kao i čovjeka (Järup, 2003; WHO, 1995). Biljke apsorbiraju olovo u velikoj mjeri preko korjenovog sistema i u veoma maloj količini putem lišća. U biljkama se olovo akumulira prvenstveno u korijenu, ali znatna količina može biti translocirana i u nadzemne dijelove. Sposobnost apsorpcije olova od strane biljaka zavisi od pH vrijednosti zemljišta, fizičko - hemijskog sastava zemljišta,

kao i od površine korjenovog sistema i mikorizne transpiracije. Manja količina olova se transportuje od korjena u ostale organe zahvaljujući prirodnoj barijeri korjenovog endoderma. U letalnim koncentracijama dolazi do proboja barijere, pri čemu olovo dospijeva u ostala biljna tkiva. U biljkama olovo gradi depozite različitih veličina, prvenstveno u intercelularima, ćelijskim zidovima i vakuolama. Manje nakupine olova su uočene i u endoplazmatskom retikulumu, diktiomima i diktiomskim vezikulama. Po ulasku u ćeliju, olovo inhibira mnoge enzime, remeteći mineralnu ishranu i vodni balans, utiče na hormonalni status, kao i na permeabilnost ćelijske membrane narušavajući njenu strukturu. Vidljivi nespecifični simptomi olovne toksikoze su smanjen rast, hloroze i zatamnjen korjenov sistem. Olovo smanjuje fotosintetsku produktivnost biljaka remeteći strukturu hloroplasta, smanjujući sintezu hlorofila, remeteći transport elektrona i inhibirajući aktivnost enzima Kalvinovog ciklusa (Sengar *et al.*, 2008).

Olovo djeluje izuzetno negativno na brojne organske sisteme (Todd *et al.*, 1996). Brojni eksperimenti na laboratorijskim životinjama pokazali su da olovo alterira morfološke odlike jajnika, izaziva promjene u funkciji placente, razvoju ploda i slično (Silbergeld, 1986). Tokom graviditeta olovo posebno ispoljava svoj negativan efekat, prolazeći kroz placentalu barijeru (Lagerkvist, *et al.*, 1996; Silbergeld, 1983), ali se njegovo dejstvo nastavlja i tokom laktacije, kada olovo eksponiranih majki mlijekom dospijeva u organizam sisančeta (Mornjaković *et al.*, 1995; Mornjaković, 1994).

Eksponiranost olovu tokom gestacije i laktacije dovodi do brojnih neuroloških poremećaja, kao što su deficit memorije, neurološke abnormalnosti (Soodi *et al.*, 2008), promjene uobičajenih obrazaca ponašanja (Seddik *et al.*, 2010), smanjenje tjelesne dužine i mase (Mornjaković *et al.*, 2000), povećanje mase pojedinih unutrašnjih organa (Abdel-Moneim *et al.*, 2011) i slično.

Kod domaćih životinja trovanje olovom (plubizam) je najčešće akutnog tipa. Olovo je jedan od najčešćih uzročnika trovanja domaćih životinja, od kojih su najosjetljiviji preživari, potom konji, živina i svinje (Neathery i Miller, 1975). Kod domaćih životinja trovanje olovom izaziva poremećaje nervnog sistema, gastrointestinalnog trakta, mišićnu koordinaciju i remeti sintezu hema. Kod stoke se uočavaju depresija, sljepilo, propadanje zuba, grčenje mišića, učestalo treperenje kapaka i konvulzivni napadi. Kod ovaca su zastupljene depresija, anoreksija, abdominalna bol i dijareja. Anemija je karakteristična za kroničnu izloženost olovu. U okolini rudnika kod



ovaca su uočene i osteoporoza kod mladih jedinki, kao i učestali abortusi. Kod konja simptomi olovne intoksikacije uključuju anemiju, depresiju, stupor i laringealnu paralizu koja otežava disanje (Neathery i Miller, 1975; Čupić, 1999).

Divlje životinje takođe snose posljedice narušavanja ekosistema. Trovanja olovom su zabilježena kod mnogih vrsta. U Esperanci, Australija, krajem 2006. godine došlo je do velikog pomora ptica. Akutno trovanje olovom jedan je od glavnih uzroka ugroženosti kalifornijskog kondora, bjeloglavog orla, kao i nekih drugih vrsta. Ingestija i trovanje olovom su dokumentovani kod najmanje 63 ptičje vrste od kojih je 10 ugroženih. Uopšte, posebno su ugrožene one životinje koje žive u blizini urbanih centara, kao što su nepalski majmuni koji naseljavaju okolinu hramova, ptici pacifičkih ostrvskih albatrosa koji žive u blizini zgrada i urbani psi Indije. Kod mnogih vrsta su pronađene subletalne koncentracije olova u krvi. Simptomi koji se razvijaju kod intoksikovanih životinja odgovaraju onima kod ljudi. Agresivno ponašanje se javlja kod ljudi, mačaka i drugih vrsta, hipertenzija je prisutna kod ljudi i pasa, poremećaji ponašanja i koncentracije kod ljudi i galebova, gubitak kose/krzna kod ljudi i majmuna. Kao i kod ljudi, najugroženije su mlade jedinke životinjskog svijeta (Modrall i Pokras 2010). Ni krupni sisari nisu pošteđeni pogubnog djelovanja olova. Dokumentovana je intoksikacija olovom leoparda, pantera i cibetke u sjeveroistočnoj Indiji (Sudip *et al.* 1999).

Čovječanstvo je izloženo atmosferskom olovu i olovu iz hrane u približno jednakim proporcijama. Prema nekim podacima poluživot olova u krvi iznosi oko 1 mjesec, a u kostima 20-30 godina (Järup, 2003). Olovo može direktno, kao i većina ostalih teških metala, oštetiti meka tkiva, posebno jetre, bubrega i nervnog sistema. Smanjuje kapacitet tijela da metabolizuje vitamin D, a kako je u obliku sličnom kalcijumu, najviše se nakuplja u kostima i zubima. U krvotoku utiče na stvaranje eritrocita, remeteći sintezu hema, koji gube funkcionalnost u vezanju atoma kiseonika i njegovom prenosu od pluća prema drugim tkivima. Toksičnost olova je posebno opasna za djecu uzrasta do šeste godine, jer se njihov nervni sistem još razvija (Goyer, 1993). Takođe, skeletni sistem raste i razvija se te mnogi naučnici smatraju da znatna količina olova unesena u organizam u djetinjstvu ostaje deponovana u kostima tokom cijelog života. Kod odraslih, neorgansko olovo ne prodire kroz krvno - moždanu barijeru, dok je ova prepreka manje razvijena kod djece. Tetrametil - olovo i tetraetil - olovo prodiru lako u kožu. Ova jedinjenja mogu da pređu barijeru krv - mozak i kod odraslih, što kod

akutnog trovanja rezultuje pojavom encefalopatije. Simptomi akutnog trovanja olovom (akutni saturnizam) su glavobolja, razdražljivost, bol u stomaku i razni simptomi vezani za nervni sistem. Olovna encefalopatija se odlikuje nesanicom i uznemirenošću. Kod djece se mogu javiti poremećaji u ponašanju, učenju i teškoće pri koncentraciji. U teškim slučajevima olovne encefalopatije, osoba može patiti od akutne psihoze, konfuzije i smanjene svijesti. Kod ozbiljnih neuropatija lezije mogu biti trajne. U takvim slučajevima se uočava tamnoplava olovo - sulfidna linija na ivicama desni. U manje ozbiljnim slučajevima, najočigledniji znak trovanja olovom je poremećaj sinteze hemoglobina, koji dugoročno može dovesti do anemije (Järup, 2003; WHO, 1995). Mnoga istraživanja pokazuju da dugotrajna izloženost niskim koncentracijama olova dovodi do smanjenja inteligencije kod djece. Akutna izloženost olovu dovodi do oštećenja proksimalnih tubula bubrega (WHO, 1995). Dugoročna izloženost dovodi do ozbiljnijih oštećenja bubrega, koja su u direktnoj korelaciji sa dužinom izloženosti (Mortada *et al.*, 2001). Postoji vjerovatnoća da olovo uzrokuje rak pluća, želuca i gliom (Steenland i Boffeta, 2000). Evidentirana je i intoksikacija olovom preko kože, ali u veoma malim koncentracijama. Izloženost kože olovu se prvenstveno dovodi u vezu sa činjenicom da olovo sa kontaminiranih ruku doprinosi oralnom unosu olova u organizam (Askin i Volkmann, 1997; Kranz *et al.*, 2004). Izlaganje organizma olovu se povezuje i sa upotrebom kontaminirane kozmetike (Al-Ashban *et al.*, 2004).

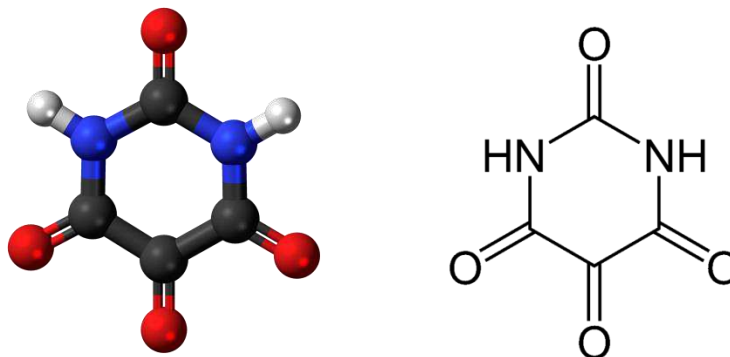
Prema dosadašnjim istraživanjima efekti olovo-acetata na krvnu sliku pacova ogledaju se prije svega u smanjenom broju eritrocita u krvi (anemija), povećanom broju leukocita (leukocitoza), monocitozi, eozinopeniji, neutrofiliji i trombocitozi. Smatra se da se mikrocistična hipohromna anemija može povezati sa interakcijom olova sa metabolizmom željeza i bakra, a povećan broj leukocita se dovodi u vezu sa inflamatornim efektom olova na limfatične organe (Noori Mugahi *et al.*, 2003). Suradkar i saradnici (2009) su utvrdili da olovo-acetat u koncentraciji od 100 i 1000 ppm, davan putem vode (oralno) tokom četrnaest dana, dovodi do smanjenja broja eritrocita, broja trombocita, snižene koncentracije hemoglobina, kao i redukcije MCV, MCH i MCHC vrijednosti.

Povećanje odnosa masa organa/masa tijela je dokumentovano za bubrege i jetru pacova tretiranih olovo-acetatom (Abdel-Moneim *et al.*, 2011).

## 2.2 Aloksan i njegovo dejstvo

*Aloksan* je dobro poznato i univerzalno upotrebljavano sredstvo za izazivanje eksperimentalnog dijabetesa, kroz svoj toksični efekat na beta ćelije Langerhansovih ostrvaca. Aloksan selektivno oštećuje beta ćelije, pokazujući ekstremno potentan diabetogeni efekat. Naširoko se koristi za indukciju eksperimentalnog dijabetesa, koji kod životinja pokazuje iste tipične simptome kao *diabetes mellitus* kod ljudi: gubitak tjelesne mase, polidipsija, poliurija, glukozurija, ketonurija, hiperglikemija i ketonemija. Otkriće da je aloksan prisutan i u krvi ljudi, posebno osoba sa utvrđenim dijabetesom, dovodi u pitanje tvrdnje da ne ispoljava toksičan efekat na beta ćelije Langerhansovih ostrvaca ljudske populacije (Mrozikiewicz *et al.*, 1994). Brojni su pobornici teorije da se aloksan javlja kao sporedni proizvod pri izbjeljivanju brašna, u kojem ostaje u veoma niskim koncentracijama (Lee *et al.*, 1998). Kako se ne vrše studije na ljudima, ne može se sa sigurnošću tvrditi niti da je prisustvo aloksana u pekarskim proizvodima zaslužno za sve veću incidencu dijabetesa kod ljudi širom svijeta, niti da nije (Adams, 2005; Veracity, 2005).

Aloksan je prvobitno izolovao Brugnatelli još 1818. godine, dok su Wöhler i Liebig 1838. godine vršeći istraživanja prirode mokraćne kiseline sintetisali više jedinjenja, među kojima i pirimidinski derivat, kasnije nazvan tim imenom (Lenzen i Panten, 1988). Veoma je nestabilno jedinjenje, poluživota 1,5 min pri pH 7.4 i temperaturi od 37 °C.



Slika br. 2 Aloksan ( $C_4H_2N_2O_4$ )

(<http://www.wikiwand.com/en/Aloksan>)

Njegova molekulska formula je  $C_4H_2N_2O_4$ , molarna masa iznosi 142.07 g/mol, a tačka topljena je na 256 °C (Slika 2). To je hidrosolubilno jedinjenje, čija se praškasta

supstanca veoma brzo rastvara u vodi, dajući rastvor crvene boje. Postojan je pri nižim pH vrijednostima, karakterističnim za kiselu sredinu (0-7).

Aloksan je protoksin, a toksični efekat ispoljavaju slobodni radikali i dialurična kiselina, tokom jednog sata. Zahvaljujući sličnosti njegove strukturne formule sa molekulom glukoze, GLUT-2 glukozni transporter prihvata aloksan i ubacuje ga direktno u citoplazmu  $\beta$ -ćelije, pri čemu ne oštećuje i ne inhibira GLUT-2 receptore (Lenzen, 2008). Akumulira se u beta ćelijama pankreasa i u prisustvu intraćelijskih tiola, posebno glutationa, aloksan stvara slobodne radikale (SR). Oni su zaslužni za smrt  $\beta$ -ćelija, koje karakteriše izrazito nizak autooksidativni kapacitet.

### 2.2.1 Aloksanski dijabetes

---

Aloksan je toksikant koji primjenjen kod glodara i drugih organizama selektivno uništava beta-ćelije zaslužne za proizvodnju insulina. Na taj način izaziva dijabetes zavisen od insulina kod eksperimentalnih životinja, analogan *diabetes mellitus* tip 1 kod ljudi (Szkudelski, 2001). Dijabetogeno dejstvo aloksana publikovali su Dunn i saradnici 1943. godine nakon esperimenta na zečevima (Carvalho *et al.*, 2003).

Podijeljena su mišljenja o dijabetesu izazvanom aloksanom kod ljudi i nivou ovog toksikanta u plazmi prvenstveno djece (Lenzen, 2008). Veoma često se koristi u laboratorijama za izazivanje vještačkog dijabetesa kod eksperimentalnih životinja, radi dobijanja modela pogodnog za izučavanje *diabetes mellitus*-a kod ljudi (Saba *et al.*, 2010; Zulfiker *et al.*, 2010; Ahmadvand *et al.*, 2012; Mude *et al.*, 2012; Rohilla i Ali, 2012; Indradevi *et al.*, 2012; Kim i Ha, 2013; Cai *et al.*, 2013; Lucchesi *et al.*, 2015 i dr.). Smatra se da ne izaziva promjene na beta-ćelijama ljudi, radi različitog mehanizma uzimanja glukoze (Tyrberg *et al.*, 2001; Eizirik *et al.*, 1994), ali dokazano izaziva velika oštećenja na bubrežima i jetri, a znatno veći nivo aloksana u plazmi je konstatovan kod djece uzrasta 6-15 godina oboljelih od *diabetes mellitus*-a tip 1 (Mrozikiewicz *et al.*, 1994).

Aloksan u organizmu životinja ima dva različita patološka efekta. S jedne strane selektivno inhibira glukozom indukovanu sekreciju inzulina, putem specifične inhibicije glukokinaze, senzora glukoze u beta ćelijama, a s druge strane izaziva inzulinski zavisni dijabetes svojom sposobnošću da indukuje nastanak ROS, što dovodi do selektivne nekroze beta ćelija. Oba efekta su omogućena specifičnim hemijskim karakteristikama

aloksana, koje dovode do selektivnog prihvatanja i akumulacije aloksana u beta ćelijama (Lenzen, 2008).

Uobičajena aplikacija aloksana je intraperitonealno, potom intravenski, dok je rjeđe subkutana i intramuskularna administracija. Nakon tretmana aloksanom nastupa prolazna hiperglikemijska faza, od prvih minuta primjene aloksanske injekcije do nekih 30 minuta, koja obuhvata kratkotrajni hipoglikemijski odgovor rezultovao iz prolazne stimulacije sekrecije insulina, čija se koncentracija povećava u plazmi. Potom nastupa prva hiperglikemijska faza, dužine 2 do 4 sata, u kojoj značajno opada nivo insulina u plazmi, a povećava se koncentracija glukoze u krvi, usljed blokade insulinske sekrecije praćene hipoinsulinemijom (Rohilla i Ali, 2012). U drugoj hipoglikemijskoj fazi, koja nastupa 4 do 8 časova po aplikaciji aloksana, uobičajena je pojava grčeva, koja je, ukoliko izostane tretman glukozom, često praćena fatalnim ishodom. Zadnja faza permanentne dijabetične hiperglikemijske odgovara tipičnom razvoju šećerne bolesti i nastupa od 12 do 24 časa nakon aplikacije aloksana. Ostale ćelije pankreasa (kako endokrine, tako i egzokrine) ostaju intaktne, što potvrđuje selektivnu osjetljivost beta ćelija na toksično dejstvo aloksana (Lanzen, 2008).

Rohilla i Ali (2012) su uočili da injektovanjem aloksana dolazi do karakteristične slike insulin zavisnog tipa I dijabetesnog sindroma. Međutim, razvoj nastanka dijabetesa se razlikuje u morfološkim promjenama na beta ćelijama. Promjene izazvane dejstvom aloksana predstavljaju smrt beta ćelije po tipu nekroze, dok se gubitak beta ćelija javlja kao posljedica apoptoze samih ćelija bez rupture insulinskih granula pri pravom autoimunom dijabetesu.

Muhammad i saradnici (2012) su utvrdili da se vrijednosti broja eritrocita i leukocita (smanjen broj neutrofila, a povećan broj limfocita) u litri krvi značajno smanjuju kod pacova sa dijabetesom indukovanim aloksanom (*diabetes mellitus* tip 1). Pad vrijednosti je uočen i za koncentraciju hemoglobina.

### 2.2.2 Diabetes mellitus

---

Dijabetes ili šećerna bolest je hronični neizlječivi sistemski poremećaj metabolizma, koji se karakteriše trajno povećanim nivoom glukoze u krvi (Dijabetološki savez Srbije).

**Diabetes mellitus tip 1** je katabolički poremećaj gdje je cirkulišući insulin veoma nizak ili odsutan, plazma glukagon povišen, a pankreasne beta ćelije gube sposobnost odgovora na insulinsku stimulaciju. Ovaj tip dijabetesa se naziva i insulin-zavisni dijabetes melitus (eng. IDDM), jer terapija dijabetesa tipa 1 podrazumijeva doživotno uzimanje insulina (Guyton i Hall, 2003).

Faktori spoljašnje sredine koji hipotetički mogu učestvovati u oštećenju beta ćelija su virusi (npr, mumps, rubella, Coxsackie B4), toksične hemikalije, kao i upotreba kravljeg mlijeka u ranom odojačkom dobu i citotoksini (American Diabetes Association, 2004).

**Diabetes mellitus (DM) tip 1** je autoimuno oboljenje, stanje hronične hiperglikemije i poremećaj metabolizma ugljenih hidrata, masti i proteina koje nastaje kao posljedica apsolutnog i-ili relativnog nedostatka dejstva insulina. Prve promjene se javljaju mnogo ranije nego što se jave kliničke manifestacije ove bolesti. Javljaju se u vidu upalnih promjena u Langerhansovim ostrvcima pankreasa. Ovo dalje vodi razaranju ćelija koje luče insulin i na kraju završava insulinskim deficitom. Tokom trajanja DM, hronična hiperglikemija narušava imuni sistem, izaziva oštećenja i disfunkcije različitih organa, a posebno oka, bubrega, nerava, srca i krvnih sudova (Badr, 2012).

Dijabetes tipa 1 se javlja u svim starosnim dobima, ali je znatno zastupljeniji kod djece i adolescenata, tako da je poznat i kao juvenilni dijabetes. Od ukupnog procenta oboljelih sa potvrđenom dijagnozom dijabetesa melitusa, njih 8 - 10% ima razvijen tip 1. Prema Čolak i Majkić-Singh (2009) incidenca dijabetesa tipa 1 je povezana sa učestalošću određenih antigena HLA sistema, kao i uticajima faktora životne sredine, koji su glavni okidač za ekspresiju ovih gena, i rezultuju razvojem šećerne bolesti kod predisponiranih osoba.

**Diabetes mellitus tip 2** se naziva još i insulin nezavisni dijabetes melitus (eng. NIDDM) i predstavlja najrasprostranjeniji oblik šećerne bolesti. Ovaj oblik šećerne bolesti nastaje kao rezultat insulinske rezistencije, odnosno smanjene osjetljivosti insulinskih receptora, usljed toga što ćelije nisu u stanju da adekvatno koriste insulin ili pankreas proizvodi insulin u nedovoljnoj količini. Različiti su načini nastanka ove bolesti, od stvaranja abnormalnog insulina, preko blokade receptora za insulin, do slabog odgovora efektornih ćelija. Nemogućnost ćelija da adekvatno reaguju na

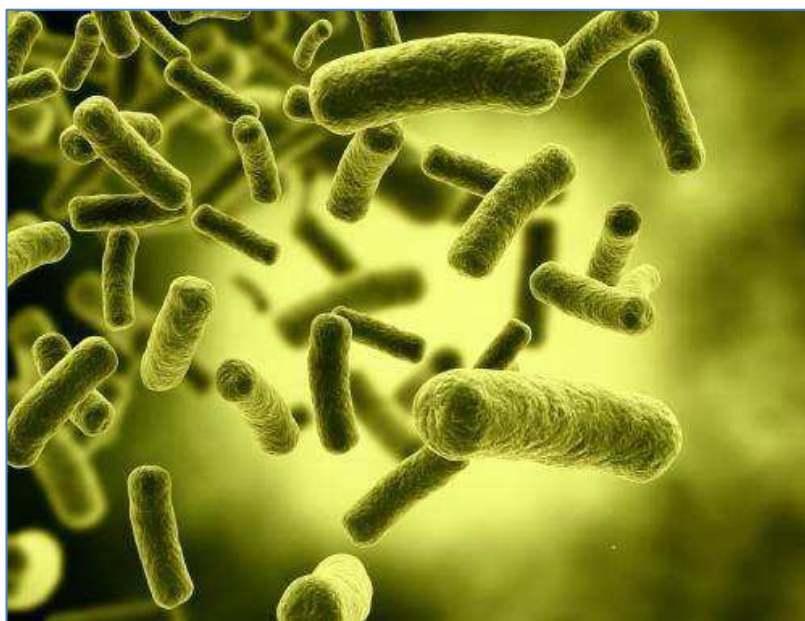
normalne vrijednosti insulina, javlja se prvenstveno u mišićima, jetri i masnom tkivu, pri čemu u jetri, insulin obično inhibira otpuštanje glukoze. S druge strane, hiperglikemija se javlja i pri pojavi otpora hepatocita prema insulinu, koje tada otpuštaju glukozu u krv.

Dijabetes tipa 2 se sreće kod svih uzrasta, mada je češći u zreloj dobi, sa najvećom incidencom nakon četrdesete godine starosti. U zadnje vrijeme, usljed nedovoljne fizičke aktivnosti i povećane gojaznosti kod mladih osoba, uključujući adolescente, ovo oboljenje je u porastu (Čolak i Majkić-Singh, 2009).

***Gestacijski dijabetes*** je poseban oblik dijabetesa koji se razvija kod trudnica koje nikada do tada nisu imale navedenu bolest. Ovaj latentni oblik šećerne bolesti je iniciran trudnoćom, tokom koje dolazi do promjena u hormonskoj ravnoteži žene, a samim tim do poremećaja u izlučivanju insulina. Rizična grupa su žene starije od 25 godina, koje su bile gojazne i prije trudnoće, naročito one sa genetskim predispozicijama za razvoj bolesti. Obično se vrijednosti glukoze u krvi stabilizuju po porođaju, a tokom trudnoće se uz adekvatnu terapiju može u potpunosti kontrolisati (Asmat *et al.*, 2015).

### 2.3 *Escherichia coli* i efekti infekcije na životinjski i ljudski organizam

Bakteriju *Escherichia coli* je otkrio i opisao njemačko-austrijski pedijatar Theobald Escherich 1885, po kojem je i dobila ime (Chen i Frankel, 2005). Pripada porodici *Enterobacteriaceae*, enterobakterija (enteričke bakterije organa za varenje), koja obuhvata gram-negativne štapičaste pokretne ili nepokretne forme, fakultativne anaerobe, koji u anaerobnim uslovima fermentiraju šećere do različitih krajnjih produkata. U aerobnim uslovima kao supstrat za dobijanje energije u procesu disanja koriste amino i masne kiseline, kao i šećere (Simić, 1988).



Slika br. 3 *Escherichia coli* (Rice University/Photos.com)

*Escherichia coli* je univerzalni stanovnik intestinalnog trakta čovjeka i toplokrvnih životinja, gdje čini normalnu floru crijeva u kojima je dominantna vrsta. Zajedno sa srodnim bakterijama čini 0,1% crijevne flore (Eckburg *et al.*, 2005). Kako učestvuje u sintezi vitamina K<sub>2</sub>, njena uloga je od vitalnog značaja (Eckburg *et al.*, 2005; Simić, 1988).

Ograničenu količinu vremena ove bakterije preživljavaju i u okolnoj sredini, tako da predstavljaju idealne indikatore fekalnog zagađenja sredine (Feng *et al.*, 2002).

Kod ljudi, *Escherichia coli*, kao dominantni fakultativni anaerob crijevne flore, najčešće kolonizuje gastrointestinalni trakt novorođenčeta u prvih nekoliko sati po rođenju, od čega i bakterije i domaćin imaju obostranu korist. U većini slučajeva *E. coli* ostaje u lumenu crijeva ne dovodeći do bilo kakvih negativnih promjena. Međutim, kod



oslabljenog ili imunosuprimiranog domaćina ili pri povredi crijevnih barijera, čak i uobičajeni nepatogeni sojevi ešerihije mogu izazvati infekciju. Neki od visoko adaptiranih sojeva *Escherichia coli* su razvili sposobnost da uzrokuju širok spektar oboljenja i kod zdravih, imunološki jakih ljudi. Infekcije uzrokovane patogenom *E. coli* mogu biti ograničene na mukozne površine ili se mogu proširiti po cijelom tijelu (Sussman, 1997). Kao rezultat infekcije inherentno patogenom ešerihijom, javljaju se tri opšta klinička sindroma: infekcija urinarnog trakta, sepsa/meningitis i enterične/dijarealne bolesti (Nataro i Kaper, 1998).

Postoji više sojeva *Escherichia coli*, koji su rijetko patogeni, obično u uslovima smanjene otpornosti organizma čovjeka (Simić, 1988). Pojedini sojevi, enterotoksični i enteropatogeni, uzrokuju dijareju kod dojenčadi i putničku dijareju kod odraslih, dok enterohemoragični sojevi izazivaju brojne komplikacije, među kojima je i pojava hemolitičko-uremičkog sindroma (HUS), kao i hemoragičnog kolitisa (HC) (Oladejo i Adebolu, 2013). Uopšte, uobičajena je podjela patogenih (dijarealnih) sojeva *Escherichia coli* u pet grupa: EPEC - enteropatogene; EHEC - enterohemoragične; UPEC - uropatogene; ETEC - enterotoksične i EAEC - enteroagregativne (Georgiades *et al.*, 2011).

Prema Kaper i saradnicima (2004) među intestinalnim patogenima razlikuje se šest dobro opisanih kategorija ešerihije: enteropatogena *E. coli* (EPEC), enterohemoragična *E. coli* (EHEC), enterotoksična *E. coli* (ETEC), enteroagregativna *E. coli* (EAEC), enteroinvazivna *E. coli* (EIEC) i difuzno adherentna *E. coli* (DAEC). Nekoliko patogenih sojeva ešerihije, povezanih sa dijarealnim oboljenjima, predstavlja globalan problem javnog zdravstva, sa preko 2 miliona smrtnih ishoda kod ljudi godišnje (Chen i Frankel, 2005), posebno djece starosti od 6 mjeseci do 12 godina u zemljama u razvoju (Komolafe *et al.*, 2013).

Infekcije urinarnog trakta su uobičajene ekstraintestinalne infekcije uzrokovane uropatogenom *E. coli* (UPEC). Sve češći uzrok ekstraintestinalnih infekcija je patotip odgovoran za meningitis i sepsu - *E. coli* uzročnik meningitisa (MNEC).

Patotipovi *E. coli* uzročnici ekstraintestinalnih infekcija se sve češće obuhvataju nazivom ExPEC.

EPEC, EHEC i ETEC izazivaju brojna oboljenja i kod životinja, koristeći iste faktore virulencije i kolonizacije kao i kod ljudi (Kaper *et al.*, 2004). *E. coli* je povezana sa različitim patološkim stanjima kod životinja i najčešće se javlja kod mladih jedinki.

Konkretno, neotanalne kolibacilarne dijareje izazvane letalnom infekcijom novorođenih životinja enterotoksičnom *E. coli* (ETEC), jedna je od najčešćih unutrašnjih oboljenja domaćih životinja u Velikoj Britaniji (Chen i Frankel, 2005).

Dodatno se izdvaja još jedan patotip ešerihije, označen kao ptičja patogena *E. coli* (APEC), koja izaziva ekstraintestinalne infekcije, prvenstveno respiratorne infekcije, perikarditis i septikemiju kod peradi (Kaper *et al.*, 2004).

Patogeni sojevi ešerihije mogu biti kategorisani na osnovu elemenata koji izazivaju imuni odgovor kod životinja: O antigen- u sastavu lipopolisaharidnog (LPS) omotača, K antigen – u sastavu capsule i H-antigen – u sastavu flagelina. Spoljašnja membrane bakterijske ćelije *Escherichia coli* sadrži milione molekula LPS, a koji se sastoje iz O antigena (polimera imunogenih ponavljajućih oligosaharida, 1-40 jedinica), centralne regije (fosforilisani neponavljajući oligosaharidi) i A lipida (endotoksin). O antigen se koristi za serotipiziranje *E. coli* i oznake se kreću od O1 do O181, pri čemu su neke grupe uklonjene vremenom, a druge su predmet preispitivanja. Naknadno su dodani i podtipovi pojedinih O grupa. Interesantno je da ista antitijela reaguju sa više različitih O antigena, djelimično i sa K antigenima ne samo *Escherichia coli* već i drugih vrsta ovog roda, kao i ostalih enterobakterija. K antigen, acidni kapsularni polisaharid (CPS) je tanki, sluzavi sloj polisaharida koji okružuje neke patogene *E. coli*. Poznato je 60 različitih K antigena. H antigeni su vezani za flagele pomoću kojih se bakterije kreću. Determinisano je 56 različitih H antigena. Više od 700 tipova antigena (serotipova) *Escherichia coli* je prepoznato na osnovu O, H i K antigena. Serotipiziranje je bilo izuzetno značajno za prepoznavanje malog broja patogenih sojeva *E. coli*, koji zapravo uzrokuju bolesti. Na primjer, serotip O157: H7 je jedini odgovoran za nastanak hemolitičkog uremijskog sindroma (HUS). Međutim, danas za raspoznavanje serotipova velikog broja različitih dijarealnih sojeva, patogene *Escherichia coli* se klasifikuju na temelju njihovih jedinstvenih faktora virulencije, pri čemu se mogu diferencirati isključivo na osnovu tih obilježja. Da li će određeni soj izazvati oboljenje zavisi od distribucije i ekspresije niza virulentnih determinanti, uključujući adhezivnost, invazivnost, toksičnost i otpornosti bakterije na domaćinov imuni odgovor<sup>1</sup>.

Bakterijska infekcija uzrokovana inokulacijom *Escherichia coli* može da dovede do ozbiljnih patoloških procesa u organizmu poput sepse i meningitisa u neonatalnom periodu (Korhonen *et al.*, 1985; Martindale *et al.*, 2000), te raznih sistemskih infekcija

---

<sup>1</sup> Kenneth Todar, PhD (2014): **Pathogenic *E. coli***. <http://textbookofbacteriology.net>

kao što su infekcija urinarnog trakta i kolonizacija gastrointestinalnog trakta u svim periodima ontogeneze (Sarff *et al.*, 1975; Orsakov i Orsakov, 1985; Plos *et al.*, 1995; Karch *et al.*, 2005).

Gram-negativna sepsa je uobičajen klinički sindrom koji nastaje usljed štetnog odgovora domaćina na infekciju, u kojoj strane bakterije i LPS predstavljaju snažne aktivatore imunih ćelija, uključujući monocite i makrofage. Sepsa je osnovni uzročnik smrti na odjeljenjima intenzivne njege, sa incidencom u stalnom povećanju. Uprkos boljim uslovima njege, smrtnost se ne smanjuje zadnjih decenija. LPS su važne komponente spoljašnje membrane gram-negativnih bakterija i osnovni inicijator septičkog šoka (Cirioni *et al.*, 2006).

Smrtnost usljed sepse je direktno vezana sa disfunkcijom organa. Najčešće je zastupljen ARDS - sindrom akutnog respiratornog distresa (Smedegård *et al.*, 1989). Utvrđeno je da intraperitonealna administracija *Escherichia coli* ( $10^7$  i  $10^9$  CFU/ml/100 g tjelesne mase) izaziva disfunkciju pluća kod tretiranih pacova. Disfunkcija pluća, prvenstveno ARDS, predstavlja glavni faktor morbiditeta i mortaliteta septičnih pacijenata (Oliveira-Junior *et al.*, 2006).

Sepsa, septički šok i otkazivanje fizioloških funkcija mnogih organa su ozbiljne posljedice infekcija uzrokovanih gram-negativnim bakterijama koje često vode ka smrtnom ishodu (Pacheco *et al.*, 2002).

Ekstraintestinalna infekcija uzrokovana bakterijom *Escherichia coli* uključuje septikemiju i poliserotozu, neonatalni meningitis i infekciju urinarnog trakta kod ljudi i drugih životinja (Ngeleka *et al.*, 1993).

Mnoge studije su pokazale postojanje nekoliko hematoloških promjena u eksperimentalnoj endotoksemiji. Hawes i saradnici (1983), van Lambalgen i saradnici (1988), Egan i saradnici (1989), Kitajima i saradnici (1995), Pearson i saradnici (1995), Kosumi i saradnici (2001), Othman i saradnici (2006) i Oladunmoye (2006) pokazali su da administracija gram-negativnih bakterija u pacove kao eksperimentalne životinje uzrokuje sistemsku hipotenziju, smanjenje odnosa uobličanih elemenata i plazme (hematokrit) i smanjenje koncentracije hemoglobina, kao i povećanje broja leukocita i udjela neutrofila u cirkulaciji.

## 2.4. Oksidativni stres

Prema Davies (1995) od izuzetnog je značaja oksidativni paradoks, odnosno činjenica da sva aerobna bića ne mogu da opstanu bez kiseonika s jedne strane, a s druge strane kiseonik je izuzetno toksičan i utiče na njihov opstanak. Toksičnost kiseonika je omogućena samom njegovom konfiguracijom, jer zahvaljujući posjedovanju dva nesparena elektrona mogu nastati reaktivne kiseonične vrste ili ROS. ROS obuhvataju kiseonične radikale, kao i neradikalske vrste koje se ponašaju kao oksidacioni agensi i lako se mogu konvertovati u radikale, a nastaju kao proizvodi normalnog ćelijskog metabolizma. Uobičajeno je da se u somatskim ćelijama javlja ravnoteža između intercelularnog stvaranja ROS i njihovog neutralisanja (Davies, 1995). Postoji niz antioksidativnih mehanizama, nastalih tokom evolucije, kako bi aerobne ćelije bile u mogućnosti spriječiti oštećenja, reparirati već nastala i održati homeostazu neutralisanjem generisanih ROS. Antioksidativni enzimi (superoksid dismutaza - SOD, katalaza – CAT i peroksidaza - Px) i neenzimski antioksidanti (vitamin C, vitamin E, tokoferoli, fenoli,  $\beta$ -karoten i dr.) predstavljaju dvije glavne grupe jedinjenja koja čine antioksidativni sistem (Forbes *et al.*, 2008).

Do poremećaja ravnoteže između proizvodnje i uklanjanja ROS u pojedinim dijelovima ćelije dolazi u uslovima stresa, jer se kao zajednička karakteristika stresnog stanja u organizmu javlja povećana proizvodnja toksičnih derivata kiseonika. Ukoliko se antioksidanti ne nalaze u dovoljnom omjeru da neutrališu dejstvo novonastalih derivata kiseonika, dolazi do lančane reakcije stvaranja slobodnih radikala (Andreyev *et al.*, 2005).

Tokom procesa ćelijskog disanja  $O_2$  se redukuje do vode, a proces se u potpunosti odvija u kompleksima elektro-transportnog lanca uz formiranje djelimično redukovanih intermedijera. Više od 97% kiseonika unesenog u ćeliju prolazi kroz kompletnu redukciju do  $H_2O$ , dok se usljed parcijalne redukcije oko 1-3%  $O_2$  transformiše u ROS, tako da mitohondrije predstavljaju osnovni izvor ROS u ćelijama (Buonocore *et al.*, 2010).

Slobodni radikali kiseonika obuhvataju 4 veoma potentna i toksična molekula: superoksidni anjon radikal, vodonik-peroksid, hidroksilni radikal i singletni kiseonik. Superoksidni anjon radikal nastaje u mitohondrijama redukcijom kiseonika jednim elektronom i ima dominantno štetno dejstvo indukujući lipidnu peroksidaciju i oštećujući ćelijske membrane. U normalnim, fiziološkim uslovima, superoksid –

dismutaza (SOD) ga transformiše u manje aktivan vodonik-peroksid, koji se inače u ćelijama obrazuje redukcijom molekula kiseonika sa 2 elektrona. Vodonik-peroksid je veoma značajan u genezi ćelijskih oštećenja pri oksidativnom stresu. Katalaza i glutation-peroksidaza štite ćelije od vodonik-peroksida. Hidroksilni radikal je najreaktivniji intermedijerni produkt djelimične redukcije kiseonika, koji nastaje Fentonovom reakcijom u kojoj vodonik-peroksid reaguje sa fero jonima formirajući na taj način znatno potentniji kiseonični slobodni radikal. Ovaj SR dovodi do ireverzibilnog oštećenja ćelija preko narušavanja mitohondrijalnih membrana, izazivajući lipidnu peroksidaciju i oštećujući DNA. Četvrti kiseonični SR, singlet kiseonik, nastaje mijenjanjem spina jednog elektrona kiseonika, a karakteriše ga značajna toksičnost u različitim biološkim sistemima (Živić *et al.*, 2008).

### 2.4.1. Olovo i oksidativni stres

---

Zagađivanje životne sredine toksičnim metalima predstavlja globalni problem koji postaje ozbiljna zdravstvena prijetnja za živi svijet, posebno životinje i ljude. Povećana koncentracija toksičnih metala u životnoj sredini se javlja zahvaljujući antropogenoj djelatnosti, prvenstveno putem otpadnih voda i emisija iz rudnika i topionica, koje često sadrže povišene koncentracije olova, kadmijuma, žive i arsena. Zagađivanja širih razmjera su zabilježena u regijama s rudnicima i topionicama obojenih metala, koje se eksploatišu duži vremenski period, pri čemu je došlo do značajnog zagađenja vode, zemljišta i vegetacije (Yabe *et al.*, 2011). Olovo je jedan od vodećih rizika za ljudsko zdravlje zahvaljujući širokoj distribuciji u životnoj sredini i biološkim sistemima. Ljudska populacija je izložena intoksikaciji olovom iz raznovrsnih izvora, pri čemu su najugroženije trudnice, djeca i stanovnici urbanih područja (Wang *et al.*, 2013). Yabe i saradnici (2010) su npr., konstatovali da je kontaminacija tla, samim tim i stoke uzgajane za ishranu ljudi, dostigla enormno visok nivo u većini zemalja Afrike. Tome svjedoči, na žalost i katastrofa koja se dogodila u Dakaru, Senegal, gdje je 18 djece izgubilo život usljed akutnog trovanja olovom oslobođenog recikliranjem korištenih akumulatora (godišnji izvještaj Blacksmith Institute za 2010. godinu, <http://www.worstpolluted.org/files/FileUpload/files/2010/WWPP-Report-2010-Top-Six-Toxic-Threats-Web.pdf> 2011).

Olovo dovodi do raznih psiholoških i biohemijskih disfunkcija. Brojni su mehanizmi djelovanja olova na žive sisteme, mada nijedan u potpunosti ne objašnjava

toksični efekat olova. Smatra se da oksidativni stres praćen lipidnom peroksidacijom (oslobađanjem malondialdehida – MDA), indukovano produkcijom reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS) predstavlja značajan mehanizam ispoljavanja toksičnosti olova (Wang *et al.*, 2013).

Olovo je sveprisutan polutant koji se selektivno akumulira u bubrezima, gdje može nakon akutne izloženosti dovesti do disfunkcije proksimalnih tubula ili usljed hronične izloženosti do ireverzibilne nefropatije. Smatra se da je toksični efekat olova na bubrege ljudi i životinja usko vezan za oksidativni stres, kao molekularni mehanizam izazvan akutnim i hroničnim dejstvom olova (Conterato *et al.*, 2007).

Izloženost olovu povećava unutarćelijsku produkciju ROS i lipidnu peroksidaciju, uključujući oštećenja tkiva životinjskih reproduktivnih sistema (Wang i Jia, 2009).

Izloženost olovu smanjuje renalni klirens zahvaljujući sposobnosti ovog metala da izazove oksidativni stres utičući na aktivnost superoksid dismutase (SOD) i katalaze (CAT), oslobađajući slobodne radikale (npr. ROS) koji oksidacijom dovode do povećanja koncentracije malondialdehida (MDA), štetnog produkta lipidne peroksidacije kod pacova intoksikovanih 1% rastvorom olovo-acetata tokom 8 sedmica (Salawu *et al.*, 2009).

Toksičnost izazvana eksponiranošću olovu se povezuje sa sposobnošću olova da izazove oksidativni stres putem generisanja ROS. Sposobnost olova da indukuje ROS potvrđuju činjenice da toksični efekat intoksikacije olovom ublažavaju hemijski agensi kao što su vitamin C, vitamin E, melatonin, tiamin, testosteron, cistein, kalcijum, cink, selen i drugi, koji se odlikuju antioksidativnim efektom. Uočeno je i da biljni ekstrakti i materijali životinjskog porijekla štite od toksičnosti indukovane olovom kod eksperimentalnih životinja. To se objašnjava njihovom, ranije utvrđenom, antioksidativnom sposobnošću (Adikwu *et al.*, 2013; Adikwu *et al.*, 2014).

### 2.4.2. Aloksan i oksidativni stres

---

Osnovna dijagnostička karakteristika dijabetesa je hiperglikemija, koja dovodi do poremećaja ćelijskog metabolizma i oksidativnog stresa. Hiperglikemija je termin koji označava povećanje glukoze u krvi preko 11.1 mmol/l (200 mg/dl) i najčešći je simptom nekontrolisane šećerne bolesti. Međutim, smatra se da su sve osobe sa

konstatnim nivoom glukoze u krvi u rasponu od 5.6-7 mmol/l hiperglikemične, a da pri stalnim vrijednostima iznad 7 mmol/l imaju razvijen *diabetes mellitus*. Često se dešava da se jasni simptomi dijabetesa uočavaju tek pri vrijednostima glikemije od 15-20 mmol/l (American Diabetes Association, 2004). To je bolest sa prolongiranim predijabetesnim stanjem, tako da dugi vremenski period biva nedijagnostifikovana i dovodi do ozbiljnih oštećenja mnogih sistema u organizmu, a naročito nervnog i kardiovaskularnog (Ahmed *et al.*, 2010).

U dijabetesu dolazi do poremećaja pri regulaciji metabolizma glukoze, povećava se koncentracija intra- i ekstracelularne glukoze, što ima za posljedicu stvaranje viška slobodnih radikala, koji narušavaju normalno funkcionisanje ćelija i izazivaju mnoga patološka stanja i bolesti. Kada produkcija slobodnih radikala nadmaši antioksidativni kapacitet ćelije da eliminiše te radikale, doći će do razvoja oksidativnog stresa, koji se definiše kao poremećaj u ravnoteži između prooksidanasa i antioksidanasa, u korist prvih, koji vodi ka potencijalnim oštećenjima (Vincent *et al.*, 2004). Akumulacija takvih oštećenja vodi ćeliju u smrt putem apoptoze ili nekroze.

Smatra se da su ubrzana redukcija koenzima Q, posljedica inhibicije transporta elektrona na kompleksu III i stvaranje ROS-a osnovni uzroci disfunkcije mitohondrija, koji igraju ključnu ulogu u metaboličkim poremećajima srodnim dijabetesu, kao i tkivnim histopatologijama (Rolo i Palmeira, 2006).

Prema Ereyuwi (2012), postoje dokazi o ulozi oksidativnog stresa u različitim fazama razvoja dijabetesa, polazeći od predijabetesnog stanja, poremećene tolerancije glukoze, hiperglikemije nakon obroka, blagog dijabetesa i konačno dijabetesa. Gubitak funkcije ćelija, koji nastaje iz pogoršane sekretorne sposobnosti i povećane apoptoze, glavna je pojava oba tipa dijabetesa. Oksidativni stres igra važnu ulogu u patogenezi dijabetesa, bilo da se radi o ćelijskoj disfunkciji ili insulinskoj rezistenciji. Živić i saradnici (2008) ističu da je gotovo nediskutabina činjenica da je juvenilni dijabetes prototip patološkog stanja sa intenzivnim oksidativnim stresom, pri čemu SR ne samo da imaju ulogu u nastanku hroničnih komplikacija dijabetesa, već mogu presudno uticati i na sam nastanak juvenilnog dijabetesa.

Oksidacioni stres je jedan od glavnih uzroka komplikacija dijabetesa, uz drastično smanjene koncentracije antioksidanasa (Forbes *et al.*, 2008).

### 2.4.3. *Escherichia coli* i oksidativni stres

---

Različita infektivna oboljenja kod domaćih životinja, kao što su pneumonia, enteritis i mastitis su povezana sa oksidativnim stresom. Iako je oksidativna reakcija esencijalna za organizam, pretjerana oksidativna reakcija nastala kao odgovor na bakterijsku infekciju, može da izazove ozbiljna oštećenja tkiva. Suvišak ROS i odsustvo optimalne količine antioksidanata dovodi do oksidativnog stresa. Mnoge ćelije, osjetljive na oksidativni stres, podliježu nekrozi ili apoptozi (Eslami *et al.*, 2015).

Maddocks i saradnici (2013) navode da enteropatogeni sojevi *Escherichia coli* indukuju ROS, smanjuju DNA popravke, povećavaju učestalost mutacija u ćelijama domaćina, što predstavlja uspješan mehanizam za nastanak kolorektalnog kancera kod ljudi.

Cistitis (upala mokraćnog mjehura) je najčešća bakterijska infekcija koja pogađa češće žene nego muškarce. U većini slučajeva nastaje prodorom *Escherichia coli* u urinarni trakt. Cistitis izaziva smanjenu aktivnost antioksidativnih enzima - superoksid dismutaze (SOD) i glutation peroksidaze (GPx) što dovodi do oksidativnog stresa. Istraživanja na Wistar pacovima su potvrdila da *Escherichia coli* u urinarnom traktu ubrzava lipidnu peroksidaciju, oksidativno oštećivanje bubrežnog tkiva koje se reflektuje povećanom koncentracijom malondialdehida (MDA), mieloperoksidaze (MPO) i azotnog oksida (NO) i promjene u aktivnosti SOD i GPx (Tasdemir *et al.*, 2013).

Pri eksperimentalnom peritonitisu kod pacova, izazvanom intraperitonealnom administracijom bakterijske suspenzije *E. coli* uz dodatak hemoglobina, dolazi do izuzetno visoke letalnosti (Bornside *et al.*, 1968). Letalna toksičnost hemoglobina pri bakterijskoj infekciji je vezana za Fentonovu reakciju čiji produkti (ROS) indukujući lipidnu peroksidaciju smanjuju vijabilnost fagocita peritonealne duplje, što opet omogućava bakterijsku proliferaciju i mortalitet inficirane jedinice (Yoo *et al.*, 1999).



## **2.5 Laboratorijski pacov *Rattus norvegicus* soj Wistar, albino tip**

Albino laboratorijski pacov bijelog krzna i crvenih očiju je najčešće korišćena laboratorijska životinja zadnjih nekoliko decenija. Predstavlja izuzetno važan životinjski model za brojna istraživanja iz ekologije, ekotoksikologije, psihologije, medicine, fiziologije, i drugih oblasti.



**Slika br. 4 Wistar pacov**

([http://www.biot.fm.usp.br/ilustracoes/Wistar\\_conv.jpg](http://www.biot.fm.usp.br/ilustracoes/Wistar_conv.jpg))

Ovaj soj pripada vrsti *Rattus norvegicus*, a dobijen je i uzgaja se u laboratorijama širom svijeta. Pacov je prvi put unesen u laboratoriju u istraživačke svrhe davne 1828. godine, da bi već nakon trideset godina preuzeo primat nad drugim eksperimentalnim životinjama.

Domestikovani pacovi se razlikuju od divljih u mnogo čemu. Znatno su mirniji, sa smanjenim nagonom za ujedanjem, mogu tolerisati veću grupu jedinki u gnijezdu, ranije postaju polno zreli i ranije se pare, proizvodeći veći broj potomaka. Njihovi unutrašnji organi: mozak, jetra, bubrezi, adrenalne žlijezde i srce su manji nego kod divljih populacija.

*Wistar* pacovi albino tip predstavljaju nesrodnu „outbred“ liniju bijelih pacova dobijenu od divljih populacija vrste *Rattus norvegicus*. Ovaj soj je prvi put dobijen 1906. godine u Wistar institutu za biološka i medicinska istraživanja i predstavlja prvi soj pacova proizveden isključivo kao eksperimentalni model za brojna istraživanja (Manojlović, 2011).

Danas je Wistar pacov, pored Sprague-Dawley, jedan od najpopularnijih sojeva za laboratorijska istraživanja. Naročito se koristi u studijama toksičnosti (Henrich, 2000).

### 2.5.1. Biološki parametri laboratorijskog pacova *Rattus norvegicus*

Dužina života, tjelesna masa i ostale vrijednosti osnovnih bioloških parametara Wistar pacova su predstavljeni u tabeli 1.

**Tabela br. 1 Biološki parametri laboratorijskog pacova *Rattus norvegicus*<sup>2</sup>**

Parametar	Vrijednost
životni vijek	2.5-3.5 godine
masa tijela mužjaka u g*	450-520
masa tijela ženke u g*	250-300
tjelesna temperatura	39.5-37.5°C
potrošnja O <sub>2</sub> (ml/m <sup>2</sup> /g tj.m.)	0.84
površina tijela (cm <sup>2</sup> )	10.5
unos hrane (g/100g tj.m./dan)	5-6
unos vode (ml/100g tj.m./dan)	10-12
zapremina urina (ml/100g tj.m./dan)	5.5
ukupna količina tjelesne vode (ml/250g tj.m.)*	167
intracelularna tečnost (ml/250g tj.m.)*	92.8
ekstracelularna tečnost (ml/250g tj.m.)*	74.2

\*tjelesna masa varira u odnosu na soj

Pacove karakteriše kratko krzno, dug go rep, okrugle uši, ispupčene (eksoftalmične) oči i uočljiva njuška sa dugim brkovima (*vibrissae*). Imaju pet prstiju na prednjim i zadnjim nogama, sa prvim prstom prednjih nogu redukovane dužine. Sazrijevanje skeleta se odvija polako, tako da okoštavanje kostiju prestaje tek po navršetku prve godine života. Monofiodontne su životinje – imaju samo jedan komplet stalnih zuba koji obuhvata po 2 sjekutića i 6 molara u obe vilice. Sjekutići (*dentes incisivi*) su hipsodontni, rastu i kalcifikuju se tokom cijelog života, što je karakteristika glodara. Njihove spoljne površine se stalno oštećuju abrazijom na mjestu apozicije gornjih i donjih sjekutića, pri čemu se prirodno habaju i sprječava njihovo prerastanje.

<sup>2</sup> Sharp i Villano, 2013

Nervni sistem obuhvata centralni nervni sistem sa uočljivim glatkim hemisferama, bez brazdi i vijuga karakterističnih za više vrste (Radović i Petrov, 1999) i periferni nervni sistem sačinjen iz 34 para spinalnih nerava.

Limfni čvorovi su sitni i pozicionirani površinski, ispod površine kože, ili dublje u abdominalnoj ili torakalnoj šupljini. Teško su uočljivi vizuelno ili palpacijom kod zdravih jedinki.

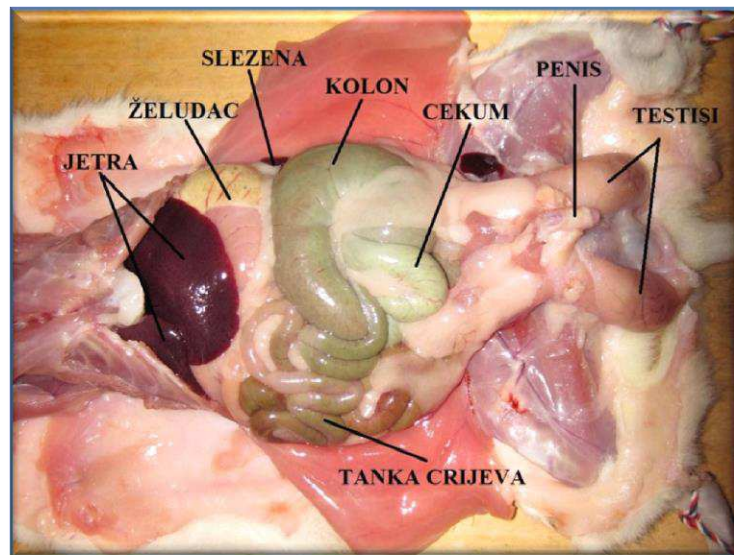
U grudnoj (torakalnoj) šupljini su smješteni srce, pluća i timus. Timus ima parne triangularne režnjeve pozicionirane ventralno od traheje na ulazu u grudni koš. Ova žlijezda je krupna kod mladih jedinki, dostiže maksimalnu veličinu u vrijeme polnog sazrijevanja, dok kod starijih pacova dolazi do regresije u veličini timusa (Moore, 2000). Srce je smješteno duž medijalne linije grudnog koša, okruženo plućnim krilima. Vrh srca dopire skroz do dijafragme. Građeno je iz dvije komore i dvije pretkomore. Krvotok pacova odgovara uveliko onom kod viših sisara (Moore, 2000).

Pluća pacova se sastoje od lijevog i desnog plućnog krila, pri čemu je lijevo cjelovito, a desno građeno iz četiri režnja. Traheja je građena od nedovršenih hrskavičavih prstenova u obliku slova S. U grudnoj šupljini se grana na lijevu i desnu bronhiju građene od potpunih hrskavičavih prstenova (Moore, 2000).

Smeđe masno tkivo na dorzalnoj strani tijela, u predjelu lopatica, je u većoj količini prisutno tokom cijelog života, iako ne hiberniraju zimi (Austgen i Bowen, 2009). Takođe, javlja se i u predjelu aorte, hilusu bubrega, okolini uretre i grlića materice, kao i jugularne vene (Moore, 2000). Osnovna funkcija smeđeg masnog tkiva je u termoregulaciji pri izloženosti niskim temperaturama, kontroli tjelesne težine i kao rezervna hrana pri hibernaciji životinja koje provode zimu u snu (Austgen i Bowen, 2009).

Na ventro - dorzalnom pogledu abdominalne duplje uočava se krupna jetra građena iz četiri režnja, nalegla uz dijafragmu. Jetra zauzima 4-5% ukupne tjelesne težine pacova. Za pacove je karakterističan izostanak žučne kesice. Slezena prati zakrivljenost želuca, a tanka crijeva se uočavaju sa desne strane (slika 5). Slijepo crijevo (*cecum*) se odvaja na spoju tankog i debelog crijeva i uočava se kao hranom ispunjena vrećica koja se širi preko trbušne duplje do njene lijeve strane. Slijepo crijevo, zahvaljujući svom mikrobnom sastavu, ima funkciju varenja celuloze i ostalog biljnog materijala. Kod pacova se slijepo crijevo ne završava crvuljkom, kao kod ljudi, već okruglastom akumulacijom limfoidnog tkiva koja se često naziva Pajerovom zakrptom.

Pored vrha slijepog crijeva, ove zakrpe se mogu sresti razbacane dužinom tankih crijeva (Moore, 2000).



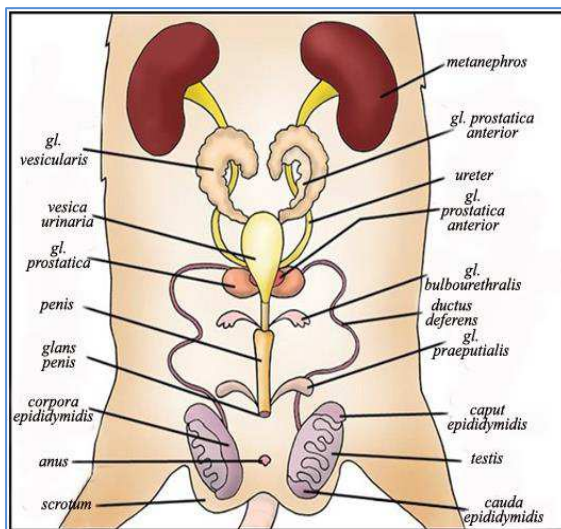
*Slika br. 5 Građa pacova (abdominalna duplja)*  
(Manojlović, 2015)

Digestivna cijev (*tractus alimentarius*) se pruža od usta do analnog otvora, a sastoji se iz: usne šupljine, ždrijela, jednjaka, želuca, tankog i debelog crijeva. Jednjak pacova je cijev dužine oko 75 mm (vratni i grudni dio), dok abdominalni dio (dužine oko 15 mm) naglo završava na kardijačnom otvoru želuca. Vanjski dijametar jednjaka cijelom dužinom iznosi oko 2 mm. Na želudac otpada oko 0,5% tjelesne težine, a sastoji se iz dva dijela - proventrikularnog i glandularnog (Avdić i Tandir, 2008). Ova dva dijela se jasno vizuelno uočavaju, a i histološki se veoma razlikuju. Prednji dio želuca, gornji želudac, je tanjih zidova, svjetlije boje, gladak, bez žljezdanih ćelija, dok je donji želudac zadebljao, tamnije boje i bogat žljezdanim ćelijama. Ulijeva se u duodenum preko piloričnog sfinktera. Pregrada koja dijeli ova dva dijela želuca je označena kao granični greben i funkcija joj je da sprečava povraćanje želučanog sadržaja, dok ne ometa normalno kretanje hrane pri varenju (Moore, 2000).

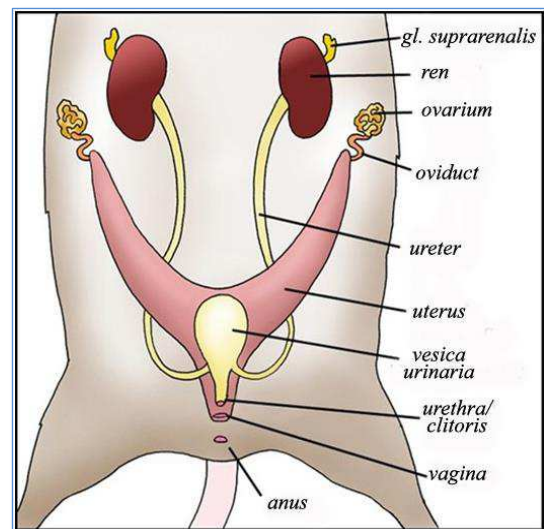
Jetra ima mnogobrojne uloge, kao što su aktivno učešće u transportu hranjivih materija i njihovo deponovanje, detoksikacija, sekrecija i ekskrecija, učestvuje u hematopoezi, kao i u razgradnji krvnih ćelija, a karakteriše je i endokrina aktivnost (Stojić, 2004). Brojni toksikanti, dospjeli u organizam preko digestivnog sistema, portalnim venskim krvotokom dopijevaju u jetru gdje se enzimskim mehanizmima oksidacije, hidroksilacije i konjugacije vrši proces detoksikacije. Neke od opasnih supstanci se na ovaj način inaktiviraju ili izlučuju putem žuči, čime se smanjuje količina

toksina koji dopijeva u krvotok (Jablanović, et al. 2003). Jetra pacova se sastoji iz četiri reznja. Žučni kanalići se izlivaju direktno u duodenum jer pacovi nemaju žučnu kesicu.

Urinarni sistem se sastoji od parnih bubrega i uretera, mokraćnog mjehura i uretre. Desni bubrež i nadbubrežna žlijezda su pozicionirani kranijalnije u odnosu na lijevi. Bubrezi su jednopapilarni, imaju jednu *papilla renalis*, koja se ulijeva u karlicu bubrega, a ona u ureter. Bubrezi imaju četiri grupe funkcija: ekskrecija štetnih produkata metabolizma, materija u višku i materija nepotrebnih organizmu; održavanje volumena i konstantnosti sastava tjelesnih tečnosti; regulacija acido-bazne ravnoteže i endokrina uloga bubrega (Stojić, 2004). Mokraćni mjehur se nalazi na medijalnoj liniji kaudalnog dijela abdomena. Uretra se otvara u penis kod mužjaka, odnosno u genitalnu papilu u blizini baze klitorisa kod ženki.



Slika br. 6 Šema urinarnog i genitalnog sistema mužjaka pacova



Slika br. 7 Šema urinarnog i genitalnog sistema ženke pacova

(Simmons, 2005)

Polni sistem mužjaka se karakteriše parnim, izduženim, zakrivljenim vezikularnim žlijezdama, *glandula vesicularis* ili *vesicula seminalis*, koje se izlivaju u uretru u blizini mjehura. Koagulacione žlijezde (prednja prostata, *prostata anterior*) se nalaze sa medijalnih strana vezikularnih žlijezda (Đorović, 1997). Prostata, smještena uz tijelo penisa, se sastoji iz dva para reznjeva, dorzalnih i ventralnih, i parnih bulbouretralnih žlijezda (slika 6). Mješavina ekskreta ovih žlijezda formira vaginalni (spermalni) čep po uspješnom parenju (Moore, 2000). Testisi odraslog pacova su veoma krupni, smješteni u skrotumskim vrećicama, s obe strane medijalne linije između otvora prepucijuma i anusa (slika 6). Ingvinalni kanali ostaju otvoreni cijeli život tako da se testisi slobodno mogu kretati iz skrotuma u abdomen i nazad pomoću *m. cremaster*

(Šorić, 1997). Penis je postavljen unutar prepucijuma (genitalne papile) i sadrži koštani začetak *os penis*. Jajnici ženke pacova su smješteni kaudalno uz bubrege i obično su okruženi masnim tkivom. Materica pacova je sistematisana kao *uterus bipartitus*, kod koje su lijeva i desna materica srasle donjim dijelom, i predstavlja prelazni oblik između tipične dvojne (*uterus duplex*) i dvoroge (*uterus bicornis*) (Rülicke *et al.*, 2006, Šorić, 1997). Ženku pacova karakterišu i dva cerviksa, po jedan za svaki dio uterusa. Uterus i jajnici leže uz dorzalni tjelesni zid (slika 7). Vagina je predstavljena kratkim kanalom koji se otvara kaudalno od genitalne papile, odnosno kranijalno u odnosu na anus. Morfološki gledano, na ventralnoj strani tijela ženke se uočavaju analni otvor, polna papila, koja se sastoji iz klitorisa i otvora uretre i vulva, u kojoj je smješten otvor vagine (slika 7). Razmak između anusa i polne papile je kraći kod ženki nego kod mužjaka, zahvaljujući čemu se razlikuju polovi i kod mladih jedinki.

Pacovi imaju 6 pari bradavica. Mamarno tkivo je široko raspoređeno preko toraksa i abdomena (Moore, 2000).

Za ženke pacova je karakterističan poliestrusni način razmnožavanja, odnosno one se pare nekoliko puta godišće, obično do pet puta, bez obzira na godišnje doba. Estrusni (reproduktivni) ciklus ženke pacova obično traje pet dana. Sam estrus (period prijemčljivosti ženke za parenje) se obično dešava spontano noću nakon 3 dana ciklusa i traje 12 - 14 sati. Do ovulacije dolazi 8 - 12 sati od početka estrusa (Moore, 2000). Ženke se mogu uspješno pariti i u postporođajnom periodu, unutar 14 - 18 sati od porođaja (*estrus postpartum*). Dužina gestacionog perioda laboratorijskih pacova se kreće od 21 - 23 dana, najčešće 21. Mladi sisaju 21 - 24 dana i potom se mogu odvojiti od majke (Moore, 2000).

Laboratorijski pacovi su noćne životinje, koje se mogu uznemiriti nepažljivim rukovanjem tokom dana. Društvene su životinje sa strogo određenim obrascima ponašanja u grupi. Pored uobičajenog hijerarhijskog uređenja, prisutne su i pojave: agresivno ponašanje među mužjacima, čedomorstvo u srodstvu i u grupi, markiranje teritorije urinom, dominantnost jače jedinke pri hranjenju i parenju, borbe za naklonost ženke, kanibalizam i slično (Moore, 2000).

2.5.2. Hematološki parametri laboratorijskog pacova *Rattus norvegicus*

Tabela br.2 Hematološki parametri laboratorijskog pacova *Rattus norvegicus*<sup>3</sup>

Parametar	Vrijednost
odnos uobličanih elemenata krvi i krvne plazme u %	35-57
broj eritrocita	5-10*10 <sup>12</sup> /l
broj leukocita	3-17*10 <sup>9</sup> /l
koncentracija hemoglobina (Hb)	110-190 g/l
srednja vrijednost zapremine eritrocita (MCV)	46-65 fl
srednja vrijednost Hb u litri eritrocita (MCHC)	310-400 g/l
srednja vrijednost količine Hb u eritrocitu (MCH)	18-23 pg
retikulociti	0-25% <sup>a</sup>
trombociti	200-1500*10 <sup>9</sup> /l
neutrofil	13-26% <sup>b</sup>
limfociti	65-83% <sup>b</sup>
monociti	0-4% <sup>b</sup>
eozinofili	0-4% <sup>b</sup>
bazofili	0-1% <sup>b</sup>
glukoza	80-300 mg/l

<sup>a</sup> vrijednost je veoma zavisna od starosti, pri čemu su više vrijednosti uobičajene za mlađe jedinice

<sup>b</sup> udio u ukupnom broju leukocita

<sup>3</sup> Sharp i Villano, 2013



## 2.6 Krv

Krv, kao visoko specijalizovano vezivno tkivo ostvaruje transport hranljivih materija i O<sub>2</sub> do ćelija, odnosno prenos produkata metabolizma i CO<sub>2</sub> u suprotnom smjeru; distribuciju hormona i drugih regulatornih supstanci po organizmu (humoralnu regulaciju); regulaciju tjelesne temperature, osmotskog pritiska i acidobazne ravnoteže i imunološku odbranu organizma od infekcija, stranih agenasa, kao i sopstvenih transformisanih ćelija transportom imunoglobulina i ćelija imunog sistema (Anđelković *et al.*, 2002).



Slika br. 8 Hematokrit kapilare nakon nakon centrifugiranja uzorka krvi  
(Manojlović, 2015)

Količina krvi kod sisara se kreće oko 8% ukupne tjelesne mase (Ivanc i Dekić, 2006), kod ljudi prosječno 4-5 l na 70 kg tjelesne mase (Despopulus i Silbernagal, 2011). Kod pacova na volumen krvi otpada 5-7%, odnosno pacov težine 200 g ima 11-14 ml krvi (Lindstrom *et al.*, 2015). Krv se sastoji od tečne faze - plazme, 50-75% i uobličених elemenata krvi, 25-50% (Ivanc i Dekić, 2006). Krvna plazma je odvojiva od formiranih elemenata krvi, centrifugiranjem uz prethodno dodavanje antikoagulanasa. Preostaje hematokrit, talog eritrocita, na dnu epruvete, odnosno hematokrit kapilare, a iznad njega se javlja tanak sloj nataloženih leukocita i trombocita (slika 8).

**Krvna plazma** je prozračna tečnost, žućkaste boje, prilično stabilnog fizičko – hemijskog sastava, koja se prvenstveno sastoji iz vode, 90-92%, u kojoj su suspendovane mnoge supstance, hranjive materije, metaboliti, elektroliti, proteini, vitamini, hormoni i gasovi. Najzastupljeniji su proteini (tabela 3), pri čemu oko 58%



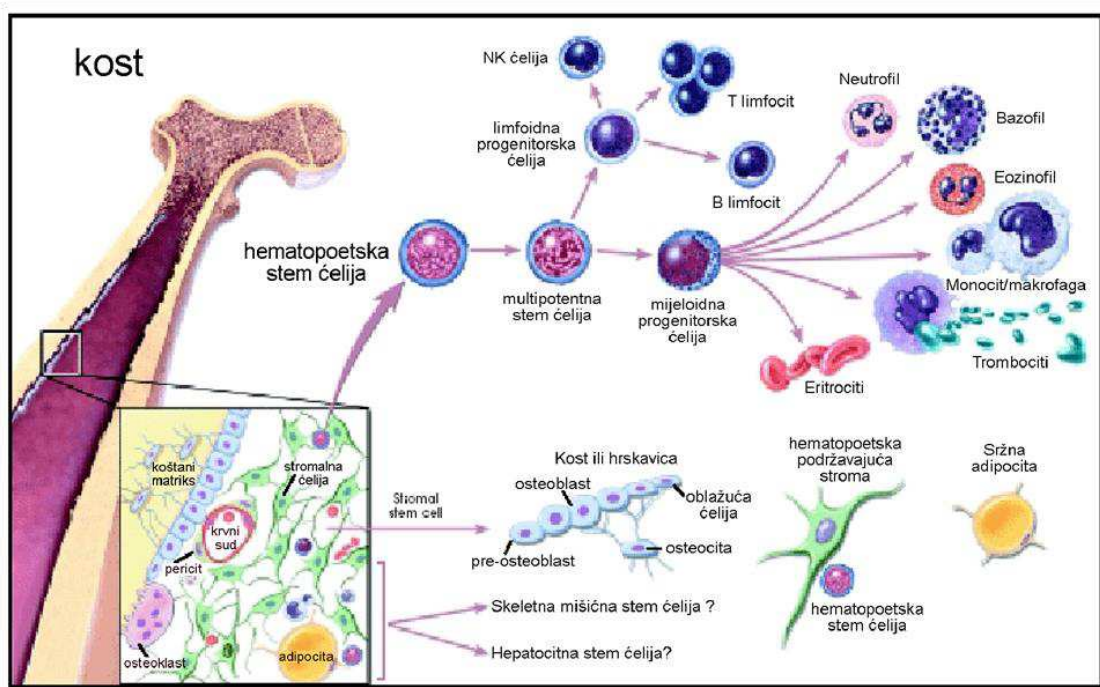
prisutnih proteina čine albumini, zatim globulini 38%, dok se fibrinogen se javlja sa oko 4% (Petković, 2013).

**Tabela br.3 Procentualno učešće i funkcija proteina krvne plazme (prema Anđelković et al., 2002)**

Proteini plazme	%	Funkcija
albumini	58	održavanje osmotskog pritiska, transport molekula
globulini	38	učestvuju u imunom sistemu
fibrinogen	4	koagulacija krvi

### 2.6.1 Nastanak uobličjenih elemenata krvi

Sve krvne ćelije nastaju u procesu hematopoeze, proliferacijom i diferencijacijom zajedničkih pluripotentnih matičnih (stem) ćelija u koštanoj srži.



**Slika br. 9 Hematopoeza**

(<https://biologina.files.wordpress.com/2013/01/picture1.png>)

Pluripotentne matične ćelije se dijele dajući multipotentne matične ćelije od kojih se odvajaju dvije loze – mijeloidna (eritrociti, granulociti, megakariociti i monociti) i limfoidna loza. Daljom diobom i sazrijevanjem ovih ćelija nastaju progenitorne, a tek onda prekusorske, od kojih će se diferencirati zrele ćelije krvi (slika 9). Hematopoeza je proces koji traje cijeli životni vijek, od embrionalnog razvića do

smrti jedinke. Odvija se u aktivnoj koštanoj srži, timusu, limfnim žlijezdama i slezeni (Petković, 2013).

### 2.6.2 Eritrociti

---

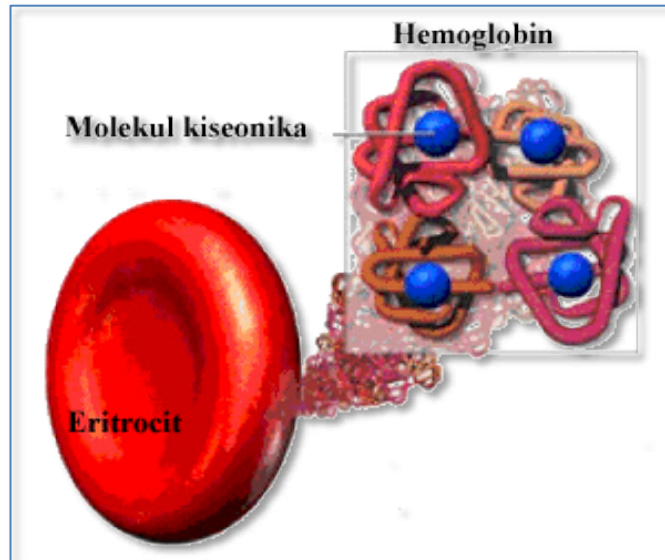
Nastaju eritrocitopoezom u koštanoj srži preko niza prelaznih formi, od proeritroblasta, bazofilnog, polihromatofilnog, acidofilnog eritroblasta do retikulocita na kraju, koji daju zrele eritrocite. Cijeli proces je regulisan nizom faktora, od kojih je najdominantniji hormon eritropoetin, čije primarno mjesto djelovanja predstavljaju unipotentne matične ćelije, predodređene za stvaranje proeritroblasta, a sekundarna uloga mu se zasniva na ubrzavanju ugradnje gvožđa u prostetičku grupu Hem, kao i ubrzavanje prelaska retikulocita u perifernu krv.

Eritrociti su visoko specijalizovane ćelije, okruglog bikonkavnog oblika, prečnika oko 7,5  $\mu\text{m}$ , debljine 2,6  $\mu\text{m}$  po periferiji, dok su u centralnom dijelu tanji (0,8 $\mu\text{m}$ ). Ovakav oblik ćelije obezbjeđuje 20-30% veću površinu od sferične ćelije istog volumena, radi efikasnije razmjene gasova (Anđelković *et al.*, 2002). Za razliku od drugih kičmenjaka, kod kojih je jedro postavljeno centralno, eritrociti sisara su bezjedarne strukture, pa se često označavaju terminom hemacije. Gubitak jedra eritrocita, do kojeg dolazi u toku evolucije sisara, smatra se adaptacijom za efikasniji prenos kiseonika, jer se manje troši za vlastiti metabolizam (Matavulj, 2004).

Broj eritrocita varira kod različitih životinjskih vrsta, ali zavisi i od pola, ishrane, klimatskih faktora, nadmorske visine i dr. Vrijednosti eritrograma laboratorijskog pacova predstavljene su u tabeli broj 2. Osnovna funkcija eritrocita - prenos kiseonika, je omogućena prisustvom endogenog pigmenta hemoglobina, dok je za prenos CO<sub>2</sub> zaslužan enzim karboanhidraza, koja se kao katalizator, tako što ubrzava reakciju između CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub>O, povećavajući kapacitet krvi za primanje i transport velike količine CO<sub>2</sub> od tkiva do respiratornih organa (Anđelković *et al.*, 2002).

Veoma bitna osobina eritrocita je mogućnost prolaska kroz fenestracije kapilara, koje su manjeg prečnika od samih eritrocita, što je omogućeno specifičnom građom plazmaleme eritrocita (50% proteina, 40% lipida i 10% ugljenih hidrata), koja joj obezbjeđuje elastičnost. Zahvaljujući negativnom naboju glikoproteida plazmaleme, eritrociti se međusobno odbijaju, dajući održavajući stabilnost suspenzije u krvnoj plazmi (Stojić, 2004).

Hemoglobin je hromoprotein, koji daje eritrocitima crvenu boju. Građen je iz četiri polipeptidna lanca ( $2\alpha + 2\beta$ ) i četiri prostetičke grupe, odnosno molekule hema (slika 10). Hem je građen iz četiri pirolova prstena i dvovalentnog željeza, koje se vezuje reverzibilno za kiseonik (Petković, 2013).



**Slika br. 10 Kvarterna struktura Hb**  
(<http://www.biologija.rs/eritrociti.html>)

Vezivanjem kiseonika za hemoglobin nastaje oksihemoglobin, stabilna molekula koja podliježe sporoj autooksidaciji (približno 3% na dan). Tokom ove reakcije, jedan elektron se prenosi od željeza do vezanog kiseonika pri čemu nastaje feri-superoksid kompleks. Deoksigenacijom, otpuštanjem kiseonika, otpušteni elektron se vraća željezu. Međutim, ukoliko se elektroni zadrže, kiseonik se transformiše u superoksidni radikal, pa željezo ostaje u feri obliku i na taj način se hemoglobin transformiše u methemoglobin, oblik u kojem je željezo oksidovano iz dvovalentnog u trovalentno i samim tim izgubilo sposobnost prenošenja kiseonika. Kada jedna ili više podjedinica hema ima oksidovano željezo ili vezan ugljen monoksid, kvaterna struktura proteina se promijeni i poveća se afinitet neoksidovanih hemijskih grupa prema kiseoniku, zbog čega se kiseonik teško oslobađa sa hema i vodi ka smanjenoj oksigenaciji tkiva (Stojić, 2004).

Životni vijek eritrocita je oko 120 dana, nakon čega dolazi do njihove destrukcije usljed starenja membrana, pa bivaju fagocitirane od strane ćelija retikulo-endotelijalnog sistema (RES) u kojima dolazi do destrukcije hemoglobina, pri čemu se molekula cijepa na hem i globin. Željezo se gotovo u potpunosti zadržava u organizmu, a porfirinski prsten se otvara i metaboliše u žučne boje, biliverdin i bilirubin (Ivanc i Dekić, 2006).

### 2.6.3 Leukociti

---

Nastaju hematopoezom (slika 9) u limfnim čvorovima i koštanoj srži i za razliku od eritrocita veći dio svog životnog vijeka provode van cirkulacije, pri čemu im je krv transportno sredstvo do ciljanog tkiva (Petković, 2013). Nasuprot eritrocitima, zreli leukociti posjeduju jedro, ćelijske organele i granule (Anđelković *et al.*, 2002). Zahvaljujući fagocitozi i ameboidnom kretanju, imaju odbrambenu funkciju u organizmu. Za njih je karakteristična dijapedeza, sposobnost prolaska kroz zidove kapilara i prelaska iz krvnog suda u međućelijske prostore i tkiva, tako da kada po napuštanju krvnog suda, procesom hemotaksije stimulirani hemoatraktantima (hemijskim medijatorima) migriraju do ciljnog žarišta (Marić i Simonović, 2006).

Leukociti se prema sastavu citoplazme, obliku jedra i afinitetu za boje dijele u dvije glavne grupe, na granulocite i agranulocite (Ivanc i Dekić, 2006).

#### 2.6.3.1 Granulociti

Nastaju od matične mijeloidne ćelije granulocitopoezom, preko niza prekursora, dajući na kraju zrele ćelije granulocitne loze čije citoplazmatske granule se u zavisnosti od afiniteta prema kiselim ili baznim bojama, različito boje, pa se dijele na: neutrofile, eozinofile i bazofile. Za stvaranje jedne generacije granulocita od matične ćelije potrebno je oko 10 dana (Anđelković *et al.*, 2002).

#### Neutrofili

Razlikuju se mladi, nesegmentirani neutrofili, čije jedno ima oblik kifle, slova U, V i S od starih, segmentiranih, kod kojih je jedro sastavljeno iz više (3-5) segmenata, međusobno spojenih tankim nitima - hromatinskim mostićima. Citoplazma im pri bojenju smješom kiselih i baznih boja dobija diskretnu ružičasto-žutu boju, u kojoj se uočavaju sitne granulacije svijetlonarandžaste boje. Imaju podjednako slab afinitet i prema kiselim i prema baznim bojama, pa se zato i nazivaju neutrofilima (Ivanc i Dekić, 2006).

Okruglog su oblika, prečnika od 10-12  $\mu\text{m}$ . U vaskularnom sistemu se zadržavaju nekoliko sati, nakon čega migriraju u druga tkiva gdje provode ostatak života, koji traje od 1-4 dana (Anđelković *et al.*, 2002).

Neutrofili čine prvu liniju odbrane organizma od bakterijskih infekcija tako što izlaze iz krvnih sudova i vrše fagocitozu. Pored toga, produkuju i leukotrijene, medijatore upalnog procesa, koji imaju vazodilatatorno dejstvo (Stojić, 2004). Ćelija

posjeduje rezerve glikogena i sposobnost njegovog anaerobnog metabolizma, što joj daje mogućnost preživljavanja u anaerobnim uslovima (kakvi obično vladaju na mjestima upalnog procesa).

Kako je uloga neutrofila u fagocitiranju sitnih čestica (bakterija, stranih čestica i drugih materija) nazivaju se još i mikroflagima, a zbog izgleda jedra i polimorfonuklearnim fagocitima (Ivanc i Dekić, 2006).

### Eozinofili

Odlikuju se istim oblikom i malo većim prečnikom od neutrofila, 11-14  $\mu\text{m}$ , kao i dužim životnim vijekom. Nakon oslobađanja iz koštane srži, cirkulišu krvnim sistemom narednih 6-10 sati, da bi onda migrirali u vezivno tkivo u kojem završavaju svoj životni vijek dug 8-12 dana (Anđelković *et al.*, 2002). U citoplazmi eozinofila dominiraju specifične granule koje pokazuju visok afinitet za kisele boje (eozin) po čemu su i dobili naziv. Pored specifičnih, zastupljen je i manji broj azurofilnih granula. Jedro im je najčešće segmentirano, sastavljeno iz dva dijela povezana uskim hromatinskim mostom, pa ima izgled bisaga, mada se javljaju i nesegmentirani oblici. Sadrže dosta histamina. Kod alergijskih i parazitskih bolesti značajno se povećava broj eozinofila u perifernoj krvi, a ova pojava se označava kao eozinofilija (Ivanc i Dekić, 2006). Fagocitoza je onemogućena veličinom parazita, tako da u njihovoj neposrednoj blizini oslobađaju sadržaj specifičnih granula, koje su po svojoj strukturi lizozomi i na taj način štite organizam. Poslije degranulacije eozinofili se podvrgavaju apoptozi (programiranoj ćelijskoj smrti) (Marić i Simonović, 2006).

### Bazofili

Bazofili su sitni (9-11  $\mu\text{m}$ ) i veoma slabo zastupljeni u perifernoj krvi, tako da ih mnogi autori ne navode pri opisu diferencijalne krvne slike pacova (Lindstrom *et al.*, 2015). Jedro se veoma slabo nazire, nepravilno je segmentirano, i obično je maskirano specifičnim granulama. Granule se baznim bojama boje izrazito tamno u plavo-ljubičasto, krupne su, pa kada je ćelija postavljena u profilu fokusiranjem se mogu primijetiti izraštaji kao na buzdovanu. Granulacije sadrže heparin, zahvaljujući kojem sprečavaju koagulaciju krvi gdje je usporen krvotok na upalnim mjestima. Značajni su pri alergijskim procesima (Ivanc i Dekić, 2006). Granule ispoljavaju bazofiliju, a zbog prisustva heparina i sposobnost metahromazije, odnosno svojstvo da se toluidin plavim boje ljubičasto (Anđelković *et al.*, 2002).

### 2.6.3.2 Agranulociti

Karakteriše ih nesegmentirano jedro i nespecifične (azurofilne) granule u citoplazmi, koje se boje u ljubičasto. Dije se na monocite i limfocite.

#### Monociti

Monociti, kao najkrupnije ćelije bijele loze, imaju prečnik oko 20  $\mu\text{m}$ . Karakteriše ih okrugao ili ovalan oblik, izražena membrana, homogena citoplazma i veliko, plavo obojeno jedro finog, mrežastog hromatina i bubrežastog oblika, rijetko segmentirano. Na perifernom razmazu krvi (posmatranom na svjetlosnom mikroskopu) citoplazma je sivkasto-modro obojena bez granulacija, međutim u posebnim slučajevima uočavaju se fine azurofilne granulacije, koje su rasute po citoplazmi kao prašina (Ivanc i Dekić, 2006). U cirkulaciji se zadržavaju oko 24 h, a najviše do 3 dana, da bi prešli u tkiva gdje prelaze u tkivne makrofage, koji imaju sposobnost ameboidnog kretanja i fagocitoze bakterija, virusa, nekrotičnog tkiva ili drugih stranih čestica koje su dospjele u tkiva, kako iz spoljašnje sredine tako i iz samog organizma (Anđelković *et al.*, 2002).

#### Limfociti

U odnosu na druge ćelije bijele loze, limfociti su relativno sitne ćelije, čije jedro zauzima do 95 % zapremine. Citoplazma im je bazofilna, bez granulacija i najčešće se uočava na jednoj strani ćelije, kao mlad mjesec, izrazito plave boje. Kod čovjeka su zastupljeni u velikom broju, čineći oko 1/3 od ukupnog broja bijelih krvnih ćelija (Ivanc i Dekić, 2006). Kod pacova je situacija obrnuta, na neutrofile otpada 1/3 ukupnog broja leukocita, dok limfociti izrazito dominiraju čineći izrazitu većinu svojim udjelom od 65-83% (tabela 2). U krvnom razmazu se uočavaju mali (prečnika od 7-8  $\mu\text{m}$ ) i veliki, (prečnika oko 12  $\mu\text{m}$ ) limfociti. U cirkulaciji se zadržavaju samo jedan dan, a zatim ameboidnim kretanjem prolaze kroz krvne sudove i naseljavaju rastresito vezivno tkivo respiratornog, digestivnog kao i dr. sistema u organizmu (Matavulj, 2004). Razlikuju se dvije osnovne grupe limfocita, B i T limfociti, koji imaju važnu funkciju u sekundarnom imunom odgovoru i stvaranju imunoglobulina (Ig), kao i treća grupa koja obuhvata specifične prirodno-bilačke ćelije, koje djeluju protiv virusom zaraženih i malignih ćelija (Lukač, 2004).



### 3. MATERIJAL I METODE RADA

#### 3.1. Postavka eksperimenta

Eksperimentalni dio rada je proveden u štalici Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci, na Wistar pacovima uzgojenim za tu svrhu. Koristile su se jedinke jednake starosti, približnih masa tijela, jednakih zastupljenosti polova, ukupno 160 jedinki, 80 ženki i 80 mužjaka.

##### 3.1.1. Uzgoj i držanje eksperimentalnih jedinki

---

Jedinke su držane u grupnim pleksiglas kavezima, na 12 časovnom režimu svjetlosti (07.00-19.00), temperaturi vazduha 22°C ( $\pm 2$ ), sa hranom (proizvod Veterinarskog zavoda Subotica, Subotica, Srbija) i vodom *ad libitum*.

Početkom eksperimenta individue su odvojene u odgovarajuće testne i kontrolne grupe. Omogućen im je period adaptacije u trajanju od 15 dana, nakon čega je započet tretman. Tretman je obuhvatao intoksikaciju olovo-acetatom (oznaka grupa Pb), aloksanom (oznaka All) i infekciju ešerihijom (oznaka E za inficirane jedinke i oznaka 0 za neinficirane jedinke). Dobijene vrijednosti praćenih parametara tretiranih jedinki su komparirane sa istim kod kontrolnih jedinki (oznaka K).

##### 3.1.2. Bakterijska suspenzija

---

Izvršena je intraperitonealna inokulacija 0,2 ml bakterijske suspenzije *Escherichia coli*, soj ATCC 11775, serotip O1:K1:H7, koja je sadržala  $3 \times 10^7$  CFU/ml.



*Slika br. 11 Ubrizgavanje bakterijske suspenzije intraperitonealno (Manojlović, 2013)*

Broj bakterija je određen spektrofotometrijski, određivanjem optičke gustine po standardnoj metodi ([http://delrio.dcccd.edu/jreynolds/microbiology/2421/lab\\_manual/counts.pdf](http://delrio.dcccd.edu/jreynolds/microbiology/2421/lab_manual/counts.pdf)). Ubrizgavanje je vršeno sterilnim iglama promjera 0,4 mm.

### 3.1.3. Tretman aloksanom

---

Zdrave jedinke Wistar pacova, ujednačene starosti i tjelesnih masa su podvrgnute tretmanu aloksanom (Alloxan monohydrate 98%, Sigma, New Jersey, USA) u dozi od 100 mg/kg. Aplikacija je vršena intraperitonealno u što kraćem vremenskom periodu i sa tačno određenom količinom za svaku jedinku pojedinačno. Tretman aloksanom je proveden u cilju izazivanja *diabetes mellitus* tip 1, tako da je nivo glukoze u krvi kontrolisan svakih 48 sati uzorkom krvi iz repne vene i upotrebom digitalnog glukometra Accu Check Active (Roche). Jedinke sa stabilnom hiperglikemijom su izdvojene u grupe All-0, All-E, All-Pb-0 i All-Pb-E za dalji tok eksperimenta.

### 3.1.4. Tok eksperimenta

---

#### **1. faza:**

- izdvajanje i adaptacija 40 zdravih jedinki, podjela na kontrolnu i testnu grupu,
- intraperitonealno ubrizgavanje 0,2 ml rastvora (CFU  $3 \times 10^7$ /ml) *Escherichia coli* jedinkama oba pola testnih grupa (K-E-24 i K-E-72) i fiziološkog rastvora jedinkama kontrolne grupe (K-0-24 i K-0-72);
- žrtvovanje 50% jedinki nakon 24 sata inkubacije (K-E-24 i K-0-24);
- žrtvovanje preostalih 50% jedinki nakon 72 sata inkubacije (K-E-72 i K-0-72).

#### **2. faza:**

- izdvajanje i adaptacija 40 zdravih jedinki, podjela na grupe (Pb-0-24, Pb-0-72, Pb-E-24 i Pb-E-72),
- petnaestodnevna intoksikacija jedinki olovo-acetatom (Lead(II) acetate trihydrate G.R.,  $C_4H_6O_4Pb \cdot 3H_2O$ , 99.5%, Lach-ner, s.r.o., Czech Republic) u koncentraciji od 1500 ppm putem vode *ad libitum*;
- intraperitonealno ubrizgavanje 0,2 ml rastvora (CFU  $3 \times 10^7$ /ml) *Escherichia coli* jedinkama oba pola grupa Pb-E-24 i Pb-E-72 i fiziološkog rastvora jedinkama grupa Pb-0-24, Pb-0-72;
- žrtvovanje 50% jedinki nakon 24 sata inkubacije (Pb-E-24, Pb-0-24);
- žrtvovanje preostalih 50% jedinki nakon 72 sata inkubacije (Pb-E-72, Pb-0-72).

#### **3. faza:**



- izdvajanje i adaptacija 40 zdravih jedinki, podjela na grupe (All-0-24, All-0-72, All-E-24 i All-E-72)
- indukcija *diabetes mellitus* tip 1 aloksanom – intraperitonealno;
- kontrola nivoa glukoze u krvi (Accu Check) iz repne vene;
- intraperitonealno ubrizgavanje 0,2 ml rastvora (CFU  $3 \times 10^7$ /ml) *Escherichia coli* jedinkama oba pola grupa All-E-24 i All-E-72 i fiziološkog rastvora jedinkama grupa All-0-24 i All-0-72;
- žrtvovanje 50% jedinki nakon 24 sata inkubacije (All-E-24, All-0-24);
- žrtvovanje preostalih 50% jedinki nakon 72 sata inkubacije (All-E-72, All-0-72).

#### **4. faza:**

- izdvajanje i adaptacija 40 zdravih jedinki, podjela na grupe (All-Pb-0-24, All-Pb-0-72, All-Pb-E-24 i All-Pb-E-72);
- petnaestodnevna intoksikacija jedinki olovo-acetatom u koncentraciji od 1500 ppm putem vode *ad libitum* uz istovremenu indukciju *diabetes mellitus* tip 1 aloksanom (intraperitonealno);
- kontrola nivoa glukoze u krvi (Accu Check) iz repne vene;
- intraperitonealno ubrizgavanje 0,2 ml rastvora (CFU  $3 \times 10^7$ /ml) *Escherichia coli* jedinkama oba pola grupa All-Pb-E-24 i All-Pb-E-72 i fiziološkog rastvora jedinkama grupa All-Pb-0-24 i All-Pb-0-72;
- žrtvovanje 50% jedinki nakon 24 sata inkubacije (All-Pb-E-24 i All-Pb-0-24);
- žrtvovanje 50% preostalih jedinki nakon 72 h inkubacije (All-Pb-E-72 i All-Pb-0-72).

#### 3.1.5. Anesteziranje životinja

Životinje su, prije uzimanja krvi, anestezirane ketaminom koncentracije 50 mg/kg (Ketaminol 10 100 mg/ml, Intervet, razrijeđen fiziološkim rastvorom u omjeru 1:10). Ketamin je jak anestetik, koji blokira provođenje impulsa bola do talamusnog i kortikalnog područja (Green *et al.*, 1981). Anestetik je ubrizgavan intramuskularno, u zapremini određenoj prema masi jedinke, sterilnim iglama promjera 0,4 mm.

#### 3.1.6. Način žrtvovanja

U skladu sa uputama etičkih komisija i komiteta za brigu o laboratorijskim životinjama sve jedinke su žrtvovane dekapitacijom pod dubokom anestezijom („Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“). Sve jedinke su žrtvovane u jutarnjim

časovima, u periodu od 08.00-10.00 časova, kako bi se izbjegle moguće varijacije dobijenih rezultata, jer većina praćenih parametara ima cirkadijanu ritmiku.

### 3.2. Uzimanje uzoraka krvi i određivanje hematoloških parametara

Po anesteziranju (15-20 minuta od aplikacije anestetika) prikupljena je krv kardijalnom punkcijom, u sterilnim uslovima, iglom promjera 1,2 mm i špricom zapremine 2 ml. Krv je odlagana u vakutenere sa antikoagulansom K<sub>3</sub>EDTA. Određeni su sljedeći hematološki parametri:

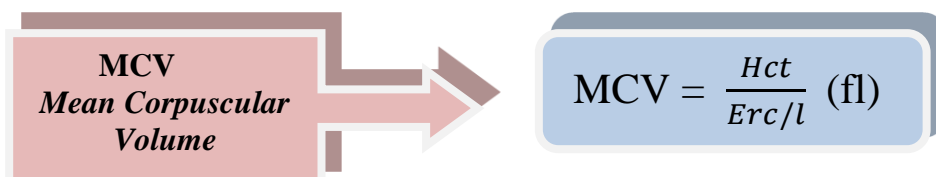
- Broj eritrocita /l krvi,
- Broj leukocita /l krvi,
- Hematokrit (odnos uobličjenih krvnih elemenata i krvne plazme),
- Koncentracija hemoglobina,
- MCV (srednja vrijednost zapremine eritrocita),
- MCH (srednja vrijednost količine hemoglobina u eritrocitu),
- MCHC (srednja vrijednost hemoglobina u litri eritrocita) i
- Diferencijalna krvna slika.

Broj uobličjenih elemenata krvi se određivao metodom brojanja u Thoma komori (Ivanc i Dekić, 2006) uz korištenje odgovarajućih rastvora (Hayem-ov rastvor, Türk-ov rastvor).

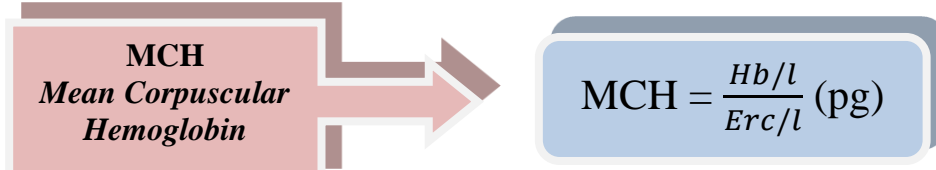
Hematokrit je utvrđen mikrometodom pomoću kapilarnih cjevčica. Korištena je hematokrit centrifuga sa čitačem (5 minuta na 16000 rpm) i heparisane cjevčice (Ivanc i Dekić, 2006).

Koncentracija Hgb je određena metodom po Drabkin-u po standardizovanom postupku, uz kolorimetar (Colormetar 254) i Drabkin-ov reagens (Ivanc i Dekić, 2006).

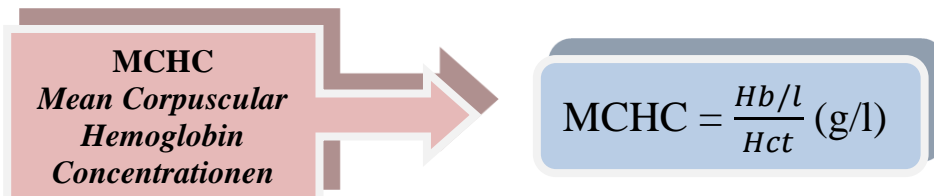
#### SREDNJA VRIJEDNOST ZAPREMI NE ERITROCITA


$$\text{MCV} = \frac{\text{Hct}}{\text{Erc/l}} \text{ (fl)}$$

#### SREDNJA VRIJEDNOST KOLIČINE HEMOGLOBINA U ERITROCITU


$$\text{MCH} = \frac{\text{Hb/l}}{\text{Erc/l}} \text{ (pg)}$$

### SREDNJA VRIJEDNOST HEMOGLOBINA U LITRU ERITROCITA



Hematološki indeksi (MCV, MCH, MCHC) su određeni računski po standardnim formulama (Ivanc i Dekić, 2006).

Diferencijalna krvna slika je određena diferenciranjem krvnih razmaza, koji su bojeni metodom po Pappenheim-u (kombinovano bojenje po May-Grünwald-u i Giemsa-i). Gotovi preparati su mikroskopirani pomoću imerzionog objektivu i imerzionog ulja radi diferenciranja elemenata (Ivanc i Dekić, 2006).

### 3.3. Morfometrijske metode i uzorkovanje unutrašnjih organa

Masa i dužina jedinke su izmjerene pod dubokom anestezijom. Masa jedinki u gramima je određena tehničkom vagom, a dužina jedinki u milimetrima pomoću mjerne trake. Potom je pristupljeno žrtvovanju jedinki. Unutrašnji organi (srce, jetra, bubrezi, slezena i testisi) su izvađeni u što kraćem vremenskom periodu, obrađeni i fiksirani. Za gonadosomatske indekse su odabrani samo testisi, zbog specifičnosti uzorkovanja i obrade ovarijuma.

Organosomatski indeksi predstavljaju odnos ukupne mase tijela u odnosu na masu određenog organa (Busacker *et al.*, 1990).

$$\text{OSI} = [\text{masa organa (g)} / \text{totalna masa tijela (g)}] \times 100$$

Koeficijent srca - cardiosomatic index (CSI), predstavlja odnos mase srca i totalne mase tijela.

Može se predstaviti formulom :

$$\text{CSI} = [\text{masa srca (g)} / \text{totalna masa tijela (g)}] \times 100.$$

Koeficijent slezene – spleensomatic index (SSI), predstavlja odnos mase slezene i mase tijela jedinke (Barber i Blake, 2006).

$$\text{SSI} = [\text{masa slezene (g)} / \text{totalna masa tijela (g)}] \times 100$$

Koeficijent gonada – gonadosomatic index (GSI), predstavlja odnos mase gonada i mase tijela jedinke.

$$\text{GSI} = [\text{masa gonada (g)} / \text{totalna masa tijela (g)}] \times 100.$$

Koeficijent jetre – liversomatic index (LSI), predstavlja odnos mase jetre i mase tijela jedinke.

$$\text{LSI} = [\text{masa jetre (g)} / \text{totalna masa tijela (g)}] \times 100.$$

Relativni prirast mase - Percentage of body weight gain, predstavlja odnos tjelesne mase nakon praćenog vremena u odnosu na masu zabilježenu na početku eksperimenta (Mamikutty *et al.*, 2014).

$$\text{BWG} = [\text{početna masa tijela (g)} - \text{krajnja masa t. (g)}] / \text{početna masa t. (g)} \times 100.$$

### 3.4. Statistička obrada podataka

Svi rezultati istraživanja su analizirani softverski u Office Excel 2010 pomoću parametara: **srednja vrijednost, minimum, maksimum, standardna devijacija i standardna greška**. Podaci su međusobno upoređeni **Studentovim t-testom** sa minimalnom statistički signifikantnom razlikom od  $r < 0,05$ .

Svi rezultati istraživanja su obrađeni i pomoću statističkog paketa SPSS 20.0. Za poređenje vrijednosti praćenih parametara pojedinačnih uzoraka korišteni su ANOVA i LSD test. SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) predstavlja statistički paket s velikim mogućnostima statističke i grafičke analize podataka, što mu omogućuje primjenu u različitim oblastima istraživanja (Pallant, 2007; Vuković *et al.*, 1999; Tenjović, 2000). Prilikom obrade podataka korišten je nivo pouzdanosti od 95 %.

Za procjenu se koriste vjerovatnoće od 95 % i 99 %, s tim da se u praksi najčešće koristi nivo pouzdanosti od 95 %, jer omogućuje istovremeno postizanje visoke pouzdanosti i relativno precizne procjene (Koprivica, 2001)

## 4. REZULTATI RADA I DISKUSIJA

### 4.1 Morfometrija

Masa i dužina svih jedinki su određene na početku, kao i na kraju eksperimenta. Po vađenju unutrašnjih organa (srce, jetra, bubrezi, slezena i testisi) određivane su i bilježene mase radi dobijanja organosomatskih indeksa, koji predstavljaju odnos ukupne mase tijela u odnosu na masu određenog organa (Busacker *et al.*, 1990).

#### 4.1.1. Kontrolne jedinke (K-0)

Za kontrolnu grupu je odabrano dvadeset zdravih jedinki, deset mužjaka i deset ženki, podijeljenih u grupe (K-0-24 ♂, K-0-24 ♀, K-0-72 ♂ i K-0-72 ♀).

**Tabela br. 4 Mase, prirast mase i dužina tijela kontrolnih jedinki<sup>4</sup>**

		tijelo m1 (g)	tijelo m2 (g)	prirast mase	tijelo d (mm)
K-O-24 ♂	1	103.61	120.76	16.55	184
	2	122.07	151.28	23.93	193
	3	119.24	142.17	19.23	195
	4	115.58	133.74	15.71	192
	5	189.01	219.03	15.88	220
K-O-24 ♀	1	126.15	145.80	15.58	200
	2	119.36	143.92	20.58	205
	3	111.04	140.30	26.35	200
	4	102.59	109.81	7.04	185
	5	120.56	142.68	18.35	208
K-O-72 ♂	1	114.97	127.30	10.72	190
	2	123.58	144.98	17.32	201
	3	105.32	125.48	19.14	203
	4	122.94	148.52	20.81	210
	5	100.59	127.48	26.73	205
K-O-72 ♀	1	103.77	134.14	29.27	202
	2	109.17	132.02	20.93	198
	3	128.22	150.58	17.44	205
	4	100.84	127.68	26.62	192
	5	97.51	103.60	6.25	188
K-O	AVG	<b>116.81</b>	<b>138.56</b>	<b>18.72</b>	<b>198.80</b>
	MIN	<b>97.51</b>	<b>103.60</b>	<b>6.25</b>	<b>184.00</b>
	MAX	<b>189.01</b>	<b>219.03</b>	<b>29.27</b>	<b>220.00</b>
	STDEV	<b>19.51</b>	<b>22.97</b>	<b>6.19</b>	<b>9.05</b>
	COV	<b>16.71</b>	<b>16.58</b>	<b>33.06</b>	<b>4.55</b>

<sup>4</sup> Tijelo m1 – masa tijela eksperimentalnih jedinki na početku tretmana, tijelo m2 – masa tijela eksperimentalnih jedinki u momentu žrtvovanja, tijelo d – dužina tijela.

Nakon petnaestodnevne adaptacije svim jedinkama je ubrizgano 0,2 ml fiziološkog rastvora intraperitonealno. Jedinke su žrtvovane 24, odnosno 72 sata nakon ubrizgavanja fiziološkog rastvora.

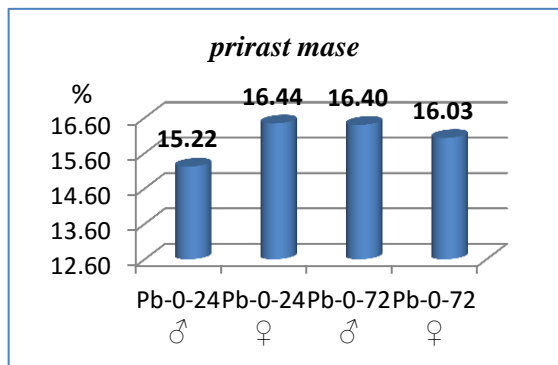
U momentu žrtvovanja prosječna **masa** jedinki je iznosila  $138.56 \pm 22.97$  grama. Sve jedinke su imale visoke pozitivne vrijednosti prirasta mase, u prosjeku  $18.72 \pm 6.19\%$ .

**Tabela br. 5 Organosomatski indeksi kontrolnih jedinki**

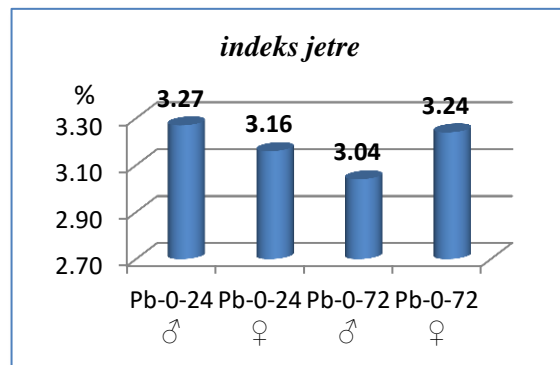
		indeks bubrega D	indeks bubrega L	indeks testisa D	indeks testisa L	indeks jetre	indeks slezene	indeks srca
K-O-24 ♂	1	0.29	0.29	0.76	1.03	3.25	0.25	0.21
	2	0.32	0.28	0.72	1.24	3.09	0.31	0.20
	3	0.30	0.32	0.96	1.39	2.95	0.24	0.17
	4	0.31	0.31	0.74	1.00	3.03	0.25	0.19
	5	0.29	0.27	0.68	1.18	3.02	0.31	0.14
K-O-24 ♀	1	0.29	0.27			2.98	0.32	0.22
	2	0.28	0.28			3.15	0.37	0.26
	3	0.33	0.31			3.01	0.35	0.25
	4	0.31	0.31			3.07	0.24	0.22
	5	0.31	0.30			2.36	0.34	0.24
K-O-72 ♂	1	0.27	0.28	0.73	0.99	2.73	0.22	0.17
	2	0.30	0.28	0.59	0.88	3.11	0.27	0.19
	3	0.29	0.29	0.54	0.75	3.04	0.23	0.18
	4	0.28	0.28	0.71	1.07	3.39	0.24	0.16
	5	0.30	0.29	0.44	0.58	3.15	0.25	0.20
K-O-72 ♀	1	0.31	0.33			3.15	0.32	0.24
	2	0.24	0.26			3.12	0.29	0.22
	3	0.33	0.35			2.84	0.31	0.21
	4	0.29	0.30			2.78	0.28	0.22
	5	0.28	0.27			2.86	0.23	0.22
K-O	<b>AVG</b>	<b>0.30</b>	<b>0.29</b>	<b>0.69</b>	<b>1.01</b>	<b>3.01</b>	<b>0.28</b>	<b>0.20</b>
	<b>MIN</b>	<b>0.24</b>	<b>0.26</b>	<b>0.44</b>	<b>0.58</b>	<b>2.36</b>	<b>0.22</b>	<b>0.14</b>
	<b>MAX</b>	<b>0.33</b>	<b>0.35</b>	<b>0.96</b>	<b>1.39</b>	<b>3.39</b>	<b>0.37</b>	<b>0.26</b>
	<b>STDEV</b>	<b>0.02</b>	<b>0.02</b>	<b>0.14</b>	<b>0.24</b>	<b>0.22</b>	<b>0.05</b>	<b>0.03</b>
	<b>COV</b>	<b>6.92</b>	<b>7.73</b>	<b>20.56</b>	<b>23.32</b>	<b>7.25</b>	<b>16.08</b>	<b>14.82</b>

Prosječne vrijednosti praćenih parametara za svaku grupu kontrolnih jedinki su prikazane grafički (grafikoni 1-6) .

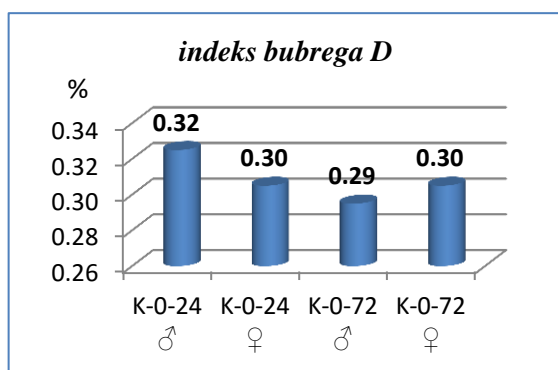
Nakon provjere normalnosti raspodjele Shapiro-Wilk-ovim testom izvršena je komparacija dobijenih vrijednosti primjenom Post Hoc, LSD testa višestruke komparacije.



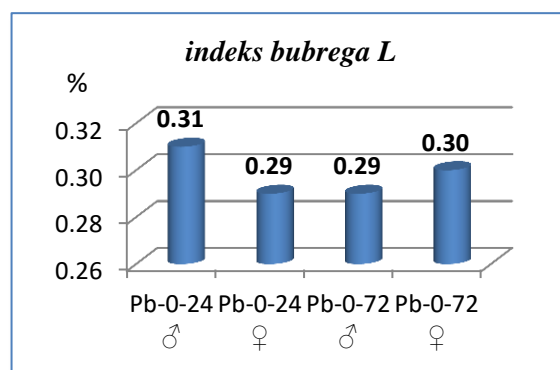
Grafikon br. 1 Prirast tjelesne mase kontrolnih jedinki



Grafikon br. 2 Organosomatski indeks jetre kontrolnih jedinki

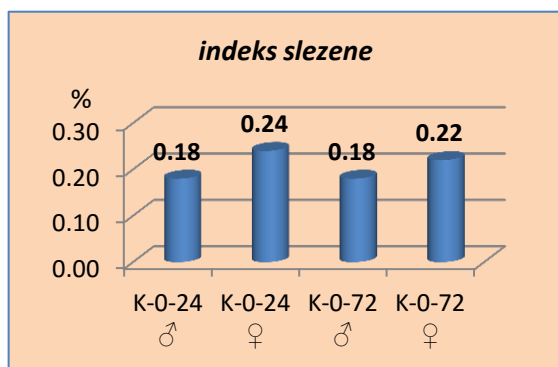


Grafikon br. 3 Organosomatski indeks desnog bubrega kontrolnih jedinki

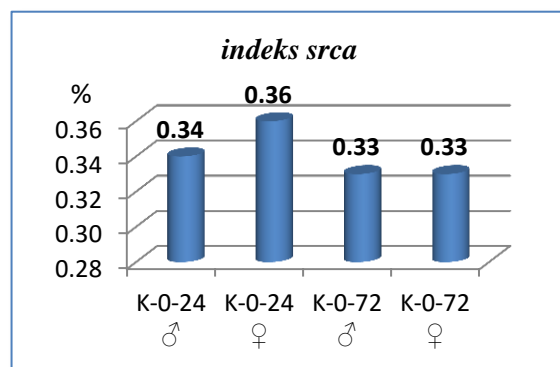


Grafikon br. 4 Organosomatski indeks lijevog bubrega kontrolnih jedinki

Statički značajna razlika se ne uočava poređenjem grupa kontrolnih jedinki za sljedeće parametre: indeks jetre, indeks srca, indeks desnog bubrega, indeks lijevog bubrega i prirast tjelesne mase. Međutim, indeks slezene pokazuje signifikantno nižu vrijednost kod mužjaka K-0-24 u poređenju sa ženkama K-0-24 ( $p=0.000$ ) i K-0-72 ( $p=0.004$ ), kao i kod mužjaka K-0-72 u komparaciji sa ženkama (K-0-24 ♀,  $p=0.000$  i K-0-72,  $p=0.003$ ).



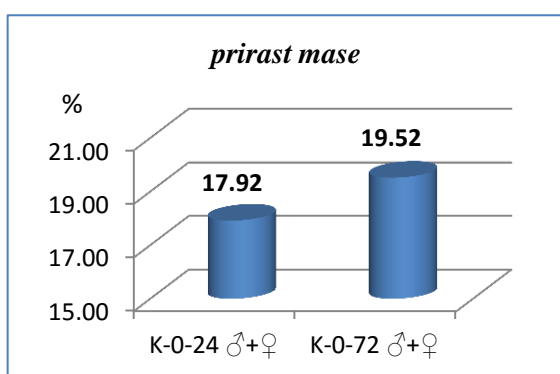
Grafikon br. 5 Organosomatski indeks slezene kontrolnih jedinki



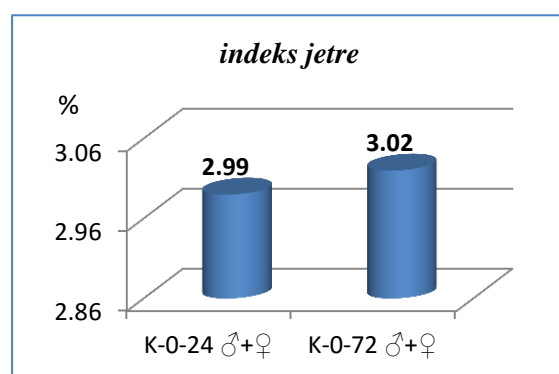
Grafikon br. 6 Organosomatski indeks srca kontrolnih jedinki

Kako su vrijednosti organosomatskih indeksa usko vezane za starosnu dob pacova, kao i pol (Pecora i Highman; 1956, Cesta, 2006; Yamano *et al.*, 1998) u korelaciji su i sa prisustvom masnog tkiva i ukupnom povećanju mase jedinki, što je posebno karakteristično za mužjake (Piao *et al.*, 2013). Opseg referentnih vrijednosti za organosomatske indekse laboratorijskih pacova varira od autora do autora (Addou-Benounan *et al.*, 2009; Onyeanusu *et al.*, 2009; Pecora i Highman, 1956; Gatsing *et al.*, 2005; Mulla *et al.*, 2010; Piao *et al.*, 2013; Blamey i Evans, 1971; Uduak *et al.*, 2013 i drugih), pri čemu se dobijene vrijednosti svih praćenih parametara kontrolnih jedinki nalaze u okviru istih.

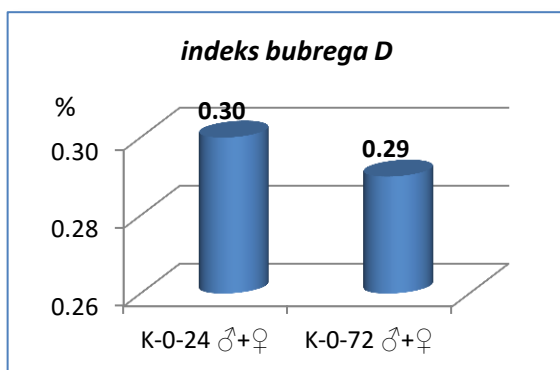
### 4.1.1.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)



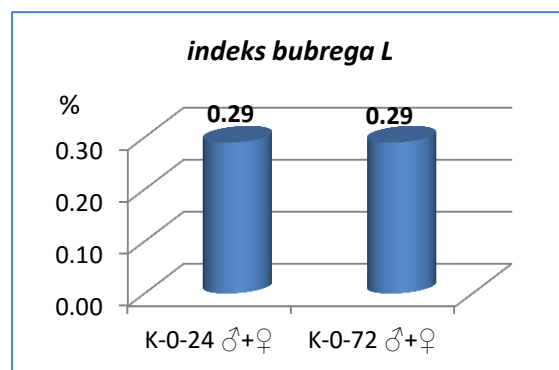
**Grafikon br. 7** Komparacija vrijednosti prirasta mase između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 8** Komparacija vrijednosti indeksa jetre između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



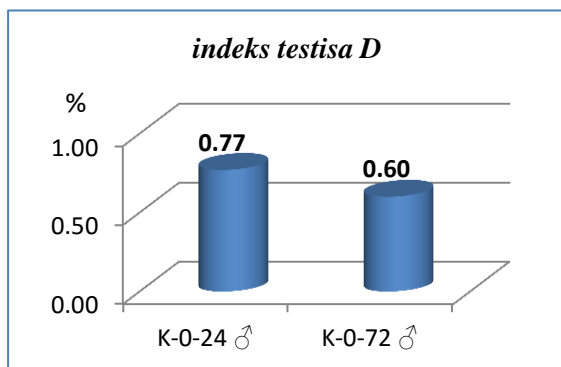
**Grafikon br. 9** Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



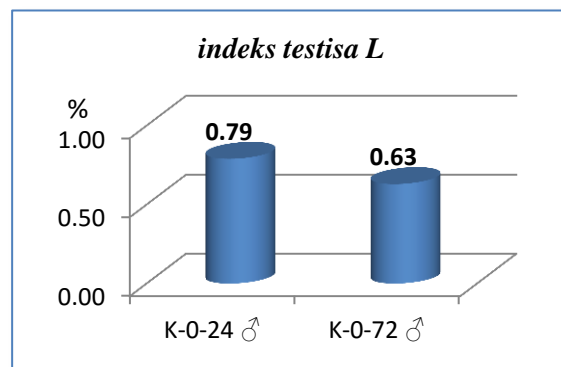
**Grafikon br. 10** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



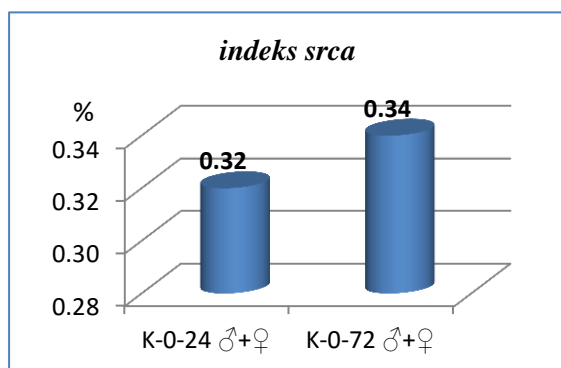
Primjenom nezavisnog T testa ne uočavaju se statistički značajne razlike praćenih morfometrijskih parametara između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata od intraperitonealnog ubrizgavanja fiziološkog rastvora (grafikoni 7-14).



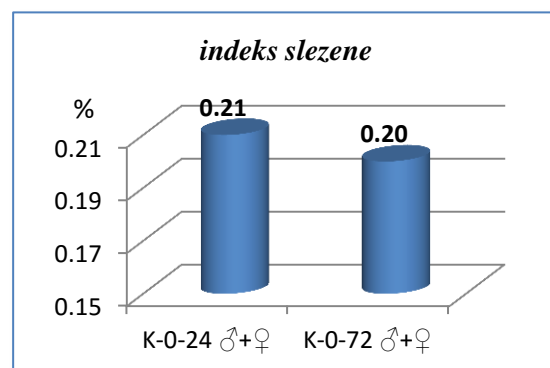
**Grafikon br. 11** Komparacija vrijednosti indeksa desnog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 12** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



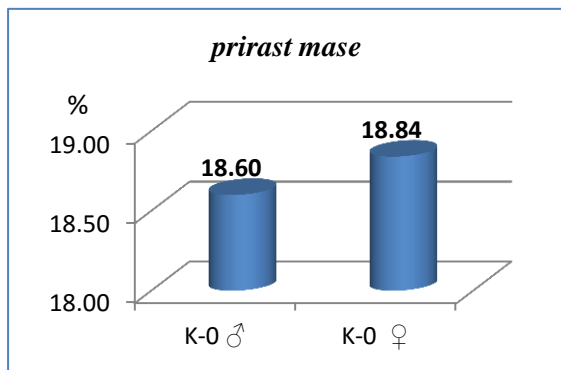
**Grafikon br. 13** Komparacija vrijednosti indeksa srca između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



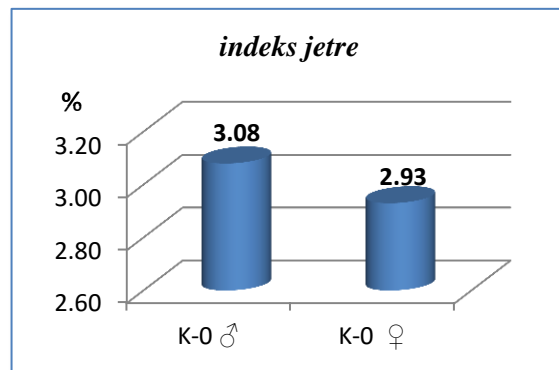
**Grafikon br. 14** Komparacija vrijednosti indeksa slezene između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

### 4.1.1.2 Morfometrijske karakteristike i pol

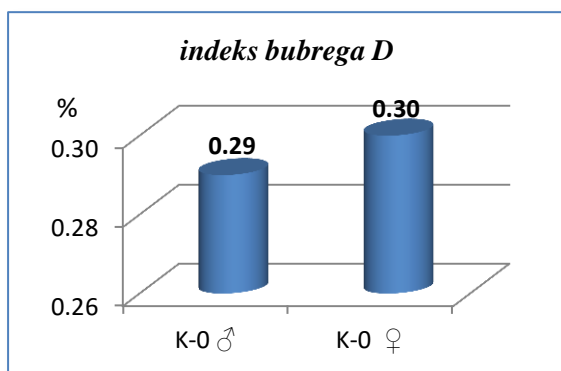
Komparacijom jedinki različitog pola ne uočavaju se statistički značajne razlike praćenih morfometrijskih parametara, osim organosomatskog indeksa slezene ( $p=0.000$ ). Kod ženki kontrolne grupe uočavaju se značajno veće vrijednosti ovog indeksa, 0.23%, u odnosu na mužjake, 0.18%, što je u skladu sa literaturnim podacima (Piao *et al.*, 2013), jer se kod mužjaka u većini slučajeva brže povećava ukupna tjelesna masa, u odnosu na pojedine indekse organa (grafikoni 15-20).



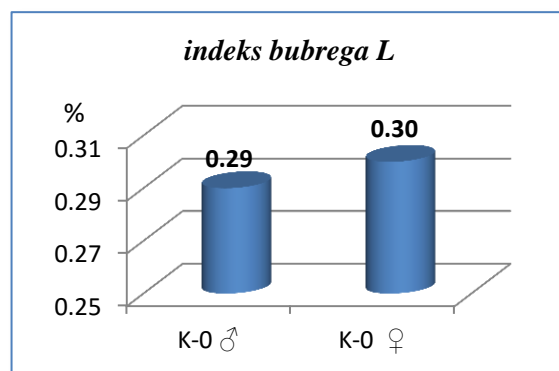
Grafikon br. 15 Komparacija vrijednosti prirasta mase između mušjaka i ženki



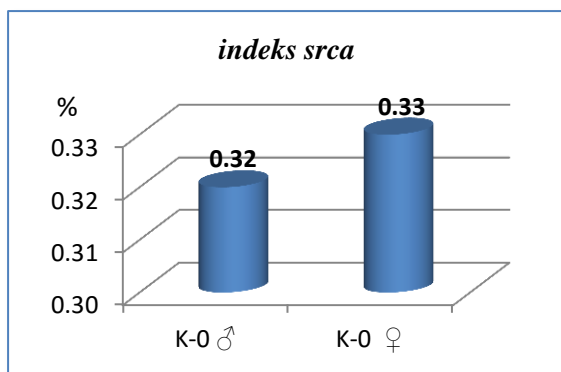
Grafikon br. 16 Komparacija vrijednosti indeksa jetre između mušjaka i ženki



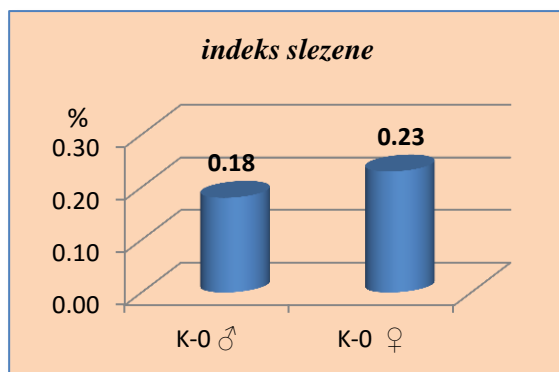
Grafikon br. 17 Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između mušjaka i ženki



Grafikon br. 18 Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između mušjaka i ženki



Grafikon br. 19 Komparacija vrijednosti indeksa srca između mušjaka i ženki



Grafikon br. 20 Komparacija vrijednosti indeksa slezene između mušjaka i ženki

### 4.1.2. Kontrolne jedinice inficirane ešerihijom (K-E)

Nakon petnaestodnevne adaptacije dvadeset zdravih jedinica oba pola, podijeljenih u grupe (K-E-24 ♂, K-E-24 ♀, K-E-72 ♂ i K-E-72 ♀) pristupilo se intraperitonealnom ubrizgavanju bakterijske suspenzije 0,2 ml rastvora (CFU  $3 \times 10^7$ /ml) *Escherichia coli*.

**Tabela br. 6 Masa, prirast mase i dužina tijela jedinki inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**

		tijelo m1 (g)	tijelo m2 (g)	prirast mase	tijelo d (mm)
K-E-24 ♂	1	171.30	203.45	18.77	225
	2	127.36	142.37	11.79	185
	3	134.64	151.83	12.77	195
	4	126.31	147.83	17.04	180
	5	140.57	162.72	15.76	190
K-E-24 ♀	1	123.77	149.57	20.85	202
	2	117.68	138.07	17.33	190
	3	118.02	139.72	18.39	200
	4	128.96	147.31	14.23	213
	5	90.27	100.60	11.44	179
K-E-72 ♂	1	149.07	150.10	0.69	190
	2	135.97	162.05	19.18	195
	3	115.76	137.30	18.61	192
	4	162.38	191.40	17.87	194
	5	112.99	141.96	25.64	183
K-E-72 ♀	1	148.26	162.40	9.54	197
	2	145.56	156.02	7.19	193
	3	102.58	122.36	19.28	190
	4	122.61	151.76	23.77	195
	5	138.67	166.92	20.37	200
K-E	AVG	<b>130.64</b>	<b>151.29</b>	<b>16.02</b>	<b>194.40</b>
	MIN	<b>90.27</b>	<b>100.60</b>	<b>0.69</b>	<b>179.00</b>
	MAX	<b>171.30</b>	<b>203.45</b>	<b>25.64</b>	<b>225.00</b>
	STDEV	<b>19.42</b>	<b>21.86</b>	<b>5.85</b>	<b>10.66</b>
	COV	<b>14.86</b>	<b>14.45</b>	<b>36.48</b>	<b>5.48</b>

Deset jedinica oba pola (K-E-24 ♂ i K-E-24 ♀) je žrtvovano pri 24-časovnom trajanju infekcije, a preostalih deset (K-E-72 ♂ i K-E-72 ♀) 72 sata od aplikacije bakterijske suspenzije. Dobijene vrijednosti morfometrijskih parametara svih jedinica obuhvaćenih ovim dijelom eksperimenta su predstavljene u tabeli broj 6.

**Dužina tijela** eksperimentalnih jedinki inficiranih ešerihijom se kretala od 179 do 225 mm, sa srednjom vrijednosti 194.40 mm uz koeficijent variranja 5.48% i standardnom devijacijom od 10.66.

**Tabela br. 7 Organosomatski indeksi jedinki inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**

		indeks bubrega D	indeks bubrega L	indeks testisa D	indeks testisa L	indeks jetre	indeks slezene	indeks srca
K-E-24 ♂	1	0.31	0.32	0.71	0.67	3.39	0.18	0.31
	2	0.26	0.30	0.76	0.78	2.75	0.19	0.38
	3	0.37	0.36	0.68	0.72	3.33	0.19	0.34
	4	0.35	0.34	0.72	0.73	3.50	0.20	0.34
	5	0.29	0.25	0.60	0.67	3.40	0.24	0.34
K-E-24 ♀	1	0.31	0.29			2.80	0.27	0.34
	2	0.28	0.29			3.08	0.22	0.35
	3	0.30	0.29			3.25	0.26	0.39
	4	0.30	0.31			2.94	0.24	0.35
	5	0.29	0.28			3.74	0.30	0.38
K-E-72 ♂	1	0.29	0.31	0.76	0.82	2.94	0.22	0.31
	2	0.28	0.28	0.71	0.72	3.12	0.25	0.37
	3	0.29	0.31	0.74	0.78	2.86	0.22	0.38
	4	0.29	0.30	0.69	0.71	3.06	0.23	0.28
	5	0.30	0.27	0.63	0.66	3.19	0.25	0.32
K-E-72 ♀	1	0.29	0.31			3.74	0.23	0.33
	2	0.30	0.31			3.17	0.22	0.31
	3	0.29	0.29			3.29	0.28	0.36
	4	0.27	0.29			2.97	0.19	0.30
	5	0.34	0.32			3.01	0.26	0.34
K-E	<b>AVG</b>	<b>0.30</b>	<b>0.30</b>	<b>0.70</b>	<b>0.73</b>	<b>3.18</b>	<b>0.23</b>	<b>0.34</b>
	<b>MIN</b>	<b>0.26</b>	<b>0.25</b>	<b>0.60</b>	<b>0.66</b>	<b>2.49</b>	<b>0.18</b>	<b>0.28</b>
	<b>MAX</b>	<b>0.37</b>	<b>0.36</b>	<b>0.76</b>	<b>0.82</b>	<b>3.74</b>	<b>0.30</b>	<b>0.39</b>
	<b>STDEV</b>	<b>0.03</b>	<b>0.02</b>	<b>0.05</b>	<b>0.05</b>	<b>0.28</b>	<b>0.03</b>	<b>0.03</b>
	<b>COV</b>	<b>7.26</b>	<b>6.95</b>	<b>7.87</b>	<b>7.47</b>	<b>8.85</b>	<b>11.21</b>	<b>8.31</b>

Prosječna **masa** eksperimentalnih životinja na početku eksperimenta je iznosila 130.64 grama, u rasponu od 90.27 do 171.30 grama, sa koeficijentom variranja 14.86% i standardnom devijacijom od 19.42. Po tretmanu, u momentu žrtvovanja, prosječna masa je iznosila 151.29 grama sa koeficijentom variranja 14.45% i standardnom devijacijom 21.86.

**Prirast mase** Wistar pacova inficiranih ešerihijom *Escherichia coli* je iznosio od 0.69 do 25.64%, prosječno 16.02%, u odnosu na početak eksperimenta (standardna devijacija 5.85 i koeficijent variranja 36.48).

Organosomatski indeksi tretiranih jedinki su obuhvaćeni tabelom br.7 . **Indeks desnog bubrega** pokazuje najnižu vrijednost, 0.26% tjelesne mase, dok je najviša konstatovana vrijednost iznosila 0.37% ukupne tjelesne mase.

Najniže zabilježene vrijednosti **indeksa lijevog bubrega** su iznosile 0.25%, a najviše 0.36% tjelesne mase ispitivane jedinke sa prosječnom vrijednošću od 0.35%, sa koeficijentom variranja 6.94500 i standardnom devijacijom 0.024257.

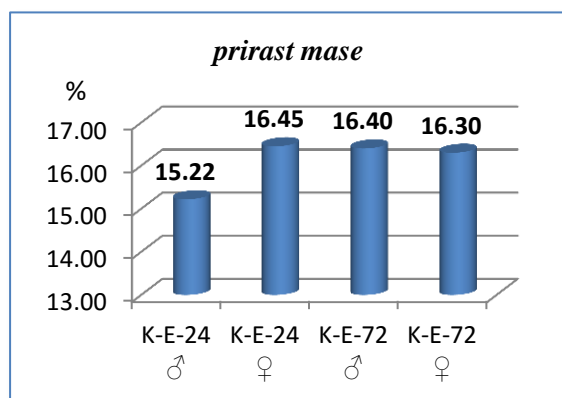
Vrijednosti **indeksa desnog testisa** su se kretale od 0.60 do 0.76% ukupne tjelesne mase, sa prosječnom vrijednošću od 0.70%. Za **lijevi testis** su zabilježene slične vrijednosti, pri čemu je indeks imao prosječnu vrijednost 0.73% tjelesne mase, a najniža vrijednost je iznosila 0.66% i najviša 0.82%.

Za **indeks jetre** zabilježene su vrijednosti u intervalu od 2.49 do 3.74%, pri čemu je prosjek cijele grupe jedinki tretiranih ešerihijom iznosi 3.06%.

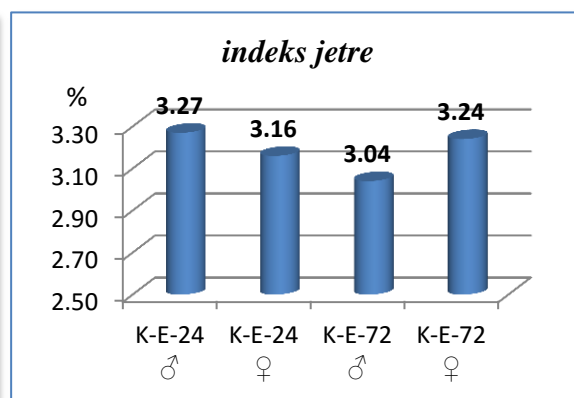
**Indeks slezene** se kretao od 0.18 - 0.30% tjelesne mase, prosječne vrijednosti 0.26%. Srednja **vrijednost indeksa srca** je iznosila 0.35% tjelesne mase (tabela 7.).

Prosječne vrijednosti praćenih parametara za svaku grupu jedinki inficiranih ešerihijom su prikazane grafički (grafikoni 21-26) .

Pri infekciji ešerihijom uočeno je da su najmanji **prirast mase** (grafikon br. 21 ) ostvarile jedinke muškog pola žrtvovane 24 časa po administraciji bakterijske suspenzije (K-E-24 ♂), pri čemu je prosjek grupe iznosio 15.22%. Najveće promjene tjelesne mase tokom eksperimenta su konstatovane za ženke iz grupe K-E-24, tako da je prosječan prirast mase ove grupe iznosio 16.44%.

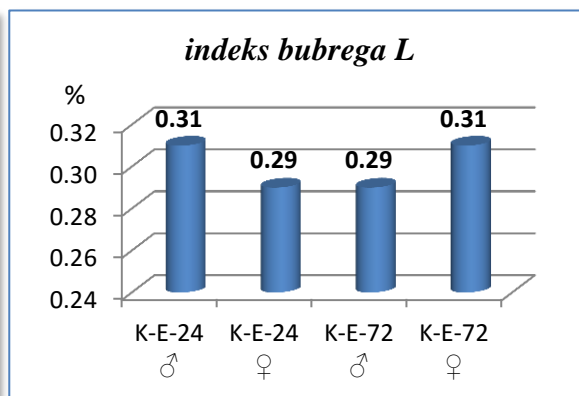
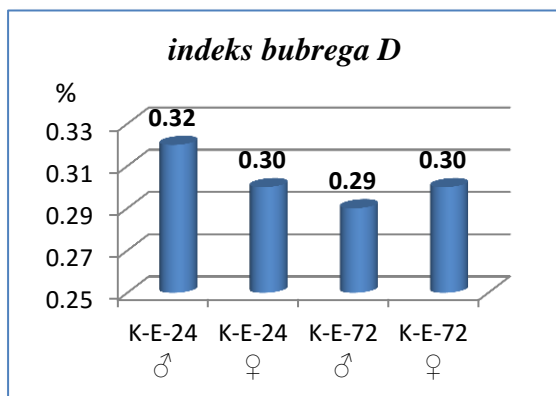


Grafikon br. 21 Prirast tjelesne mase jedinki inficiranih ešerihijom



Grafikon br. 22 Organosomatski indeks jetre jedinki inficiranih ešerihijom

Vrijednosti **indeksa jetre** (grafikon br. 22) su se kretale u rasponu od 3.04% kod mužjaka grupe žrtvovane 72 sata po izazivanju infekcije (K-E-72 ♂) do 3.27% konstatovanih kod mužjaka žrtvovanih 24 časa po tretmanu (K-E-24 ♂).



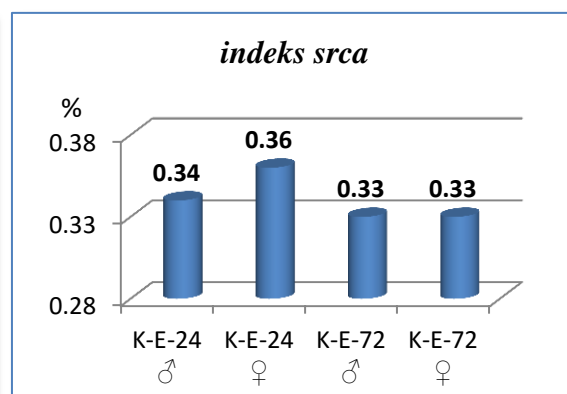
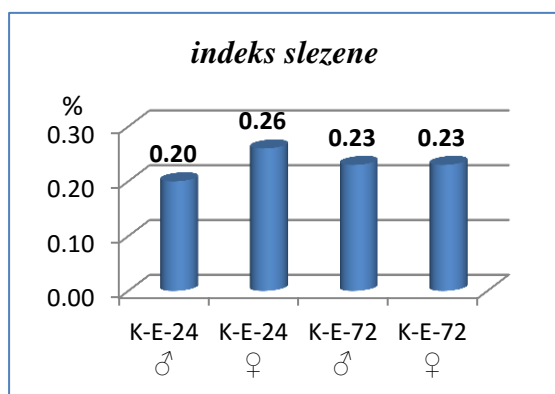
Grafikon br. 23 Organosomatski indeks

Grafikon br. 24 Organosomatski indeks

*desnog bubrega jedinki inficiranih ešerihijom lijevog bubrega jedinki inficiranih ešerihijom*

Najniže vrijednosti **indeksa desnog bubrega** su uočene kod mužjaka grupe K-E-72 (0.29%), a najviše kod mužjaka grupe K-E-24 (0.32%). Vrijednosti organosomatskog **indeksa lijevog bubrega** su se kretale od 0.29%, uočenih kod ženki grupe K-E-24 i mužjaka grupe K-E-72, do 0.31% zabilježenih za mužjake žrtvovane nakon dvadesetčetveročasovne infekcije (K-E-24 ♂).

Dobijene vrijednosti organosomatskog **indeksa slezene** svoj minimum dostižu kod eksperimentalnih jedinki inficiranih ešerihijom iz grupe K-E-24 ♂ (0.20% tjelesne mase). Najviše vrijednosti ovog indeksa su dostigle 0.26% ukupne tjelesne mase i konstatovane su za ženke žrtvovane nakon dvadesetčetveročasovne infekcije (K-E-24 ♀) (grafikon br. 25).



Grafikon br. 25 Organosomatski indeks slezene jedinki inficiranih ešerihijom

Grafikon br. 26 Organosomatski indeks srca jedinki inficiranih ešerihijom

Najniže vrijednosti **indeksa srca**, 0.33% tjelesne mase, su uočene kod mužjaka i ženki žrtvovanih nakon sedamdesetdvočasovne infekcije (K-E-72 ♂ i K-E-72 ♀), dok su prosječne vrijednosti kod mužjaka žrtvovanih 24 časa nakon početka infekcije iznosile 0.34% (K-E-24 ♂), da bi svoj maksimum, 0.36 %, dostigle kod ženki s istim periodom izloženosti tretmanu (K-E-24 ♀). (tabela br. 7, grafikon br. 26.).

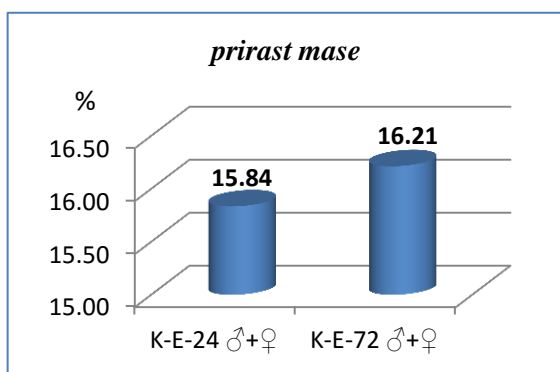
Zou i saradnici (2006) su konstatovali da infekcija izazvana bakterijom *Escherichia coli* ne dovodi do promjene organosomatskih indeksa jetre, slezene, tankih crijeva i pluća laboratorijskih pacova.

Dobijene vrijednosti svih praćenih morfometrijskih parametara kontrolnih jedinki inficiranih ešerihijom se nalaze u okviru referentnih vrijednosti za Wistar pacove (Addou-Benounan *et al.*, 2009; Onyeanusu *et al.*, 2009; Pecora i Highman, 1956; Gatsing *et al.*, 2005; Mulla *et al.*, 2010; Piao *et al.*, 2013; Blamey i Evans, 1971; Uduak *et al.*, 2013 i drugi).

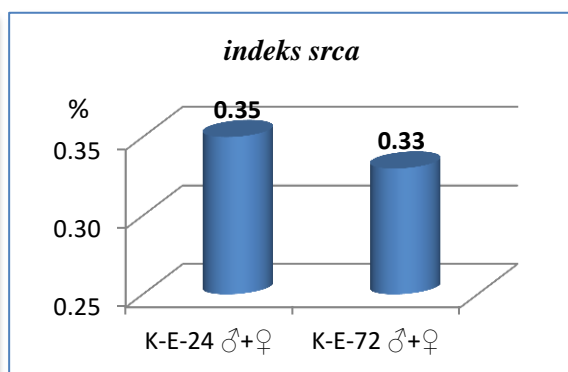
Komparacijom dobijenih podataka praćenih parametara nisu uočene statistički značajne razlike između pojedinih grupa.

### 4.1.2.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

Vrijednosti morfometrijskih parametara jedinki žrtvovanih 24 časa po intraperitonealnom ubrizgavanju bakterijske suspenzije 0,2 ml rastvora (CFU  $3 \times 10^7$ /ml) *Escherichia coli* sa jedinkama žrtvovanim nakon 72 časa su upoređene T testom, nakon provjere normalnosti distribucije (Shapiro-Wilk-ovim testom) i homogenosti skupa (Leven-ovim testom) (Independent Samples Test, T-test for Equality of Means, SPSS 20.0).

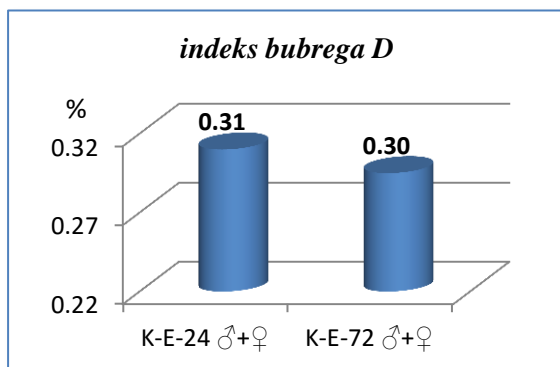


**Grafikon br. 27** Komparacija vrijednosti prirasta između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

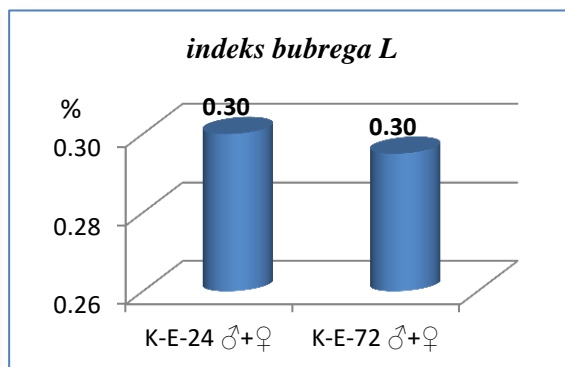


**Grafikon br. 28** Komparacija vrijednosti indeksa srca između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

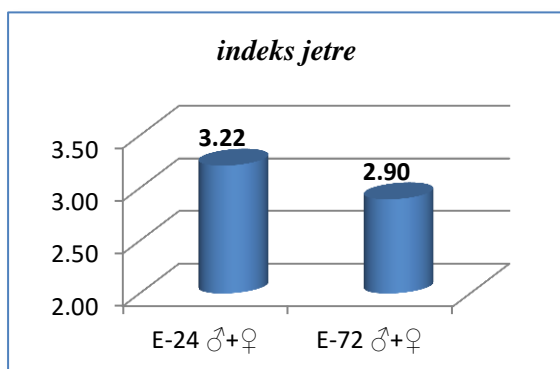
Komparacijom dobijenih vrijednosti organosomatskih indeksa nisu uočene statistički značajne razlike ( $p > 0.050$ ): za prirast mase, za indeks srca, indeks desnog bubrega, indeks lijevog bubrega, indeks jetre i indeks slezene (grafikoni 27-34).



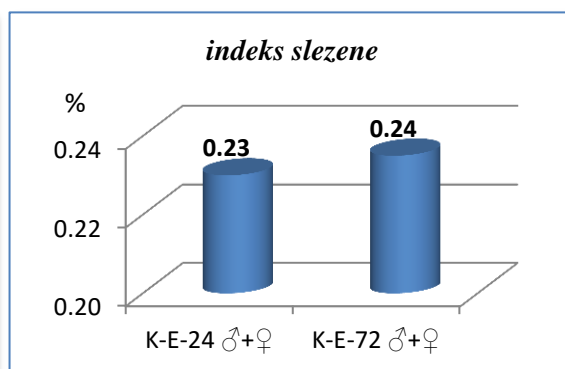
**Grafikon br. 29** Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



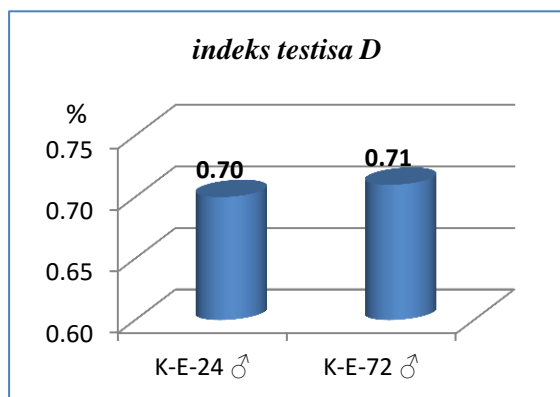
**Grafikon br. 30** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



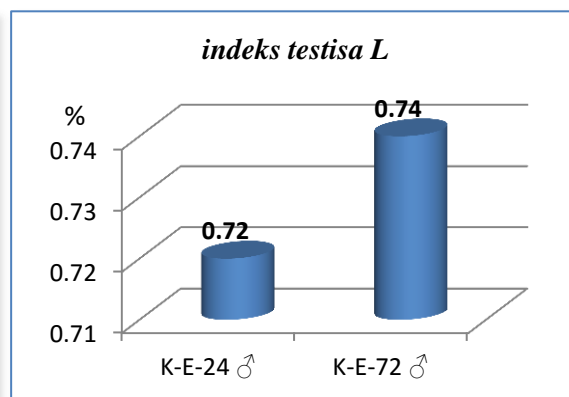
**Grafikon br. 31** Komparacija vrijednosti indeksa jetre između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 32** Komparacija vrijednosti indeksa slezene između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 33** Komparacija vrijednosti indeksa desnog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



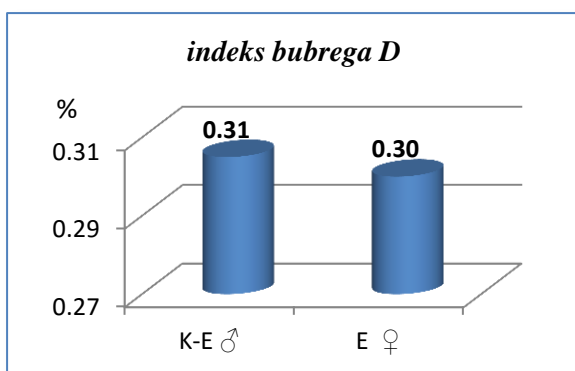
**Grafikon br. 34** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



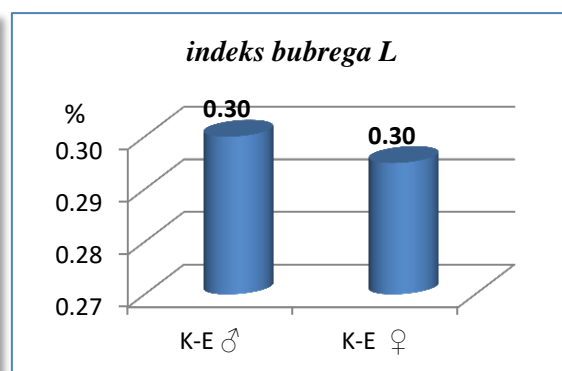
Niže vrijednosti indeksa testisa su zabilježene kod mužjaka K-E-24 (0.70 i 0.72%), u odnosu na mužjake K-E-72 (0.71 i 0.74%), pri čemu se ne uočava statistički značajna razlika poređenjem dobijenih vrijednosti kod mužjaka žrtvovanih u različitom postaplikativnom periodu ( $p>0.050$ ).

### 4.1.2.2 Morfometrijske karakteristike i pol

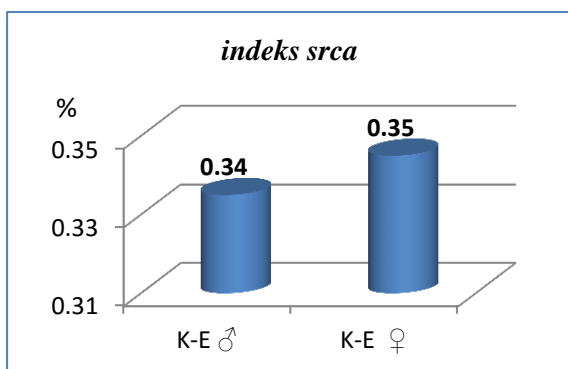
Komparacijom dobijenih vrijednosti morfometrijskih parametara između jedinki različitog pola, statistički značajna razlika nije konstatovana za prirast mase, indeks desnog bubrega, indeks lijevog bubrega, indeks jetre i indeks srca, dok je uočena kod organosomatskog indeksa slezene (grafikoni 35-40).



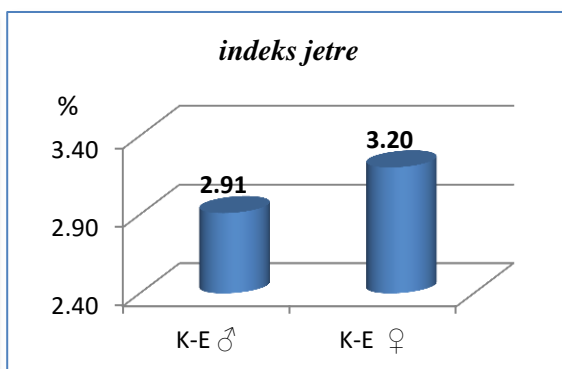
**Grafikon br. 35** Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 36** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između mužjaka i ženki

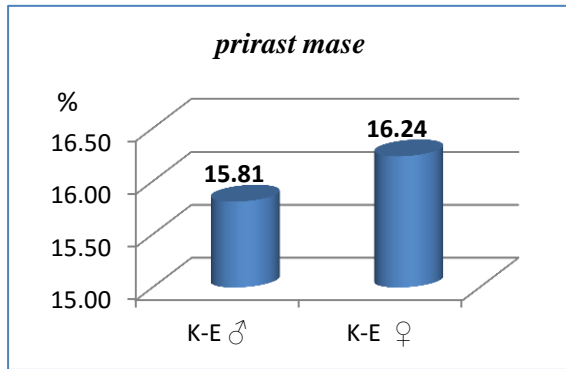


**Grafikon br. 37** Komparacija vrijednosti indeksa srca između mužjaka i ženki

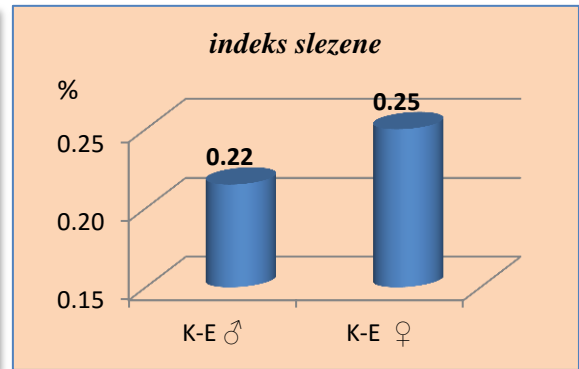


**Grafikon br. 38** Komparacija vrijednosti indeksa jetre između mužjaka i ženki

Veći udio slezene u ukupnoj tjelesnoj masi je konstatovan kod jedinki ženskog pola (0.25%:0.22%) u odnosu na jedinice muškog pola, pri čemu je statistički značaj iznosio 0.034 (grafikon 40).



*Grafikon br. 39 Komparacija vrijednosti prirasta mase između mužjaka i ženki*



*Grafikon br. 40 Komparacija vrijednosti indeksa slezene između mužjaka i ženki*

### 4.1.3. Tretman olovo-acetatom (Pb-0)

Dvadeset zdravih jedinki oba pola je izdvojeno i nakon petnaestodnevne adaptacije podijeljeno u grupe Pb-0-24 ♂, Pb-0-24 ♀, Pb-0-72 ♂ i Pb-0-72 ♀. Sve jedinke su pojene rastvorom olovo-acetata u koncentraciji od 1500 ppm (putem vode *ad libitum*) tokom četrnaest dana. Potom im je intraperitonealno ubrizgano 0,2 ml fiziološkog rastvora i grupe Pb-0-24 su žrtvovane 24, a grupe Pb-0-72 72 sata kasnije. Dobijene vrijednosti morfometrijskih parametara ukupnog uzorka su predstavljene u tabelama 8 i 9.

**Tabela br. 8 Masa, prirast mase i dužina tijela jedinki pojenih olovo-acetatom**

		tijelo m1 (g)	tijelo m2 (g)	prirast mase	tijelo d (mm)
Pb-O-24 ♂	1	166.46	187.83	12.84	203
	2	149.30	165.95	11.15	187
	3	188.17	199.48	6.01	192
	4	146.60	151.87	3.59	184
	5	171.36	185.60	8.31	186
Pb-O-24 ♀	1	135.17	142.73	5.59	166
	2	133.46	147.72	10.68	174
	3	189.71	214.75	13.20	199
	4	148.71	167.35	12.53	191
	5	96.77	99.42	2.74	170
Pb-O-72 ♂	1	109.59	116.30	6.12	177
	2	142.62	157.46	10.41	188
	3	145.11	153.67	5.90	190
	4	136.09	143.61	5.53	188
	5	146.22	165.87	13.44	194
Pb-O-72 ♀	1	153.69	162.97	6.04	193
	2	143.87	159.85	11.11	195
	3	80.26	89.31	11.28	162
	4	119.84	130.10	8.56	175
	5	118.35	126.00	6.46	170
Pb-O	AVG	141.07	153.39	8.57	184.20
	MIN	80.26	89.31	2.74	162.00
	MAX	189.71	214.75	13.44	203.00
	STDEV	27.39	31.37	3.36	11.50
	COV	17.11	18.29	41.65	5.85

Prosječna **masa** eksperimentalnih životinja na početku eksperimenta je iznosila 141.07 g, a nakon eksperimenta, u momentu žrtvovanja, prosječna masa je iznosila 153.39 g. **Prirast mase** se kretao od 2.74 do 13.44%, prosječno 8.57%, u odnosu na početak eksperimenta. Najmanji prirast mase je uočen kod jedinke 5 iz grupe Pb-0-24 ♀ i

iznosio je 2.74%, dok su najviše vrijednosti dobijene za jedinku 5 grupe Pb-0-72 ♂ (tabela 8).

**Tabela br. 9 Organosomatski indeksi jedinki pojenih olovo-acetatom**

		indeks bubrega D	indeks bubrega L	indeks testisa D	indeks testisa L	indeks jetre	indeks slezene	indeks srca
<b>Pb-O-24 ♂</b>	1	0.39	0.41	0.76	0.75	3.39	0.19	0.34
	2	0.42	0.45	0.75	0.80	3.46	0.27	0.33
	3	0.38	0.37	0.71	0.74	2.85	0.20	0.33
	4	0.36	0.36	0.38	0.43	2.99	0.24	0.31
	5	0.39	0.35	0.72	0.74	3.08	0.23	0.31
<b>Pb-O-24 ♀</b>	1	0.37	0.39			3.02	0.22	0.34
	2	0.41	0.38			3.00	0.24	0.37
	3	0.40	0.37			2.95	0.26	0.33
	4	0.34	0.37			3.06	0.22	0.34
	5	0.55	0.59			4.25	0.31	0.37
<b>Pb-O-72 ♂</b>	1	0.40	0.40	1.01	1.06	3.16	0.20	0.34
	2	0.38	0.39	0.82	0.84	2.85	0.17	0.33
	3	0.44	0.46	0.68	0.87	3.40	0.24	0.33
	4	0.33	0.33	0.84	0.87	3.38	0.25	0.32
	5	0.42	0.38	0.23	0.33	3.26	0.22	0.36
<b>Pb-O-72 ♀</b>	1	0.36	0.34			4.42	0.31	0.37
	2	0.36	0.34			3.45	0.27	0.29
	3	0.59	0.63			4.23	0.32	0.37
	4	0.61	0.57			4.13	0.42	0.42
	5	0.63	0.60			4.43	0.44	0.42
<b>Pb-O</b>	<b>AVG</b>	<b>0.43</b>	<b>0.42</b>	<b>0.69</b>	<b>0.74</b>	<b>3.39</b>	<b>0.26</b>	<b>0.35</b>
	<b>MIN</b>	<b>0.33</b>	<b>0.33</b>	<b>0.23</b>	<b>0.33</b>	<b>2.60</b>	<b>0.17</b>	<b>0.29</b>
	<b>MAX</b>	<b>0.63</b>	<b>0.63</b>	<b>1.01</b>	<b>1.06</b>	<b>4.43</b>	<b>0.44</b>	<b>0.42</b>
	<b>STDEV</b>	<b>0.09</b>	<b>0.10</b>	<b>0.23</b>	<b>0.21</b>	<b>0.58</b>	<b>0.07</b>	<b>0.04</b>
	<b>COV</b>	<b>15.70</b>	<b>18.58</b>	<b>32.72</b>	<b>27.97</b>	<b>11.32</b>	<b>15.81</b>	<b>7.56</b>

Najniže zabilježene vrijednosti **indeksa desnog i lijevog bubrega** su iznosile 0.33%, a najviše 0.63% tjelesne mase ispitivane jedinke, za **indekse lijevog testisa** uočene su vrijednosti u rasponu od 0.23 do 1.01%, a **desnog testisa** od 0.33 do 1.06% tjelesne mase. Vrijednosti **indeksa jetre** su zabilježene u intervalu od 2.60 do 4.43 %, **indeksa slezene** od 0.17 - 0.44% tjelesne mase, dok je najniža vrijednost **indeksa srca** iznosila 0.29, a najviša 0.42% ukupne tjelesne mase.

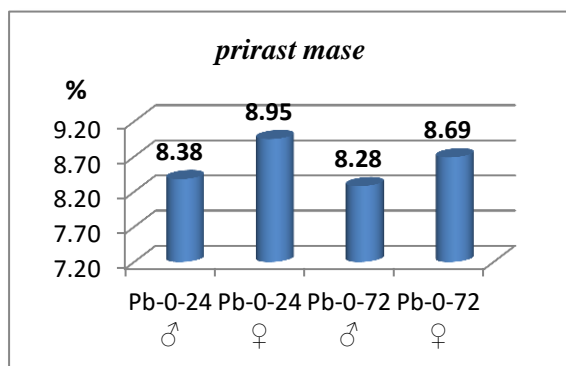
Prosječne vrijednosti praćenih parametara za svaku grupu jedinki tretiranih olovo-acetatom su prikazane grafički (grafikoni 41-46) .

Najniže vrijednosti **prirasta mase** su konstatovane za jedinke grupe Pb-0-72 ♂ (8.28%), a najviše za jedinke iz grupe Pb-0-24 ♀ (8.95%). Višestrukom komparacijom

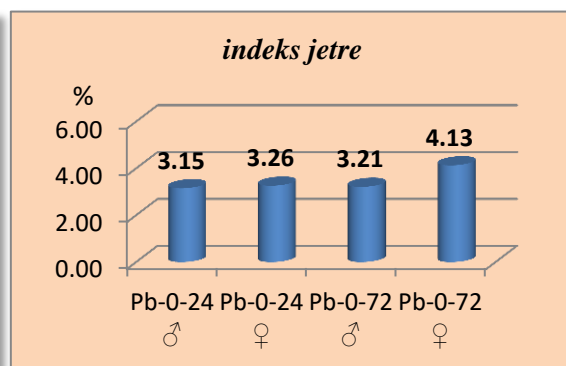
se ne uočavaju statistički signifikantne razlike između prirasta tjelesne mase različitih eksperimentalnih grupa pojenih olovo-acetatom ( $p > 0.050$ ).

Abdel-Moneim i saradnici su uočili da pri intoksikaciji pacova olovo-acetatom putem vode *ad libitum* dolazi do značajnog povećanja vrijednosti indeksa bubrega u odnosu na jedinke kontrolne grupe. Razlika se dodatno povećava pri dužoj ekspaniranosti olovo-acetatu, kada dolazi do signifikantnog gubitka tjelesne mase, čime vrijednosti pojedinih organosomatskih indeksa dodatno rastu (Abdel-Moneim *et al.*, 2011). Amjad i saradnici (2013) su uočili da pri većim koncentracijama olovo-acetata dolazi do značajnog pada vrijednosti tjelesne mase, ali i mase bubrega, što u ovom slučaju nije uočeno usljed kraćeg vremena izlaganja i nižih koncentracija toksikanta.

Ibrahim i saradnici (2012) su konstatovali povećanje organosomatskih indeksa pri ekspaniranosti Wistar pacova olovo-acetatu i to za bubrege, jetru, srce i slezenu, što se uočava i kod jedinki obuhvaćenih ovim eksperimentom.



**Grafikon br. 41 Prirast tjelesne mase jedinki pojenih Pb-acetatom**

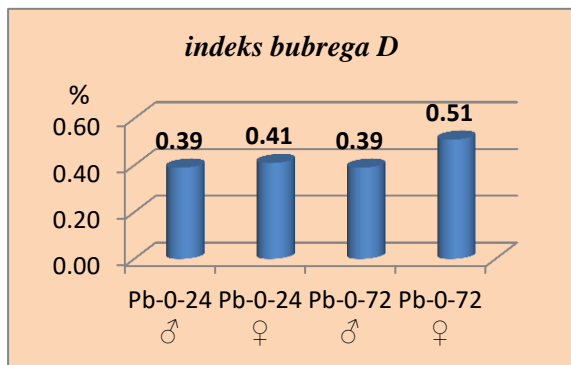


**Grafikon br. 42 Organosomatski indeks jetre jedinki pojenih Pb-acetatom**

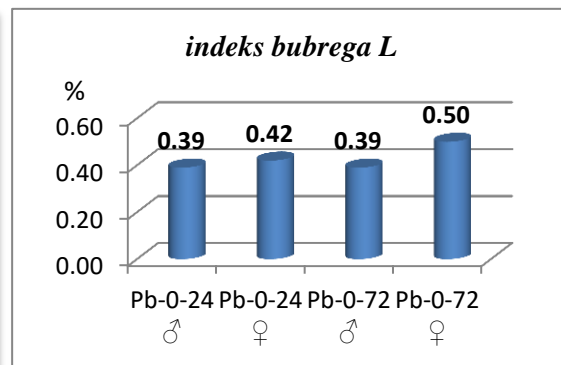
Vrijednosti indeksa jetre su se kretale od 3.15% kod jedinki iz grupe Pb-0-24 ♂ do 4.13% kod Pb-0-72 ♀. Maksimalne vrijednosti konstatovane kod jedinki iz Pb-0-72 ♀ grupe statistički značajno odstupaju u odnosu na jedinke iz Pb-0-24 ♂ grupe ( $p=0.001$ ), zatim iz Pb-0-24 ♀ grupe ( $p=0.002$ ) i iz Pb-0-72 ♂ grupe ( $p=0.002$ ).

Najniže vrijednosti indeksa bubrega su uočene kod mužjaka grupa Pb-0-24 i Pb-0-72 (0.39%), a najviše kod ženki grupe Pb-0-72 za desni bubrege (0.51%).

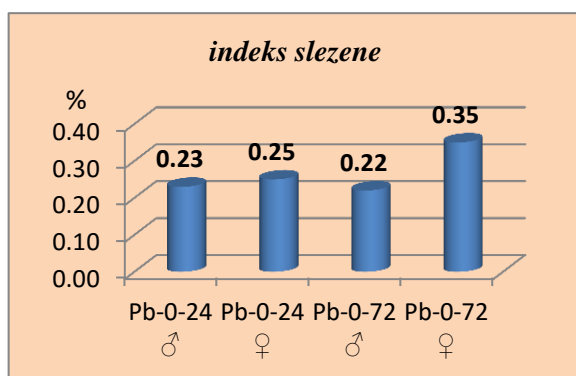
Vrijednosti indeksa desnog bubrega grupe Pb-0-72 ♀ su značajno veće od vrijednosti zabilježenih za grupu Pb-0-24 ♂ ( $p=0.034$ ) i Pb-0-72 ♂ ( $p=0.043$ ), dok za lijevi bubrege nisu uočene statistički značajne razlike između eksperimentalnih grupa.



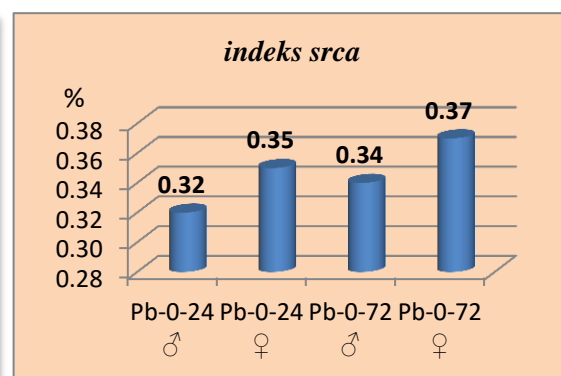
**Grafikon br. 43 Organosomatski indeks desnog bubrega jedinki pojenih Pb-acetatom**



**Grafikon br. 44 Organosomatski indeks lijevog bubrega jedinki pojenih Pb-acetatom**



**Grafikon br. 45 Organosomatski indeks slezene jedinki pojenih olovo-acetatom**



**Grafikon br. 46 Organosomatski indeks srca jedinki pojenih olovo-acetatom**

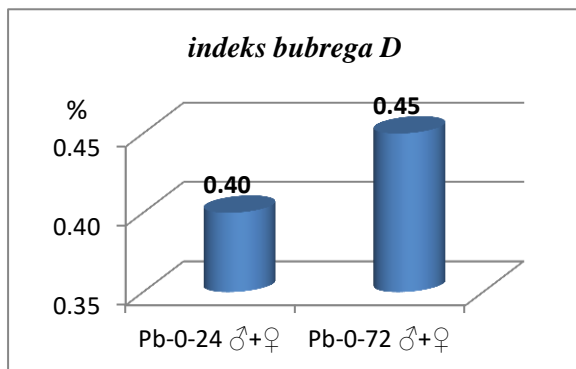
Dobijene vrijednosti indeksa slezene svoj minimum dostižu kod pacova iz grupe Pb-0-72 ♂, a maksimum kod jedinki Pb-0-72 ♀ grupe. Signifikantne razlike se uočavaju komparacijom grupe Pb-O-72 ♀ sa Pb-O-24 ♂ ( $p=0.001$ ), Pb-O-24 ♀ ( $p=0.004$ ) i Pb-O-72 ♂ ( $p=0.000$ ).

Najniže vrijednosti indeksa srca su uočene kod jedinki iz prve grupe (Pb-0-24 ♂), čiji je prosjek iznosio 0.32% tjelesne mase, dok je najviša vrijednost (0.37%) zabilježena za grupu Pb-0-72 ♀ (tabela 9, grafikon 46), sa statistički značajnim odstupanjem jedinki grupe Pb-O-72 ♀ u odnosu na grupe Pb-O-24 ♂ ( $p=0.021$ ) i Pb-O-72 ♂ ( $p=0.048$ ).

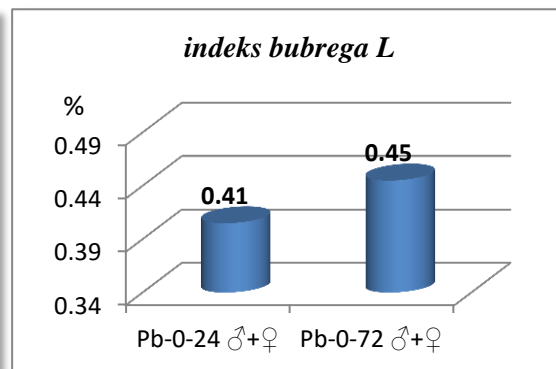
### 4.1.3.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

Vrijednosti morfometrijskih parametara jedinki žrtvovanih 24 časa po intraperitonealnom ubrizgavanju fiziološkog rastvora sa jedinkama žrtvovanim nakon 72 časa su upoređene T testom (Independent Samples Test, T-test for Equality of Means, SPSS 20.0).

Statistički signifikantna razlika nije konstatovana za indeks desnog bubrega, kao ni indeks lijevog bubrega.

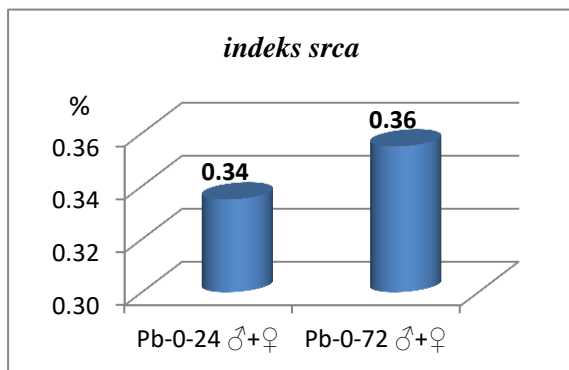


**Grafikon br. 47** Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

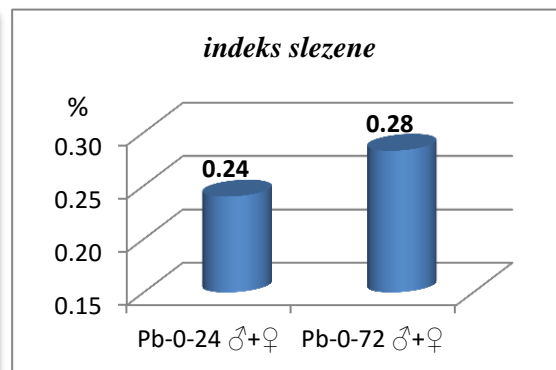


**Grafikon br. 48** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Statistički značajna razlika između dobijenih vrijednosti praćenih parametara nije uočena ni pri komparaciji vrijednosti indeksa srca i indeksa slezene.



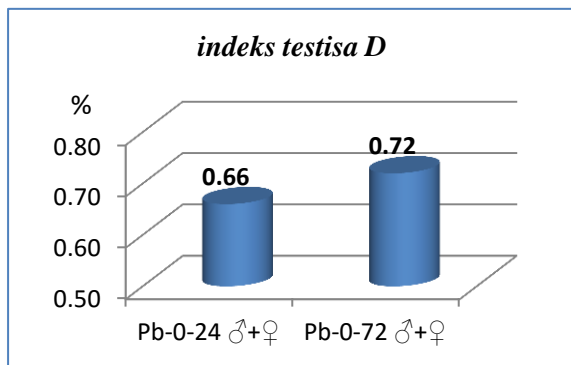
**Grafikon br. 49** Komparacija vrijednosti indeksa srca između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



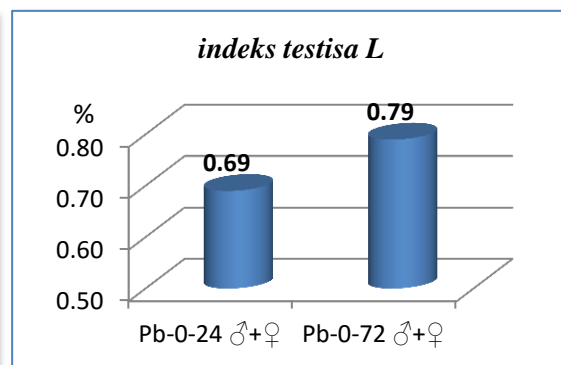
**Grafikon br. 50** Komparacija vrijednosti indeksa slezene između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Niže vrijednosti indeksa testisa su zabilježene kod mužjaka Pb-0-24 (0.66 i 0.69%), u odnosu na mužjake Pb-0-72 (0.72 i 0.79%), pri čemu se ne uočava značajna razlika između grupa žrtvovanih u različitom vremenskom periodu, dok se pri komparaciji dobijenih vrijednosti organosomatskog indeksa jetre jedinki žrtvovanih u različitom postaplikacionom periodu odstupanja nalaze na samoj granici statističke signifikantnosti ( $p=0.052$ ).

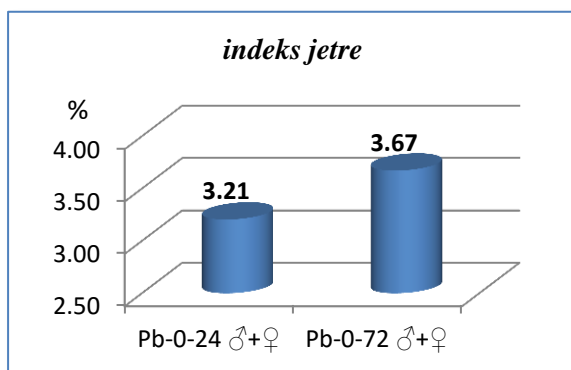
Takođe, vrijednosti prirasta mase ne pokazuju značajnu razliku između jedinki žrtvovanih 24 i 72 sata nakon intraperitonealnog ubrizgavanja fiziološkog rastvora.



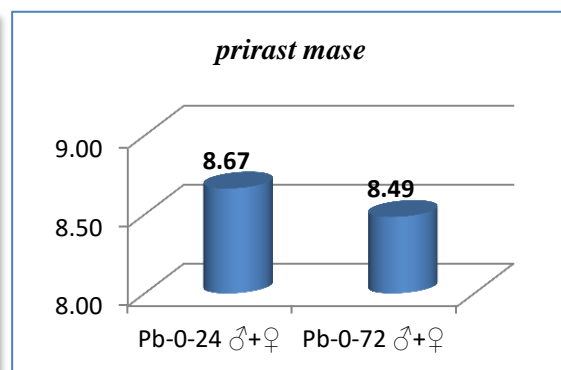
**Grafikon br. 51** Komparacija vrijednosti indeksa desnog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 52** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 53** Komparacija vrijednosti indeksa jetre između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 54** Komparacija vrijednosti prirasta između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

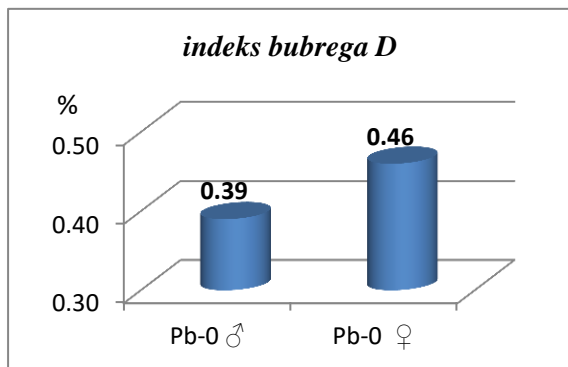
### 4.1.3.2. Morfometrijske karakteristike i pol

Komparacijom dobijenih vrijednosti morfometrijskih parametara između jedinki različitog pola, statistički značajna razlika nije konstatovana za prirast mase, indeks desnog bubrega, indeks lijevog bubrega, dok je konstatovana za indekse jetre, slezene i srca (grafikoni 55-60).

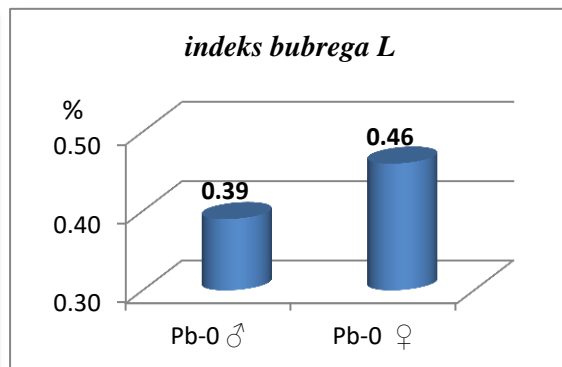
Vrijednosti organosomatskog indeksa jetre su značajno veće kod ženki (3.70%) u odnosu na mužjake (3.08%) pri čemu se dobija statistički značajna razlika poređenjem istih ( $p=0.038$ ).

Razmatrajući vrijednosti indeksa slezene, uočava se isti trend – povećane vrijednosti kod ženki (0.30%) u odnosu na mužjake (0.22%) pojene olovo-acetatom ( $p=0.010$ ). Isto se može konstatovati i za vrijednosti indeksa srca poređenjem ženki i mužjaka ( $p=0.035$ ).

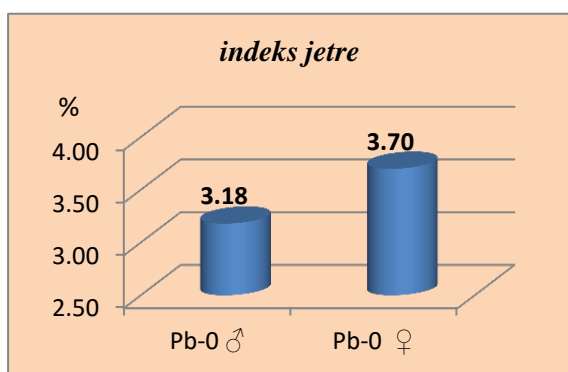




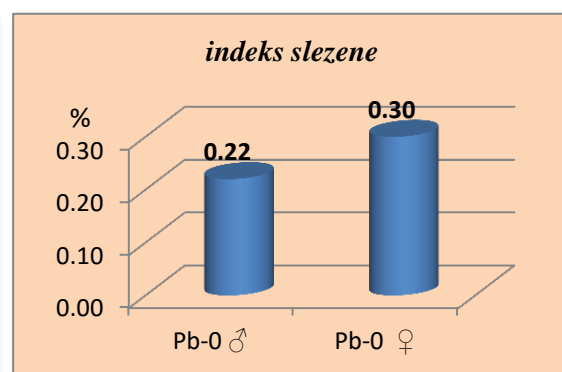
Grafikon br. 55 Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između mužjaka i ženki



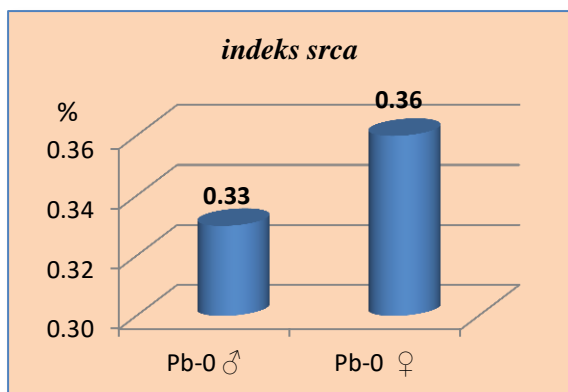
Grafikon br. 56 Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između mužjaka i ženki



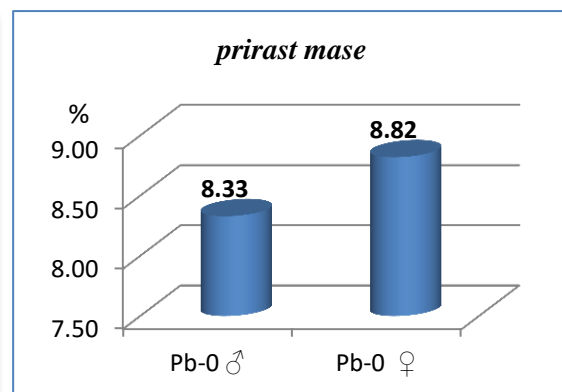
Grafikon br. 57 Komparacija vrijednosti indeksa jetre između mužjaka i ženki



Grafikon br. 58 Komparacija vrijednosti indeksa slezene između mužjaka i ženki



Grafikon br. 59 Komparacija vrijednosti indeksa srca između mužjaka i ženki



Grafikon br. 60 Komparacija vrijednosti prirasta mase između mužjaka i ženki

### 4.1.4. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih olovo-acetatom (Pb-E)

Nakon petnaestodnevne adaptacije dvadeset zdravih jedinki oba pola, podijeljenih u grupe Pb-E-24 ♂, Pb-E-24 ♀, Pb-E-72 ♂ i Pb-E-72 ♀ pristupilo se tretmanu. Sve jedinke su pojene rastvorom olovo-acetata u koncentraciji od 1500 ppm (putem vode *ad libitum*) tokom četrnaest dana. Potom im je intraperitonealno ubrizgano 0,2 ml rastvora bakterijske suspenzije (CFU  $3 \times 10^7$ /ml) *Escherichia coli*. Jedinke oba pola grupe Pb-E-24 su žrtvovane dvadeset i četiri, a grupe Pb-E-72 sedamdeset i dva sata kasnije. Dobijene vrijednosti morfometrijskih parametara ukupnog uzorka su predstavljene u tabelama 10 i 11.

**Tabela br. 10 Masa, prirast mase i dužina tijela jedinki pojenih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**

		tijelo m1 (g)	tijelo m2 (g)	prirast mase	tijelo d (mm)
Pb-E-24 ♂	1	111.39	128.96	15.77	185
	2	135.30	142.71	5.48	178
	3	136.44	144.70	6.05	182
	4	181.58	193.43	6.53	194
	5	192.26	207.41	7.88	206
Pb-E-24 ♀	1	125.23	132.94	6.16	186
	2	107.22	115.36	7.59	184
	3	163.64	178.01	8.78	198
	4	111.27	122.72	10.29	176
	5	147.38	159.55	8.26	198
Pb-E-72 ♂	1	125.73	134.82	7.23	193
	2	152.17	164.29	7.96	205
	3	108.46	118.44	9.20	191
	4	159.55	167.67	5.09	212
	5	142.97	151.99	6.31	194
Pb-E-72 ♀	1	100.92	105.09	4.13	179
	2	151.08	163.60	8.29	198
	3	159.54	171.88	7.73	203
	4	132.76	146.91	10.66	194
	5	138.87	145.49	4.77	196
Pb-E	AVG	<b>139.19</b>	<b>149.80</b>	<b>7.71</b>	<b>192.60</b>
	MIN	<b>100.92</b>	<b>105.09</b>	<b>4.13</b>	<b>176.00</b>
	MAX	<b>192.26</b>	<b>207.41</b>	<b>15.77</b>	<b>212.00</b>
	STDEV	<b>24.98</b>	<b>26.43</b>	<b>2.58</b>	<b>9.97</b>
	COV	<b>17.95</b>	<b>17.64</b>	<b>33.48</b>	<b>5.17</b>

Masa jedinki je određena na početku i po okončanju eksperimenta, u momentu žrtvovanja. Prosječna masa eksperimentalnih životinja na početku eksperimenta je

iznosila 139.19 g, a nakon eksperimenta 149.80 g. **Prirast mase** se kretao od 4.13% do 15.77%, prosječno 7.71%, u odnosu na početak eksperimenta (tabela 10).

**Tabela br. 11 Organosomatski indeksi jedinki pojenih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**

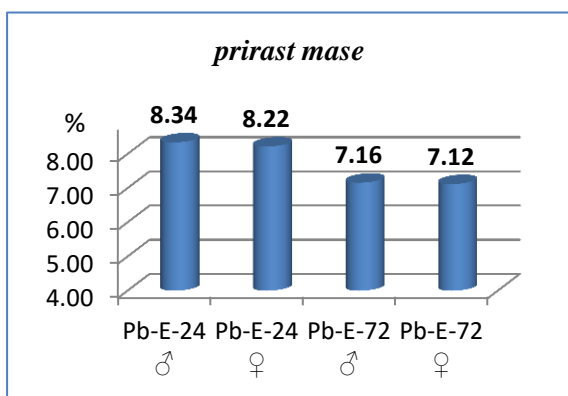
		indeks bubrega D	indeks bubrega L	indeks testisa D	indeks testisa L	indeks jetre	indeks slezene	indeks srca
<b>Pb-E-24 ♂</b>	1	0.42	0.44	0.79	0.83	3.99	0.27	0.36
	2	0.42	0.44	0.89	0.85	3.66	0.29	0.36
	3	0.35	0.38	0.77	0.86	3.43	0.23	0.40
	4	0.34	0.34	0.68	0.68	3.07	0.19	0.34
	5	0.36	0.37	0.68	0.70	3.29	0.20	0.35
<b>Pb-E-24 ♀</b>	1	0.34	0.33			3.51	0.24	0.34
	2	0.47	0.47			4.19	0.22	0.40
	3	0.42	0.43			3.19	0.25	0.36
	4	0.38	0.38			4.25	0.24	0.33
	5	0.41	0.42			3.24	0.25	0.38
<b>Pb-E-72 ♂</b>	1	0.45	0.42	0.89	0.87	3.18	0.16	0.35
	2	0.34	0.37	0.86	0.85	3.16	0.18	0.37
	3	0.39	0.41	1.01	1.08	3.43	0.19	0.38
	4	0.47	0.47	0.76	0.74	3.23	0.23	0.37
	5	0.35	0.37	0.84	0.89	3.53	0.19	0.36
<b>Pb-E-72 ♀</b>	1	0.39	0.39			3.31	0.19	0.36
	2	0.30	0.32			3.03	0.20	0.27
	3	0.33	0.35			3.29	0.23	0.33
	4	0.32	0.33			3.36	0.23	0.31
	5	0.31	0.32			3.29	0.25	0.33
<b>Pb-E</b>	AVG	<b>0.38</b>	<b>0.39</b>	<b>0.82</b>	<b>0.83</b>	<b>3.43</b>	<b>0.22</b>	<b>0.35</b>
	MIN	<b>0.30</b>	<b>0.32</b>	<b>0.68</b>	<b>0.68</b>	<b>3.03</b>	<b>0.16</b>	<b>0.27</b>
	MAX	<b>0.47</b>	<b>0.47</b>	<b>1.01</b>	<b>1.08</b>	<b>4.25</b>	<b>0.29</b>	<b>0.40</b>
	STDEV	<b>0.05</b>	<b>0.05</b>	<b>0.10</b>	<b>0.11</b>	<b>0.35</b>	<b>0.03</b>	<b>0.03</b>
	COV	<b>13.62</b>	<b>12.04</b>	<b>12.56</b>	<b>13.61</b>	<b>10.09</b>	<b>14.91</b>	<b>8.70</b>

Najniže zabilježene vrijednosti **indeksa desnog i lijevog bubrega** su iznosile 0.30%, odnosno 0.32%, a najviše 0.38%, odnosno 0.39% tjelesne mase ispitivane jedinke. Dobijene vrijednosti organosomatskih **indeksa testisa** kretale su se od 0.68% (i lijevi i desni testisi) do 0.82% (desni) odnosno 0.83% (lijevi). Vrijednosti **indeksa jetre** su zabilježene u intervalu od 3.03 do 4.25%, **indeksa slezene** od 0.16 - 0.29% tjelesne mase, dok je najniža vrijednost **indeksa srca** iznosila 0.27, a najviša 0.40% ukupne tjelesne mase.

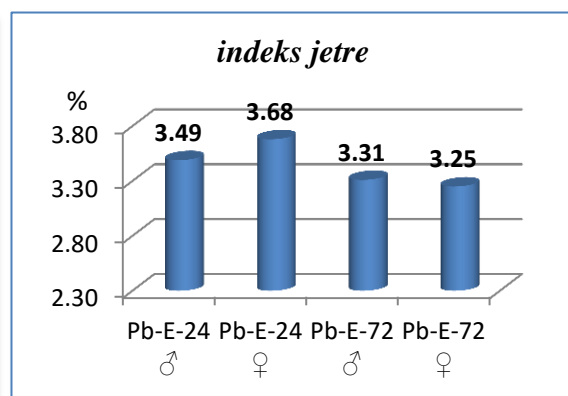
Prosječne vrijednosti praćenih parametara za svaku grupu jedinki tretiranih olovo-acetatom su prikazane grafički (grafikoni 61-66).

Najniže vrijednosti **prirasta mase** su konstatovane za jединke grupe Pb-E-72 ♀ (7.12%) i Pb-E-72 ♂ (7.16%), dok je najveća prosječna vrijednost prirasta mase konstatovana za jединke grupe Pb-E-24 ♂ (8.34%). Komparacijom dobijenih podataka između različitih eksperimentalnih grupa inficiranih ešerihijom i pojenih olovo-acetatom ne uočava se statistički signifikantna razlika za ovaj parameter ( $p > 0.050$ ).

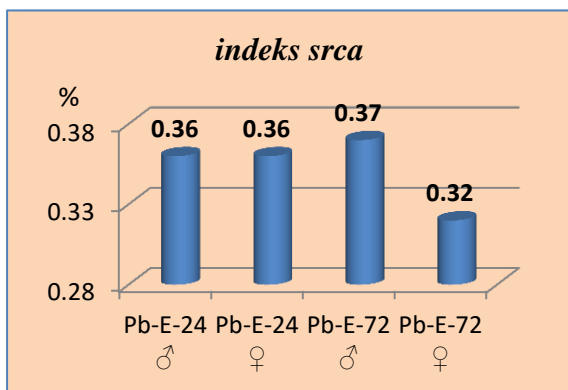
Značajna razlika se ne uočava ni za organosomatske indekse jetre, pri čemu su svoj maksimum dostigle kod jединki grupe Pb-E-24 ♀ (3.68%), a minimum takođe kod ženki, ali iz grupe Pb-E-72 (3.25%).



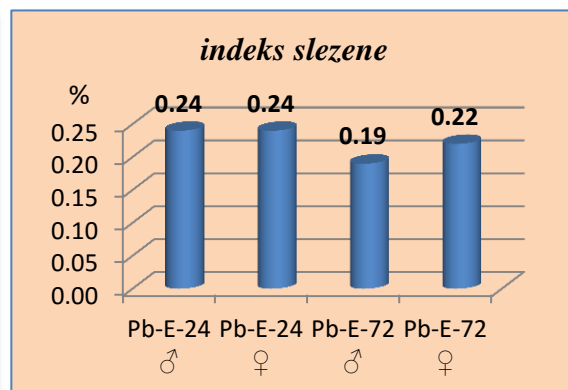
**Grafikon br. 61 Prirast mase jединki pojenih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**



**Grafikon br. 62 Organosomatski indeks jetre jединki pojenih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**



**Grafikon br. 63 Organosomatski indeks srca jединki pojenih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**



**Grafikon br. 64 Organosomatski indeks slezene jединki pojenih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**

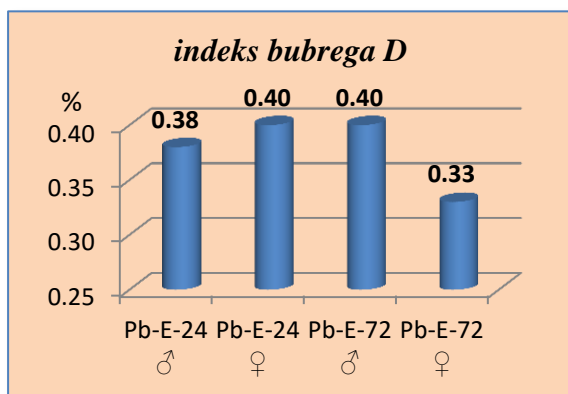
Signifikantna razlika se uočava višestrukom komparacijom indeksa srca između jединki grupe Pb-E-72 ♀, koje su ostvarile minimalne vrijednosti ovog parametra (0.32%) i jединki ostalih grupa. Maksimalne vrijednosti su zabilježene kod jединki grupe Pb-E-72 ♂ (0.37%), gdje se uočava i najveći statistički značaj ( $p = 0.014$ ), dok su

neznatno niže (0.36%) kod mužjaka ( $p=0.024$ ) i ženki ( $p=0.019$ ) žrtvovanih 24 časa od izazivanja infekcije.

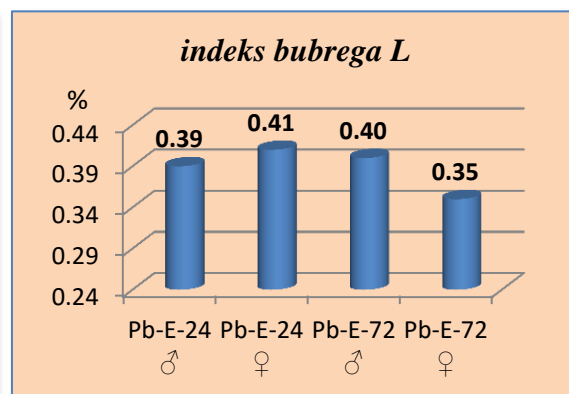
Poređenjem dobijenih vrijednosti organosomatskog indeksa slezene statistički značajna razlika se uočava između jedinki grupe Pb-E-72 ♂ u odnosu na jedinke grupa Pb-E-24 ♂ ( $p=0.027$ ) i Pb-E-24 ♀ ( $p=0.026$ ), pri čemu su jedinke grupe Pb-E-72 ♂ ostvarile najniže vrijednosti ovog parametra (0.19%).

Prosječna vrijednost organosomatskog indeksa desnog bubrega grupe Pb-E-72 ♀ je iznosila 0,33% od ukupne tjelesne mase i bila značajno niža u odnosu na prosječne vrijednosti grupa Pb-E-24 ♀, 0.40% ( $p=0.019$ ) i Pb-E-72 ♂, 0.40% ( $p=0.029$ ).

Slična odstupanja su uočena i za indeks lijevog bubrega, pri čemu su opet najniže vrijednosti ovog parametra konstatovane za jedinke grupe Pb-E-72 ♂, 0.35%, a najviše za Pb-E-24 ♀, 0.41% ( $p=0.039$ ) i Pb-E-72 ♂, 0.40% ( $p=0.045$ ).



**Grafikon br. 65 Organosomatski indeks desnog bubrega jedinki pojenih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom**

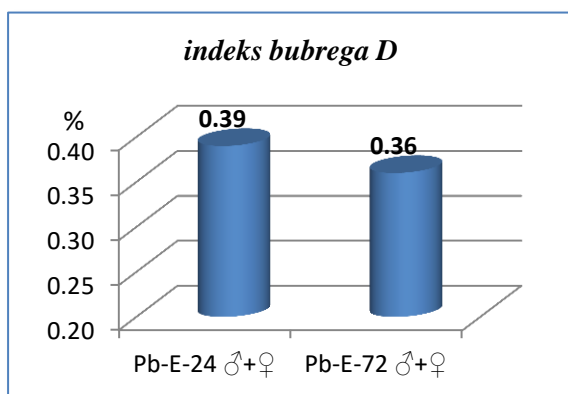


**Grafikon br. 66 Organosomatski indeks lijevog bubrega jedinki pojenih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom**

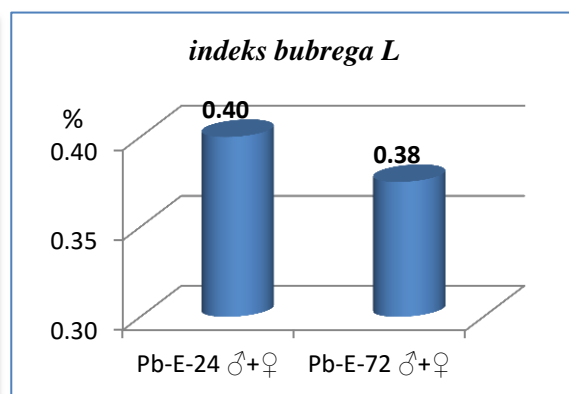
Kako su sve jedinke bile pojene rastvorom olovo-acetata u koncentraciji od 1500 ppm, očekivano je povećanje organosomatskih indeksa u odnosu na jedinke kontrolne grupe, mada se gotovo sve dobijene vrijednosti kreću u granicama referentnih, koje opet variraju od autora do autora (Abdel-Moneim *et al.*, 2011; Ibrahim *et al.*, 2012, Addou-Benounan *et al.*, 2009; Onyeanusu *et al.*, 2009; Pecora i Highman, 1956; Gatsing *et al.*, 2005; Mulla *et al.*, 2010; Piao *et al.*, 2013; Blamey i Evans, 1971; Uduak *et al.*, 2013 i drugi). Odstupanja između grupa mogu se objasniti razlikama u polu, kao i razlikama u tjelesnoj masi jedinki na početku eksperimenta (Pecora i Highman, 1956, Cesta, 2006; Yamano *et al.*, 1998; Piao *et al.*, 2013).

### 4.1.4.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

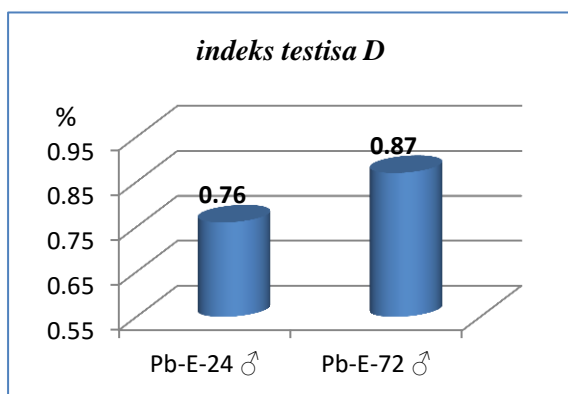
Poređenjem dobijenih vrijednosti ne uočavaju se statistički značajne razlike praćenih morfometrijskih parametara: prirasta mase i organosomatskih indeksa bubrega, testisa i srca između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata od izazivanja infekcije (grafikoni 67-72).



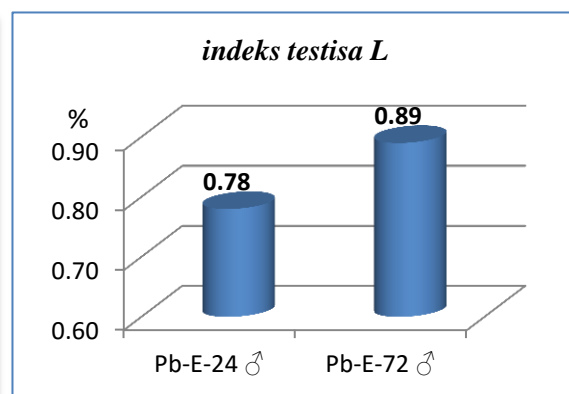
**Grafikon br. 67** Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 68** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



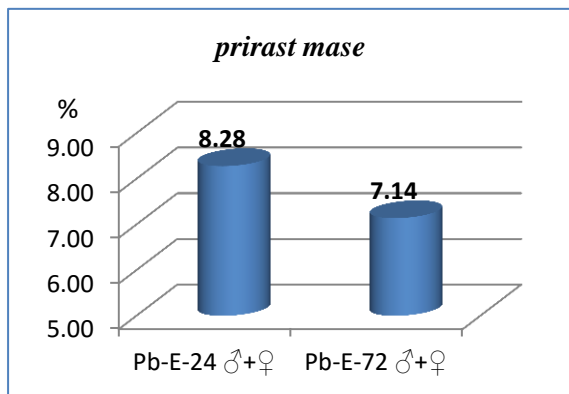
**Grafikon br. 69** Komparacija vrijednosti indeksa desnog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



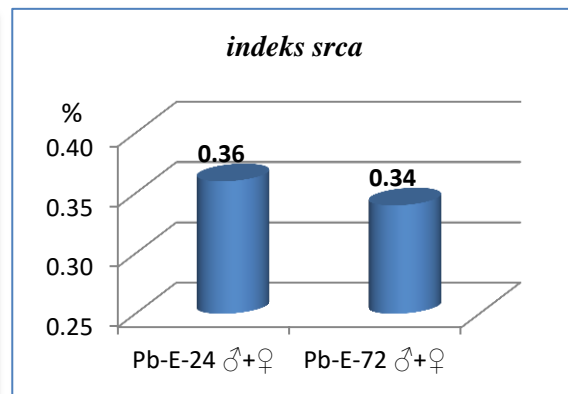
**Grafikon br. 70** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Vrijednosti indeksa jetre pokazuju niži udio ovog organa u ukupnoj tjelesnoj masi jedinki žrtvovanih 72 sata od početka infekcije, na granici statističke značajnosti ( $p=0.057$ ) u odnosu na jedinke žrtvovane 24 sata od inokulacije (grafikon 73).

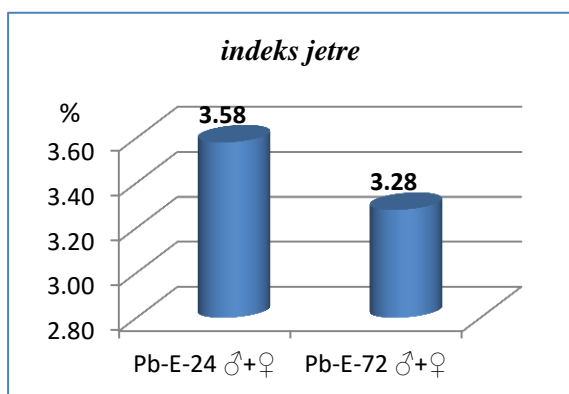
Organosomatski indeks slezene je dostigao značajno ( $p=0.026$ ) više vrijednosti kod jedinki žrtvovanih 24 sata od aplikacije bakterijske suspenzije (0.24%) u odnosu na jedinke žrtvovane 48 časova kasnije (0.21%) (grafikon 74).



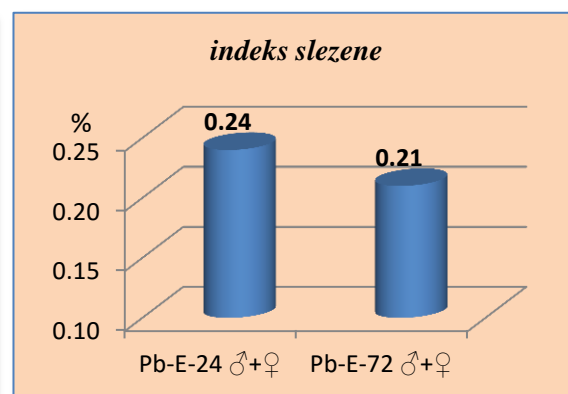
**Grafikon br. 71** Komparacija vrijednosti prirasta mase između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 72** Komparacija vrijednosti indeksa srca između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 73** Komparacija vrijednosti indeksa jetre između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



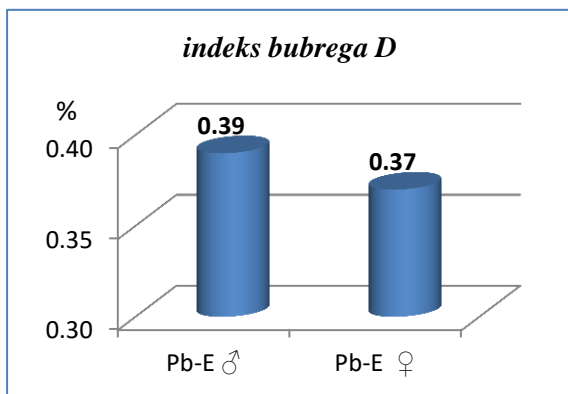
**Grafikon br. 74** Komparacija vrijednosti indeksa slezene između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Breuille i saradnici (1999) su uočili da gubitak na masi usljed infekcije *Escherichia coli* zavisi prvenstveno od načina aplikacije bakterijske suspenzije (i.v., i.p., p.o. itd.), kao i od broja vitalnih bakterija u suspenziji. Kako je prirast mase jedinki pojenih olovo-acetatom i tretiranih bakterijskom suspenzijom znatno manji nego kod netretiranih jedinki kontrolne grupe, može se pretpostaviti da je došlo do gubitka tjelesne mase pod uticajem infekcije. S druge strane, intoksikacija olovo-acetatom dovodi do povećanja indeksa mase pojedinih organa uz gubitak ukupne tjelesne mase, posebno pri većim koncentracijama toksikanta i dužem vremenu eksponiranosti (Abdel-Moneim *et al.*, 2011; Amjad *et al.*, 2013; Ibrahim *et al.*, 2012).

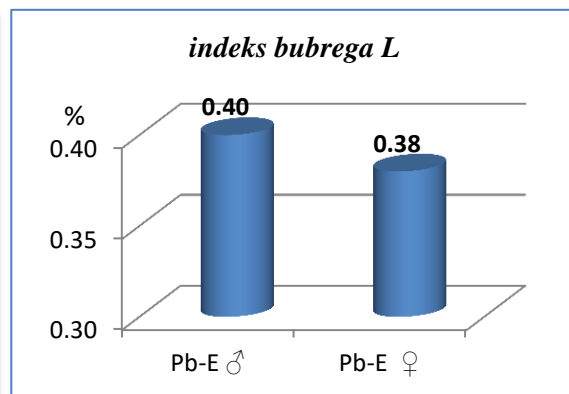
Kako se funkcije slezene ogledaju s jedne strane u razgradnji oštećenih eritrocita i trombocita iz krvotoka i recikliranju željeza, a intoksikacija olovo-acetatom (Ibrahim *et al.*, 2012), kao i infekcija ešerihijom (Ogundare i Onifade, 2009) dovode do smanjenja broja eritrocita u cirkulaciji, a s druge strane u imunom odgovoru na infekciju (Mebius i

Kraal, 2005), povećanje udjela slezene u ukupnoj masi tijela nakon infekcije je očekivano.

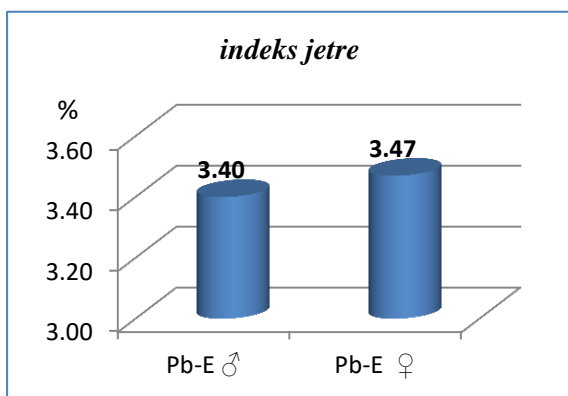
### 4.1.4.2. Morfometrijske karakteristike i pol



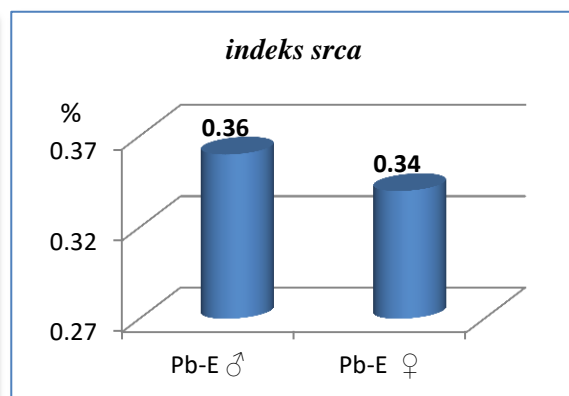
**Grafikon br. 75** Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između mužjaka i ženki



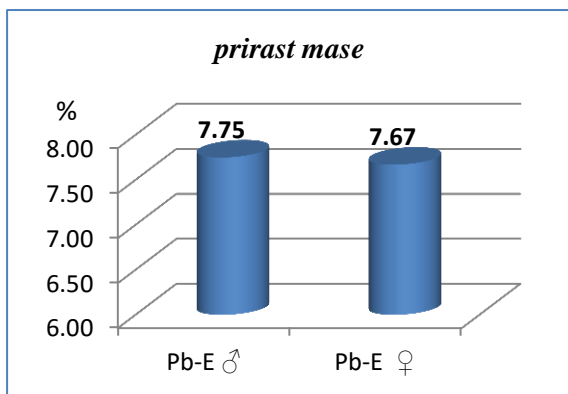
**Grafikon br. 76** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između mužjaka i ženki



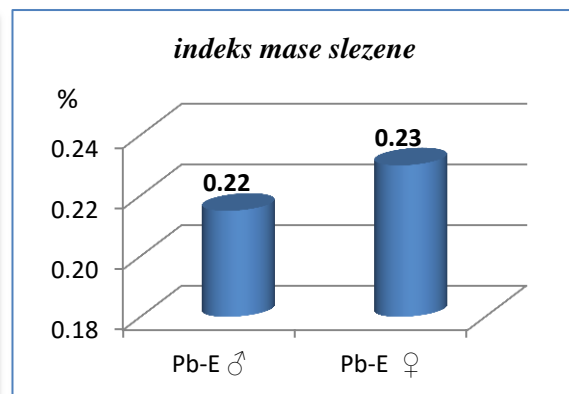
**Grafikon br. 77** Komparacija vrijednosti indeksa jetre između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 78** Komparacija vrijednosti indeksa srca između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 79** Komparacija vrijednosti prirasta mase između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 80** Komparacija vrijednosti indeksa slezene između mužjaka i ženki



Poređenje dobijenih vrijednosti morfometrijskih parametara između jedinki različitog pola, statistički značajna razlika nije konstatovana za prirast mase, indekse: desnog bubrega, lijevog bubrega, jetre, srca, kao i slezene.

### 4.1.5. Tretman aloksanom (All-0)

Tretman aloksanom zdravih jedinki Wistar pacova je proveden prvenstveno u cilju izazivanja hiperglikemije, tj. *diabetes mellitus* tip 1. Administracija aloksana je vršena intraperitonealno u dozi od 100 mg/kg tjelesne mase.

Prema literaturnim podacima uobičajeno doziranje aloksana u svrhu izazivanja hiperglikemije kod Wistar pacova se kreće od 40 mg/kg, i.v. (Carvalho *et al.*, 2003; Mude *et al.*, 2012), 42 mg/kg, i.v. (Lucchesi *et al.*, 2013, 2015), 70 mg/kg, i.v. (Akah *et al.*, 2009), 100 mg/kg, i.p. (Đeri, 2014; Makinwa *et al.*, 2013, Saba *et al.*, 2010), 120 mg/kg, s.c. (Lachin i Reza, 2012; Ahmadvand *et al.*, 2012), 125 mg/kg, i.p. (Georgewill i Georgewill, 2009), 140 mg/kg, i.p. (Olurishe *et al.*, 2013) 150 mg/kg, i.p. (Dallatu *et al.*, 2010; Ahmed *et al.*, 2010; Kim i Ha, 2013; Ebong *et al.*, 2014), 160 mg/kg, i.p. (Muhammad *et al.*, 2012), do 200 mg/kg, i.p. (Indradevi *et al.*, 2012) i više. Kako manje doze aloksana unesenog intraperitonealno mogu rezultovati autoreverzijom u normalno glikemijsko stanje, zahvaljujući regenerativnom kapacitetu ćelija Langerhansovih ostrvaca (Jain i Arya, 2011), nivo glukoze u krvi je kontrolisan svakih 48 sati, uzorkom krvi iz repne vene i upotrebom digitalnog glukometra Accu Check Active (Roche). Po potrebi je ponavljan tretman aloksanom do postizanja stabilne glikemije (>11 mmol glukoze po litri krvi). Podaci o nivou glukoze u krvi tretiranih i kontrolnih životinja su obrađeni u poglavlju 4.2. Crvena loza.

Dvadeset jedinki oba pola sa izraženom hiperglikemijom je žrtvovano 24, odnosno 72 sata po i.p. ubrizgavanju fiziološkog rastvora. Dobijene vrijednosti morfometrijskih parametara ukupnog uzorka su predstavljene u tabelama 12 i 13.

Prosječna **masa** eksperimentalnih životinja na početku eksperimenta je iznosila 167.87 g, a nakon eksperimenta, u momentu žrtvovanja, prosječna masa je iznosila 154.29 g. Jedinke svih grupa tretiranih aloksanom su zabilježile negativan **prirast mase** u momentu žrtvovanja, pri čemu se ne uočava statistički značajna razlika njihovom komparacijom ( $p > 0.050$ ). Najniža vrijednost prirasta mase konstatovana je kod mužjaka žrtvovanih 72 časa od aplikacije fiziološkog rastvora ( $-11.93\% \pm 7.98$ ), pri čemu je najveći pad vrijednosti ovog parametra uočen upravo kod jedinke 5 iz ove grupe i iznosio je  $-22.74\%$  u odnosu na tjelesnu masu zabilježenu prije tretmana aloksanom. Pozitivne vrijednosti prirasta mase su zabilježene kod dvije jedinke, jedinke 5 iz grupe All-0-24 ♂, 1.69%, što je i maksimalna vrijednost ukupnog uzorka za ovaj parametar, i jedinke 5 iz grupe All-0-24 ♀, 0.83%. Obe ove vrijednosti su zanemarive u odnosu na

prirast mase kontrolnih jedinki za isti period posmatranja, čija srednja vrijednost praćenog parametra je iznosila 18.72%.

**Dužina tijela** eksperimentalnih jedinki tretiranih aloksanom se kretala od 180 do 205 mm, sa srednjom vrijednosti 194.05 mm uz koeficijent variranja 4.10 i standardnom devijacijom od 7.96.

*Tabela br. 12 Masa, prirast mase i dužina tijela jedinki tretiranih aloksanom*

		tijelo m1 (g)	tijelo m2 (g)	prirast mase	tijelo d (mm)
All-O-24 ♂	1	165.23	142.68	-13.65	197
	2	177.42	155.91	-12.12	201
	3	203.15	197.18	-2.94	205
	4	183.78	172.07	-6.37	200.50
	5	189.32	192.52	1.69	199
All-O-24 ♀	1	178.56	155.62	-12.85	202
	2	165.48	155.30	-6.15	200.25
	3	172.28	159.79	-7.25	204
	4	156.92	150.35	-4.19	198
	5	154.15	155.43	0.83	197
All-O-72 ♂	1	158.33	148.65	-6.11	185
	2	156.87	138.83	-11.50	190.00
	3	175.29	170.38	-2.80	190
	4	148.04	123.64	-16.48	185
	5	145.80	112.64	-22.74	200
All-O-72 ♀	1	166.13	151.19	-8.99	186.33
	2	162.24	150.01	-7.54	182.00
	3	173.90	153.56	-11.70	195
	4	163.87	161.25	-1.60	184
	5	160.61	138.76	-13.60	180
All-O	<b>AVG</b>	<b>167.87</b>	<b>154.29</b>	<b>-8.30</b>	<b>194.05</b>
	<b>MIN</b>	<b>145.80</b>	<b>112.64</b>	<b>-22.74</b>	<b>180.00</b>
	<b>MAX</b>	<b>203.15</b>	<b>197.18</b>	<b>1.69</b>	<b>205.00</b>
	<b>STDEV</b>	<b>14.13</b>	<b>19.64</b>	<b>6.11</b>	<b>7.96</b>
	<b>COV</b>	<b>8.42</b>	<b>12.73</b>	<b>-73.55</b>	<b>4.10</b>

Najniže vrijednosti organosomatskog **indeksa bubrega** su iznosile 0.28% za desni i 0.27% za lijevi bubreg, a najveće vrijednosti 0.57% za desni i 0.49% za lijevi bubreg. Prosječne vrijednosti ukupnog uzorka su iznosile 0.40% za desni i 0.39% za lijevi bubreg. **Udio testisa** u ukupnoj masi tijela tretiranih jedinki se kretao od 0.65% do 1.14%. Zabilježene su vrijednosti za organosomatski **indeks jetre** u intervalu od 2.87 do 4.69% od ukupne tjelesne mase, sa prosječnom vrijednošću ukupnog uzorka od 3.47%,

pri čemu su i maksimalna i minimalna vrijednost uočene kod jedinki muškog pola žrtvovanih 72 sata od aplikacije fiziološkog rastvora.

**Tabela br. 13 Organosomatski indeksi jedinki tretiranih aloksanom**

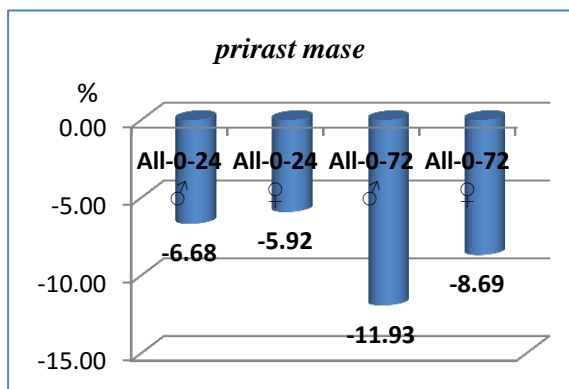
		indeks bubrega D	indeks bubrega L	indeks testisa D	indeks testisa L	indeks jetre	indeks slezene	indeks srca
All-O-24 ♂	1	0.38	0.40	0.74	0.77	3.65	0.24	0.40
	2	0.44	0.40	0.74	0.76	4.18	0.21	0.40
	3	0.28	0.27	0.65	0.66	3.13	0.19	0.32
	4	0.35	0.35	0.72	0.74	3.56	0.20	0.36
	5	0.34	0.34	0.76	0.78	3.43	0.20	0.33
All-O-24 ♀	1	0.42	0.42			4.10	0.20	0.42
	2	0.35	0.33			3.56	0.20	0.38
	3	0.34	0.31			3.13	0.21	0.31
	4	0.32	0.30			3.60	0.19	0.37
	5	0.30	0.29			3.42	0.19	0.42
All-O-72 ♂	1	0.42	0.44	0.88	0.85	3.36	0.17	0.36
	2	0.46	0.44	0.87	0.87	3.37	0.24	0.41
	3	0.40	0.39	0.76	0.74	2.88	0.19	0.35
	4	0.49	0.48	0.81	0.82	2.87	0.31	0.44
	5	0.57	0.49	1.08	1.14	4.69	0.35	0.55
All-O-72 ♀	1	0.45	0.42			3.28	0.28	0.38
	2	0.43	0.42			3.37	0.24	0.37
	3	0.47	0.42			3.10	0.34	0.40
	4	0.42	0.43			3.32	0.25	0.35
	5	0.45	0.40			3.42	0.24	0.39
All-O	AVG	<b>0.40</b>	<b>0.39</b>	<b>0.80</b>	<b>0.81</b>	<b>3.47</b>	<b>0.23</b>	<b>0.39</b>
	MIN	<b>0.28</b>	<b>0.27</b>	<b>0.65</b>	<b>0.66</b>	<b>2.87</b>	<b>0.17</b>	<b>0.31</b>
	MAX	<b>0.57</b>	<b>0.49</b>	<b>1.08</b>	<b>1.14</b>	<b>4.69</b>	<b>0.35</b>	<b>0.55</b>
	STDEV	<b>0.07</b>	<b>0.06</b>	<b>0.12</b>	<b>0.13</b>	<b>0.44</b>	<b>0.05</b>	<b>0.05</b>
	COV	<b>17.62</b>	<b>16.23</b>	<b>14.91</b>	<b>15.80</b>	<b>12.60</b>	<b>22.02</b>	<b>13.46</b>

Konstatovane vrijednosti **indeksa slezene** su se kretale od 0.17% do 0.35%, sa prosječnom vrijednošću ukupnog uzorka od 0.23%. **Indeks srca** je iznosio 0.39% za jedinke tretirane aloksanom, sa minimalnom vrijednošću 0.31% i maksimalnom 0.55%.

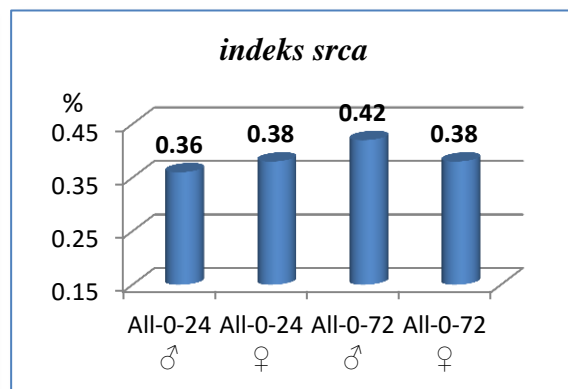
Višestrukom komparacijom nisu uočene statistički značajne razlike između grupa jedinki tretiranih aloksanom za parametre prirast mase i indeks srca (grafikoni 81 i 82).

Za vrijednosti indeksa bubrega, desnog i lijevog, uočava se statistički značajno povećanje istog kod jedinki žrtvovanih 72 sata nakon i.p. injekcije fiziološkog rastvora. Pritom, mužjaci (All-0-72 ♂) pokazuju najveću vrijednost ovog parametra u odnosu na mužjake (p=0.003 za desni i p=0.002 za lijevi bubreg) i ženke (D: p=0.001 i L: p=0.000

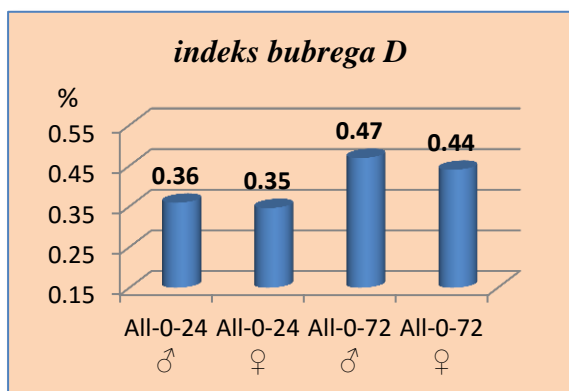
bubreg) žrtvovane 24 časa od tretmana fiziološkim rastvorom. Nešto nižu vrijednost ostvarile su ženke grupe All-0-72, ali i dalje značajnu u odnosu na mužjake (D:  $p=0.018$  i L:  $p=0.021$ ) i ženke (D:  $p=0.007$  i L:  $p=0.004$ ) iz grupe All-0-24 (grafikoni 83 i 84).



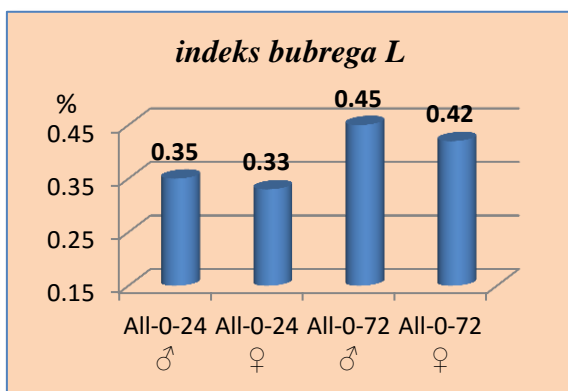
Grafikon br. 81 Prirast mase jedinki tretiranih aloksanom



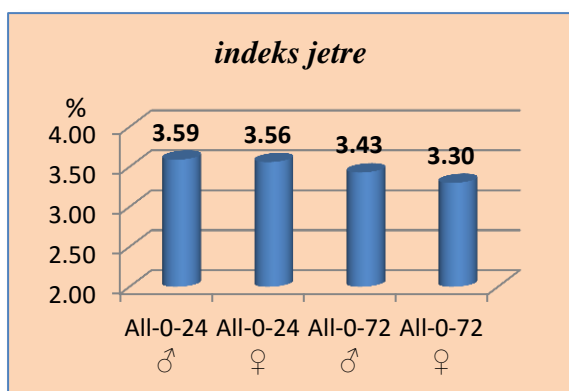
Grafikon br. 82 Organosomatski indeks srca jedinki tretiranih aloksanom



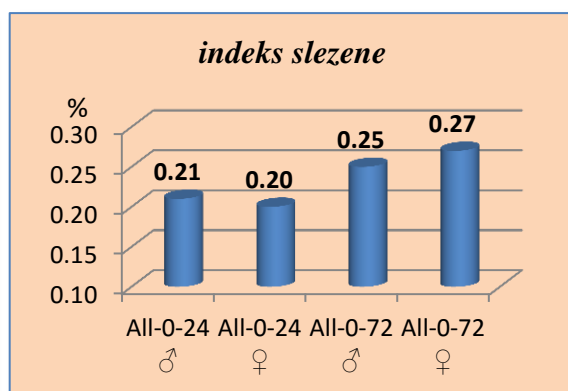
Grafikon br. 83 Organosomatski indeks desnog bubrega jedinki tretiranih aloksanom



Grafikon br. 84 Organosomatski indeks lijevog bubrega jedinki tretiranih aloksanom



Grafikon br. 85 Organosomatski indeks jetre jedinki tretiranih aloksanom



Grafikon br. 86 Organosomatski indeks lijevog bubrega jedinki tretiranih aloksanom

Najveća vrijednost indeksa jetre je zabilježena kod jedinki iz grupe All-0-24 i to kod mužjaka 3.59% i ženki 3.56%, pri čemu je statistički signifikantna razlika uočena u komparaciji grupa All-0-24 ♂ i All-0-72 ♀ ( $p=0.043$ ).

Vrijednosti slezene pokazuju suprotan tend; najviše vrijednosti su konstatovane kod ženki žrtvovanih 72 sata od administracije fiziološkog rastvora i značajno se razlikuju u odnosu na ostale grupe ( $p=0.022$  u odnosu na All-0-24 ♂,  $p=0.020$  sa All-0-24 ♀ i  $p=0.033$  sa All-0-72 ♂).

Ebong i saradnici (2014) su uočili da pri tretmanu aloksanom u dozi od 150 mg/kg tjelesne mase, nakon 14 dana se uočava značajan gubitak tjelesne mase, povećanje indeksa bubrega i smanjenje indeksa mase jetre. Gubitak tjelesne mase je povezan sa hiperglikemijom, kako kod eksperimentalnih modela, tako i kod čovjeka. Propadanje tkiva je karakteristično za slabu glikemijsku kontrolu pri dijabetesu i najčešće je povezano sa mobilizacijom proteina i masnoća. Dijabetes izaziva oštećenja tkiva pankreasa, jetre, bubrega i srca, koja su direktno povezana sa metaboličkim promjenama lipidne peroksidaze. Povećanje nivoa ovih enzima u serumu kod dijabetičnih pacova vjerovatno nastaje od njihove migracije iz tkiva jetre i drugih vitalnih organa u cirkulaciju. Ključna morfološka promjena, vezana za dijabetes, se ogleda u akumulaciji granula glikogena u distalnim tubulima, što dovodi do renalne hipertrofije. Akumulacija tečnosti u bubrezima tokom dijabetesa je uobičajena.

Inradevi i saradnici (2012) su izazvali dijabetes Wistar pacovima i.p. injekcijom aloksana u dozi od 200 mg/kg. Petnaest dana nakon tretmana životinje su žrtvovane. Uočili su značajan gubitak tjelesne mase kod jedinki sa potvrđenom hiperglikemijom, kao i povećanje indeksa mase jetre, slezene i bubrega u odnosu na jedinke kontrolne grupe.

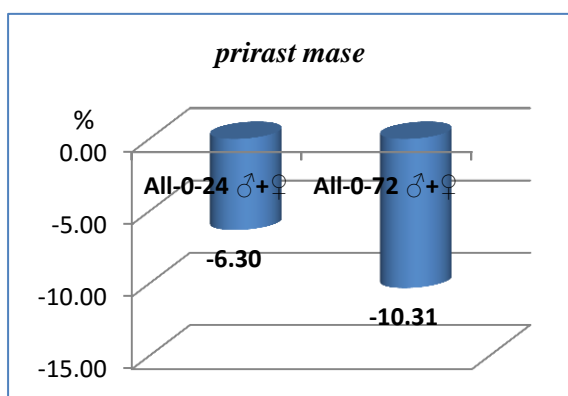
Akah i saradnici (2009) su takođe uočili porast indeksa mase burega, jetre, srca i slezene, pri tretmanu Wistar pacova aloksanom u dozi od 70 mg/kg, i.v., i ukupnoj dužini tretmana od 37 dana.

Lucchesi i saradnici (2015) su provjeravali dugoročni efekat aloksana (42 mg/kg i.v.) na jetru pacova, pri čemu su uočili značajno povećanje njenog udjela u ukupnoj tjelesnoj masi nakon 6, 14 i 26 sedmica. Konstatovali su morfološke i ultrastrukturne lezije na jetri, uz promjene u rasponu od masnih degeneracija hepatocita do steatohepatitisa i periportalne fibroze. Promjene su se ogledale u prisustvu masnih vakuola u hepatocitama, dilatiranim sinusoidima i progresivnim gubitkom opšte

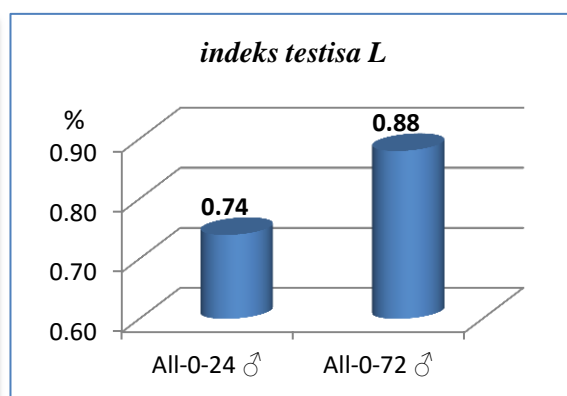
strukture organa. Praćene lezije na jetri dijabetičnih životinja su zahvatile sve strukture organa, od portalnih područja i sinusoida, hepatocita i citoplazmatskih organela, prvenstveno mitohondrija, endoplazmatskog retikuluma i jedra.

### 4.1.5.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

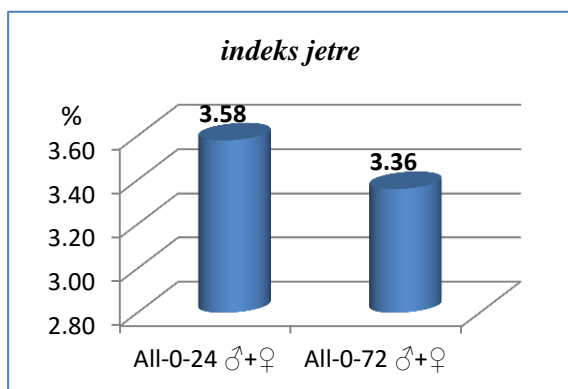
Poređenjem dobijenih vrijednosti praćenih parametara između jedinki žrtvovanih 24 i onih žrtvovanih 72 sata nakon i.p. injekcije fiziološkog rastvora, statistički značajna razlika nije uočena za prirast mase, indeks lijevog testisa, indeks jetre i indeks srca (grafikoni 87-90).



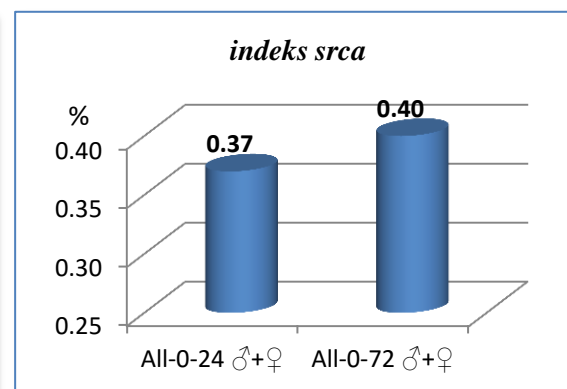
**Grafikon br. 87** Komparacija vrijednosti prirasta mase između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 88** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



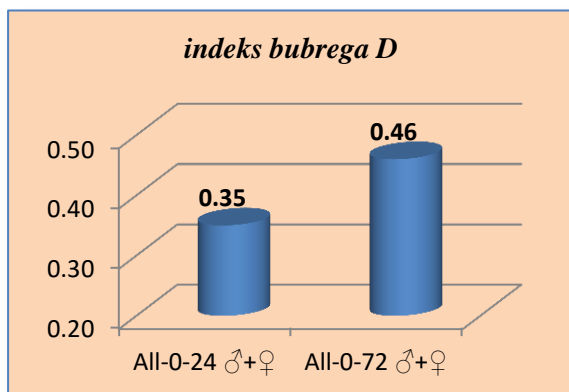
**Grafikon br. 89** Komparacija vrijednosti indeksa jetre između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



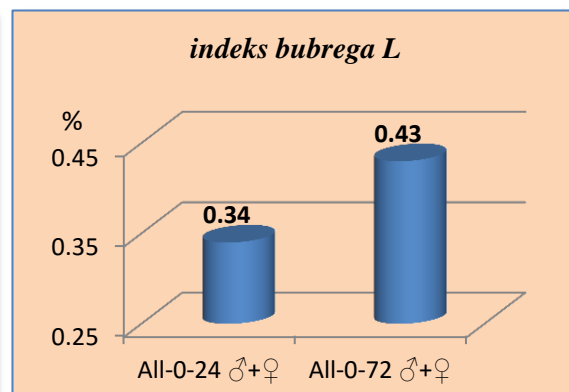
**Grafikon br. 90** Komparacija vrijednosti indeksa srca između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Vrijednosti organosomatskog indeksa desnog i lijevog bubrega (grafikoni 91 i 92) su se značajno razlikovale između jedinki žrtvovanih u različitom postaplikacionom periodu ( $p=0.000$ ), pri čemu su veće vrijednosti uočene kod jedinki grupe All-0-72 ♂+♀ (desni bubreg 0.46% i lijevi 0.43% ukupne tjelesne mase) u odnosu na jedinke grupe

All-0-24 ♂+♀ (D 0.35% i L 0.34%). Kako su ove jedinke provele 48 sati više pod uticajem stabilne hiperglikemije, očekivalo se i veće oštećenje bubrežnih tubula praćeno nakupljanjem vode (Ebong *et al.*, 2014).

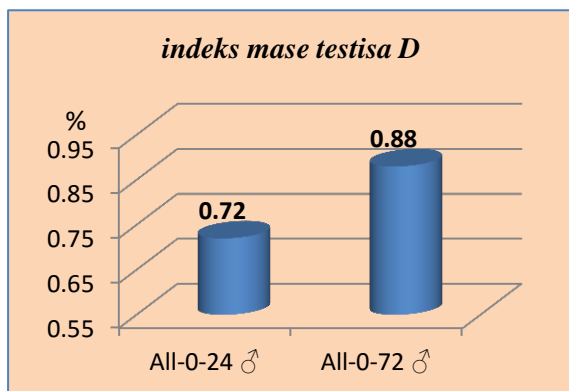


**Grafikon br. 91** Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

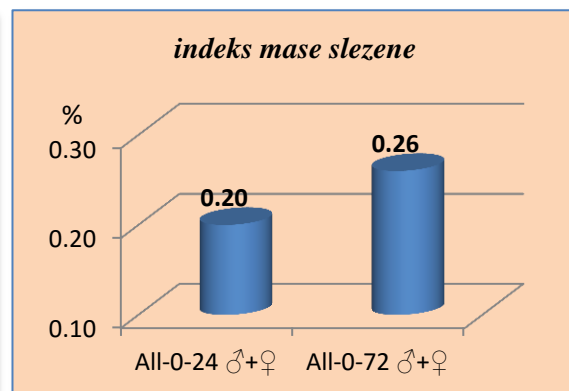


**Grafikon br. 92** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Indeksi desnog testisa mužjaka su dostigli veće vrijednosti kod mužjaka žrtvovanih kasnije ( $p=0.029$ ) (grafikon 93). Vrijednosti indeksa slezene su pratile isti trend, povećanje pri dužem postaplikacionom periodu, odnosno dužem hiperglikemijskog stanju. Konstatovana je prosječna vrijednost ovog parametra kod mužjaka grupe Al-0-72 0.26% od ukupne tjelesne mase, što se značajno razlikuje ( $p=0.013$ ) od mužjaka grupe All-0-24, čija vrijednost ovog organosomatskog indeksa je iznosila 0.20% ukupne tjelesne mase (grafikon 94). Kako stabilna hiperglikemija dovodi i do, između ostalog, povećanja udjela slezene u ukupnoj tjelesnoj masi (Akah *et al.*, 2009), dobijene razlike u odnosu na dužinu izloženosti tretmanu su bile očekivane.



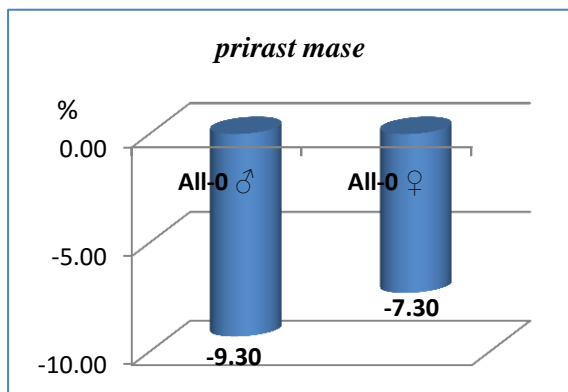
**Grafikon br. 93** Komparacija vrijednosti indeksa desnog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



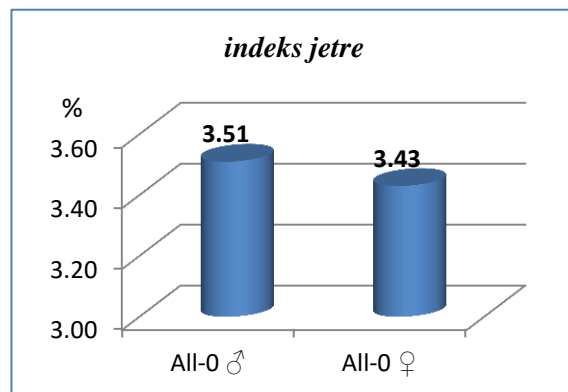
**Grafikon br. 94** Komparacija vrijednosti indeksa slezene između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



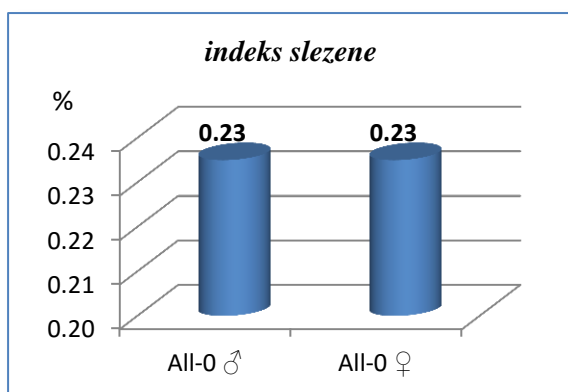
### 4.1.5.2. Morfometrijske karakteristike i pol



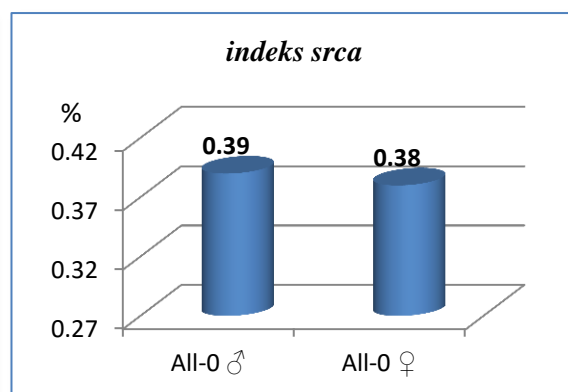
**Grafikon br. 95** Komparacija vrijednosti prirasta mase između mužjaka i ženki



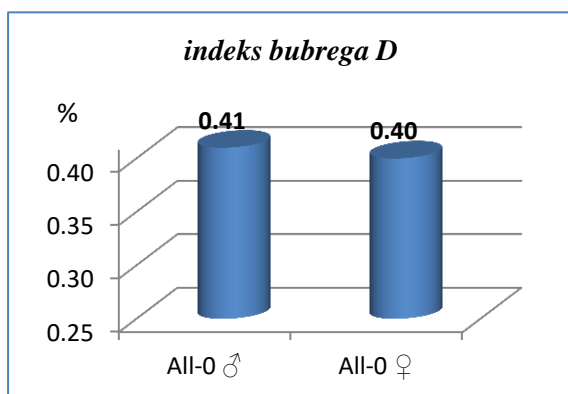
**Grafikon br. 96** Komparacija vrijednosti indeksa jetre između mužjaka i ženki



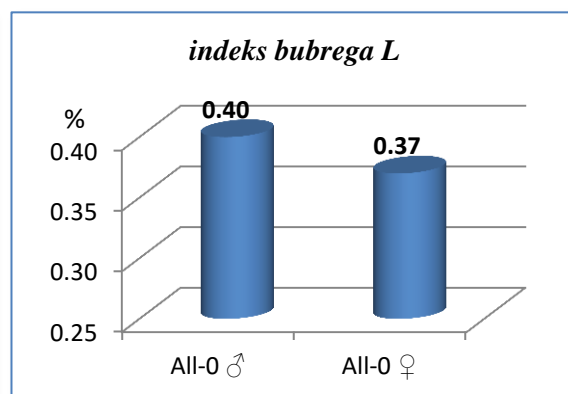
**Grafikon br. 97** Komparacija vrijednosti indeksa slezene između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 98** Komparacija vrijednosti indeksa srca između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 99** Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 100** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između mužjaka i ženki

Poređenjem vrijednosti praćenih parametara T testom između jedinki muškog i ženskog pola, statistički značajne razlike nisu konstatovane (grafikoni 95-100).

### 4.1.6. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih aloksanom (All-E)

Dvadeset jedinki oba pola sa izraženom hiperglikemijom je podijeljeno u grupe po 5 jedinki All-E-24 ♂, All-E-24 ♀, All-E-72 ♂ i All-E-72 ♀. Svim jedinkama je nakon 14 dana stabilne hiperglikemije ubrizgano (i.p.) 0,2 ml rastvora bakterijske suspenzije (CFU  $3 \times 10^7$ /ml) *Escherichia coli*. Žrtvovanje je obavljeno 24, odnosno 72 sata kasnije. Dobijene vrijednosti morfometrijskih parametara ukupnog uzorka su predstavljene u tabelama 14 i 15.

**Tabela br. 14 Masa, prirast mase i dužina tijela jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**

		tijelo m <sub>1</sub> (g)	tijelo m <sub>2</sub> (g)	prirast mase	tijelo d (mm)
All-E-24 ♂	1	216.32	203.20	-6.07	210
	2	190.20	181.06	-4.81	200
	3	221.09	201.19	-9.00	200
	4	192.15	163.32	-15.00	195
	5	205.78	210.77	2.42	212
All-E-24 ♀	1	148.43	137.41	-7.42	180
	2	161.62	141.24	-12.61	180
	3	136.79	131.28	-4.03	175
	4	110.34	104.92	-4.91	190
	5	152.98	148.74	-2.77	190
All-E-72 ♂	1	174.58	156.66	-10.26	186
	2	178.23	164.66	-7.61	194
	3	161.14	104.93	-34.88	193
	4	147.99	138.18	-6.63	195
	5	189.15	176.52	-6.68	180
All-E-72 ♀	1	167.96	153.77	-8.45	189
	2	167.08	129.64	-22.41	183
	3	171.92	158.79	-7.64	186
	4	147.57	130.92	-11.28	178
	5	159.17	153.80	-3.37	190
All-E	AVG	<b>170.02</b>	<b>154.55</b>	<b>-9.17</b>	<b>190.30</b>
	MIN	<b>110.34</b>	<b>104.92</b>	<b>-34.88</b>	<b>175.00</b>
	MAX	<b>221.09</b>	<b>210.77</b>	<b>2.42</b>	<b>212.00</b>
	STDEV	<b>27.22</b>	<b>29.48</b>	<b>7.92</b>	<b>10.02</b>
	COV	<b>16.01</b>	<b>19.07</b>	<b>-86.34</b>	<b>5.27</b>

Kao i kod jedinki prethodne grupe, tretman aloksanom je izazvao veliki gubitak tjelesne mase eksperimentalnih jedinki, pa se **prirast mase** kretao od -34.88% do 2.42%. Uopšte, prosječan gubitak mase cjelokupnog uzorka je iznosio -9.17% (tabela 14).

**Tabela br. 15 Organosomatski indeksi jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**

		indeks bubrega D	indeks bubrega L	indeks testisa D	indeks testisa L	indeks jetre	indeks slezene	indeks srca
AII-E-24 ♂	1	0.40	0.41	0.68	0.71	3.40	0.23	0.41
	2	0.33	0.32	0.72	0.73	2.72	0.28	0.35
	3	0.38	0.38	0.58	0.60	2.34	0.21	0.34
	4	0.36	0.37	0.74	0.81	3.26	0.20	0.37
	5	0.33	0.36	0.65	0.79	2.67	0.24	0.36
AII-E-24 ♀	1	0.34	0.41			3.52	0.28	0.38
	2	0.45	0.41			3.66	0.25	0.43
	3	0.33	0.40			3.87	0.25	0.40
	4	0.51	0.53			4.94	0.38	0.51
	5	0.39	0.38			3.81	0.26	0.44
AII-E-72 ♂	1	0.34	0.32	0.71	0.79	2.55	0.24	0.35
	2	0.36	0.34	0.77	0.75	2.64	0.21	0.33
	3	0.58	0.62	1.32	1.32	3.80	0.30	0.52
	4	0.48	0.45	0.96	1.00	3.24	0.31	0.45
	5	0.32	0.32	0.78	0.75	2.44	0.28	0.33
AII-E-72 ♀	1	0.40	0.38			3.34	0.31	0.40
	2	0.38	0.37			3.34	0.25	0.45
	3	0.40	0.32			3.02	0.21	0.37
	4	0.41	0.40			2.83	0.24	0.38
	5	0.44	0.42			2.53	0.24	0.36
AII-E	AVG	<b>0.40</b>	<b>0.40</b>	<b>0.79</b>	<b>0.83</b>	<b>3.20</b>	<b>0.26</b>	<b>0.40</b>
	MIN	<b>0.32</b>	<b>0.32</b>	<b>0.58</b>	<b>0.60</b>	<b>2.34</b>	<b>0.20</b>	<b>0.33</b>
	MAX	<b>0.58</b>	<b>0.62</b>	<b>1.32</b>	<b>1.32</b>	<b>4.94</b>	<b>0.38</b>	<b>0.52</b>
	STDEV	<b>0.07</b>	<b>0.07</b>	<b>0.21</b>	<b>0.20</b>	<b>0.64</b>	<b>0.04</b>	<b>0.06</b>
	COV	<b>17.45</b>	<b>18.56</b>	<b>26.35</b>	<b>24.02</b>	<b>20.01</b>	<b>17.07</b>	<b>13.88</b>

Organosomatski **indeks bubrega** se kretao od 0.32% do 0.58% za desni i 0.62% za lijevi bubreg. Prosječna vrijednost ovog indeksa je iznosila 0.40% ( $\pm 0.07$ ).

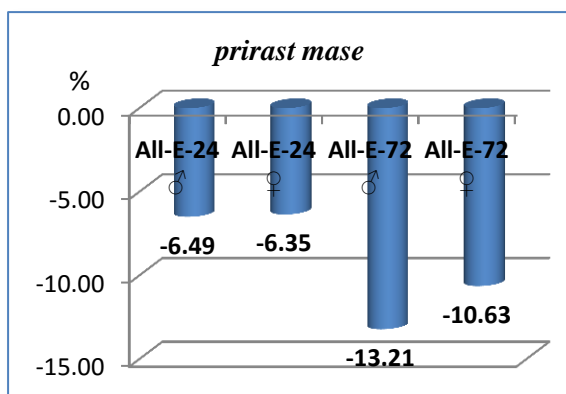
Vrijednosti **indeksa testisa** su imale raspon od 0.58 (desni testis) i 0.60% (lijevi testis) do 1.32% (oba testisa). Prosječna vrijednost cjelokupnog uzorka, ukupno 10 mužjaka, je iznosila 0.79% za desni i 0.83% za lijevi testis.

Prosječne vrijednosti praćenih parametara za svaku grupu jedinki tretiranih olovo-acetatom su prikazane grafički (grafikoni 101 - 106).

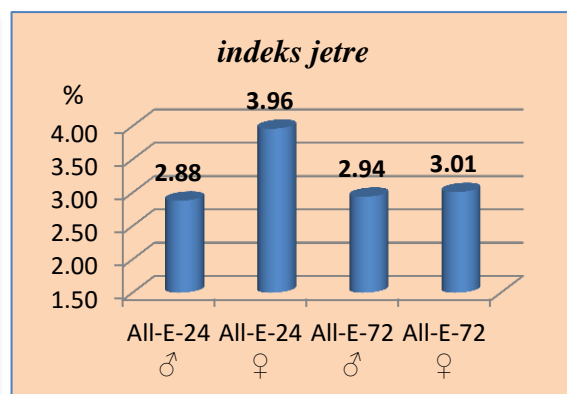
Najniža prosječna vrijednost prirasta mase (grafikon 101) je zabilježena kod mužjaka žrtvovanih 72 sata nakon infekcije ešerihijom (- 13.21%), potom ženki iste grupe (- 10.63%), dok su jedinke kraće izložene infekciji imale manji gubitak tjelesne

mase (♂ - 6.49% i ♀ - 6.35%). Višestrukom komparacijom dobijenih vrijednosti ne uočava se statistički značajna razlika između grupa ( $p > 0.050$ ).

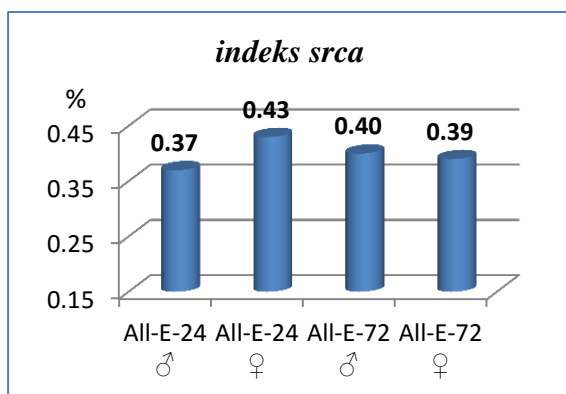
Posmatranjem dobijenih vrijednosti za organosomatski **indeks jetre** (grafikon 102) primjećuje se značajno odstupanje kod jedinki grupe All-E-24 ♀, koje su dostigle najveće vrijednosti ovog parametra, 3.96%, u odnosu na jedinke grupa All-E-24 ♂, 2.88% ( $p=0.003$ ), All-E-72 ♂, 2.94% ( $p=0.005$ ) i All-E-72 ♀, 3.01% ( $p=0.008$ ).



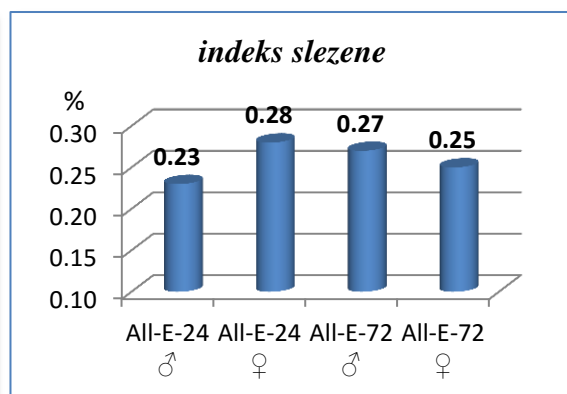
**Grafikon br. 101 Prirast mase jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom**



**Grafikon br. 102 Organosomatski indeks jetre jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom**

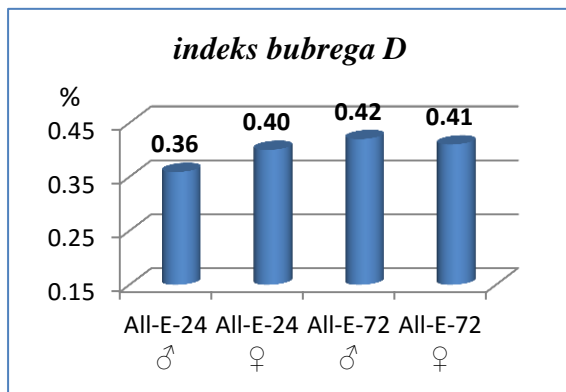


**Grafikon br. 103 Organosomatski indeks srca jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom**

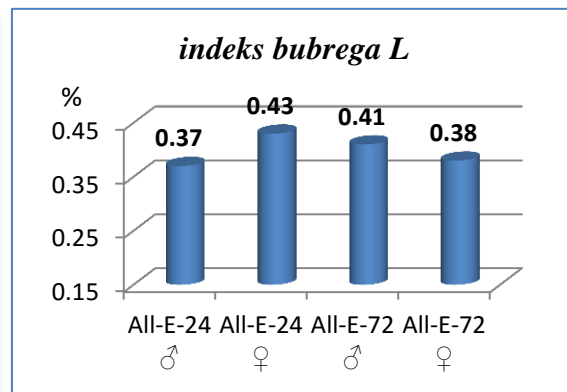


**Grafikon br. 104 Organosomatski indeks slezene jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom**

Poređenjem dobijenih vrijednosti ostalih praćenih parametara ne uočavaju se statistički značajne razlike ( $p > 0.050$ ). Jedinke grupe All-E-24 ♀ su dostigle najveće vrijednosti organosomatskih indeksa srca (0.43%), slezene (0.28%) i lijevog bubrega (0.43%), dok je u slučaju desnog bubrega najveća vrijednost zabilježena kod jedinki grupe All-E-72 ♂ (0.42%).



**Grafikon br. 105 Organosomatski indeks desnog bubrega jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom**



**Grafikon br. 106 Organosomatski indeks lijevog bubrega jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom**

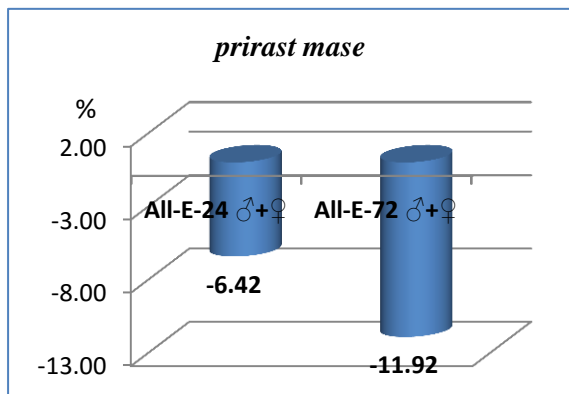
Tokom dijabetesa, zahvaljujući nedostatku insulina ili rezistentnosti na njega, kao i neosjetljivosti ćelija na aktivnost insulina, smanjuje se transport glukoze u ćelije, te njen nedostatak rezultuje glukoneogenezom (lipoliznom, proteoliznom i slično), što dalje dovododi do smanjenja tjelesne mase, usljed sagorjevanja masti i proteina (Onwuli *et al.*, 2014).

Ananthi i saradnici (2003) su uočili da pri intoksikaciji pacova aloksanom u dozi od 150mg/kg dolazi do prosječnog gubitka tjelesne mase od približno 30% nakon 70 dana hiperglikemije.

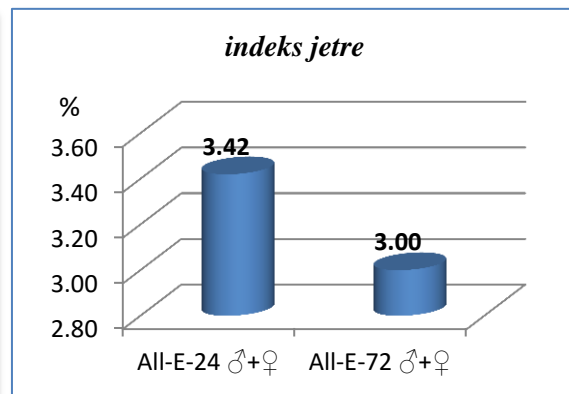
Lucchesi i saradnici (2015) su evidentirali povećanje indeksa jetre usljed histopatoloških promjena nastalih intoksikacijom aloksanom, Indradevi i saradnici (2012) su zabilježili gubitak tjelesne mase i povećanje organosomatskih indeksa jetre i bubrega usljed aloksanskog dijabetesa, Akah i saradnici (2009) su uočili povećanje organosomatskih indeksa bubrega, jetre, srca i slezene, dok su Ebong i saradnici (2014) nakon četrnaestodnevno izlaganja toskičnom efektu aloksana u dozi od 200 mg/kg konstatovali povećanje indeksa bubrega i smanjivanje vrijednosti indeksa mase jetre.

#### 4.1.6.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

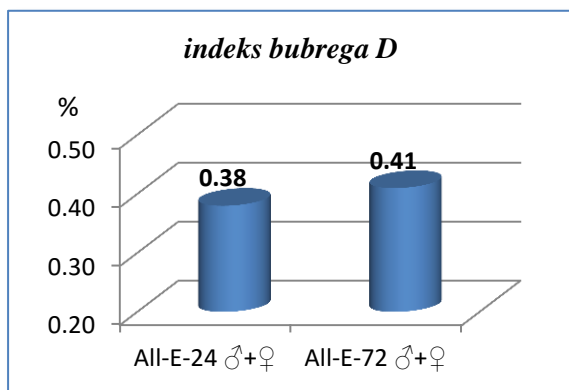
Primjenom nezavisnog T testa ne uočavaju se statistički značajne razlike ( $p > 0.050$ ) praćenih morfometrijskih parametara između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata od izazivanja infekcije (grafikoni 107-114).



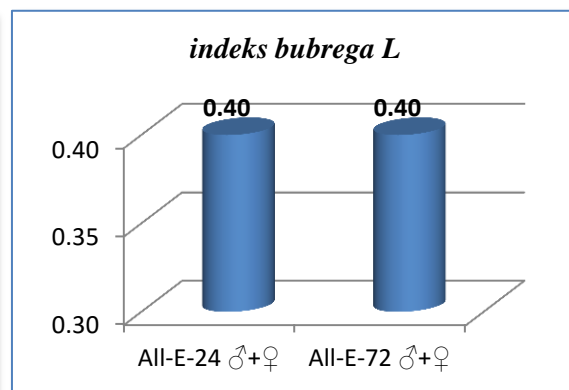
Grafikon br. 107 Komparacija vrijednosti prirasta mase između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



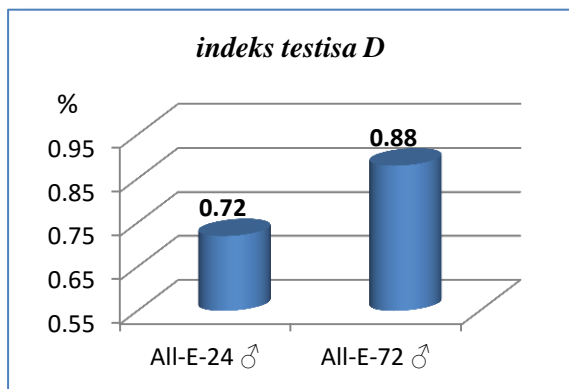
Grafikon br. 108 Komparacija vrijednosti indeksa jetre između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



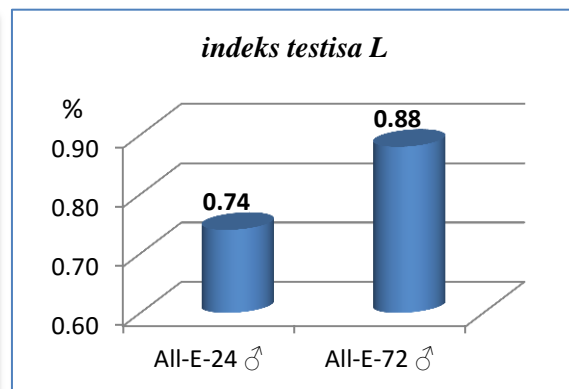
Grafikon br. 109 Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



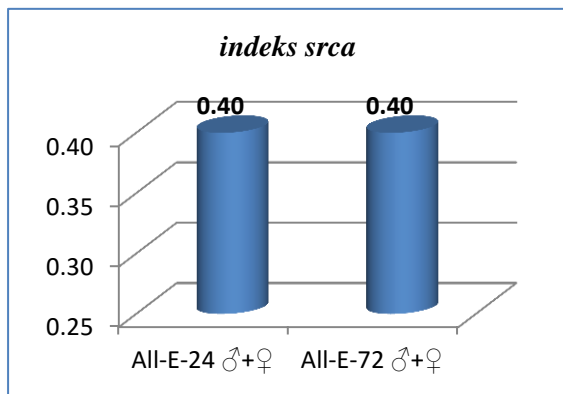
Grafikon br. 110 Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



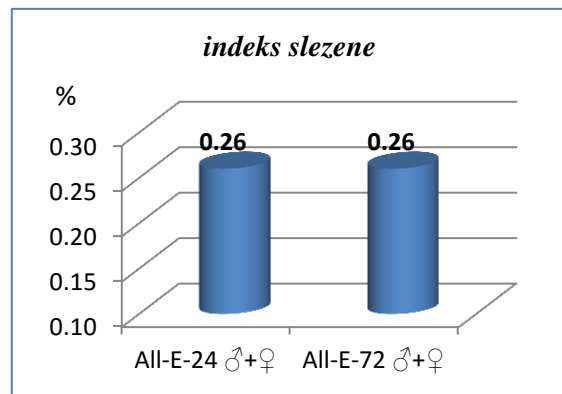
Grafikon br. 111 Komparacija vrijednosti indeksa desnog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



Grafikon br. 112 Komparacija vrijednosti indeksa lijevog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

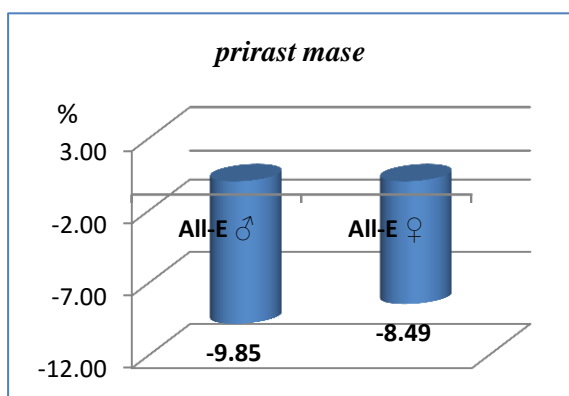


Grafikon br. 113 Komparacija vrijednosti indeksa srca između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

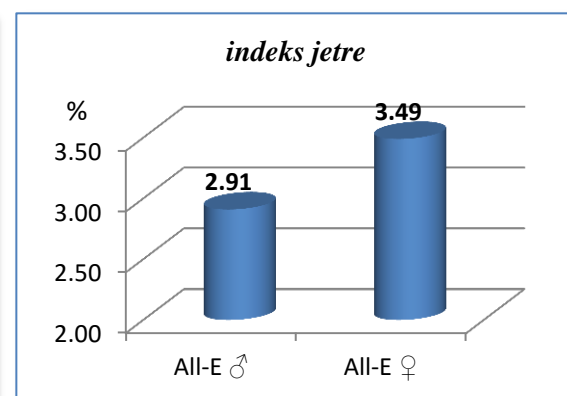


Grafikon br. 114 Komparacija vrijednosti indeksa slezene između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

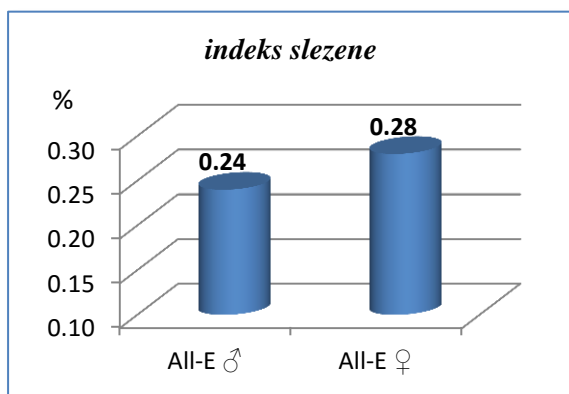
4.1.6.2. Morfometrijske karakteristike i pol



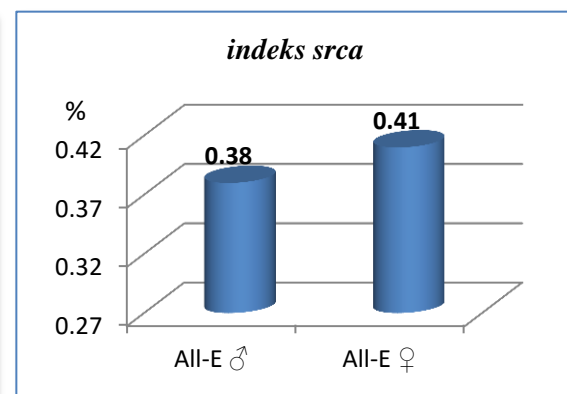
Grafikon br. 115 Komparacija vrijednosti prirasta mase između mužjaka i ženki



Grafikon br. 116 Komparacija vrijednosti indeksa jetre između između mužjaka i ženki

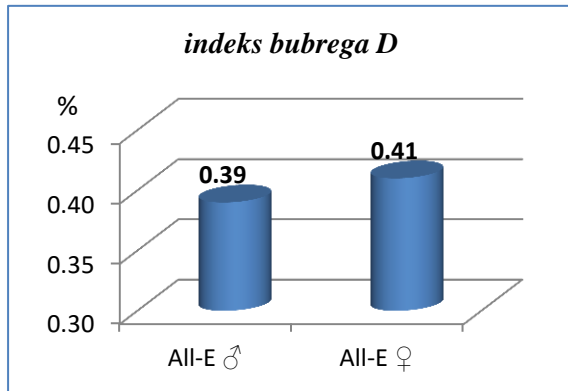


Grafikon br. 117 Komparacija vrijednosti indeksa slezene između mužjaka i ženki

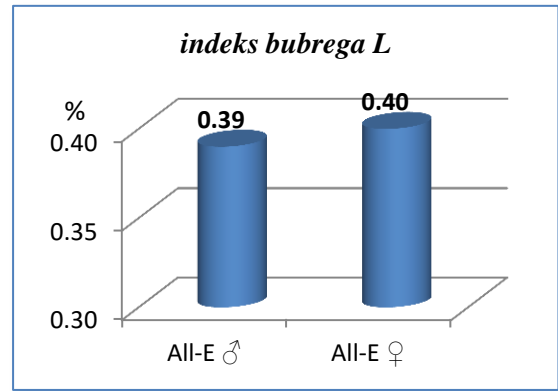


Grafikon br. 118 Komparacija vrijednosti indeksa srca između između mužjaka i ženki

Komparacija dobijenih vrijednosti praćenih parametara u odnosu na pol takođe nije pokazala statistički značajne razlike ( $p > 0.050$ ) (grafikoni 115-120).



*Grafikon br. 119 Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između mužjaka i ženki*



*Grafikon br. 120 Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između mužjaka i ženki*



### 4.1.7. Tretman aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-0)

Dvadeset zdravih jedinki je podvrgnuto sinergističkom dejstvu olovo-acetata i aloksana. Po postizanju stabilne hiperglikemije jedinke su izlagane dvonedeljnoj intoksikaciji olovo-acetatom u koncentraciji od 1500 ppm. Dobijene vrijednosti morfometrijskih parametara tretiranih jedinki, dobijene nakon žrtvovanja, su predstavljene u tabelama 16 i 17.

**Tabela br. 16 Masa, prirast mase i dužina tijela jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom**

		tijelo m <sub>1</sub> (g)	tijelo m <sub>2</sub> (g)	prirast mase	tijelo d (mm)
All-Pb-0-24♂	1	211.49	185.33	-12.37	210
	2	208.89	178.50	-14.55	195
	3	208.85	190.04	-9.01	199
	4	202.94	182.16	-10.24	203
	5	205.36	178.01	-13.32	205
All-Pb-0-24♀	1	163.28	141.15	-13.55	180
	2	179.27	152.91	-14.70	177
	3	199.36	168.14	-15.66	181
	4	184.25	160.77	-12.74	180
	5	201.18	171.43	-14.79	181
All-Pb-0-72♂	1	205.48	171.22	-16.67	184
	2	202.05	174.15	-13.81	187
	3	204.01	171.48	-15.95	193
	4	203.47	170.41	-16.25	183
	5	200.86	173.65	-13.55	194
All-Pb-0-72♀	1	185.41	156.80	-15.43	191
	2	179.03	150.47	-15.95	192
	3	182.54	160.05	-12.32	186
	4	175.72	151.72	-13.66	191
	5	182.12	150.64	-17.29	196
All-Pb-0	<b>AVG</b>	<b>194.28</b>	<b>166.95</b>	<b>-14.09</b>	<b>190.40</b>
	<b>MIN</b>	<b>163.28</b>	<b>141.15</b>	<b>-17.29</b>	<b>177.00</b>
	<b>MAX</b>	<b>211.49</b>	<b>190.04</b>	<b>-9.01</b>	<b>210.00</b>
	<b>STDEV</b>	<b>13.82</b>	<b>13.28</b>	<b>2.10</b>	<b>9.19</b>
	<b>COV</b>	<b>7.11</b>	<b>7.95</b>	<b>-14.91</b>	<b>4.83</b>

Vrijednosti **prirasta mase** (grafikon 121) zabilježene kod jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom su se kretale od - 17.29 do - 9.01%, prosječno - 14.09%. Nijedna jedinka nije ispoljila pozitivne vrijednosti ovog parametra. Komparacijom srednjih vrijednosti prirasta mase tretiranih jedinki statistički značajna razlika se uočava

između jedinki grupe All-Pb-0-24 ♂, koji su zabiježili najmanji gubitak mase, i jedinki grupa All-Pb-0-24 ♀ (p=0.047), All-Pb-0-72 ♂ (p=0.008) i All-Pb-0-72 ♀ (p=0.015).

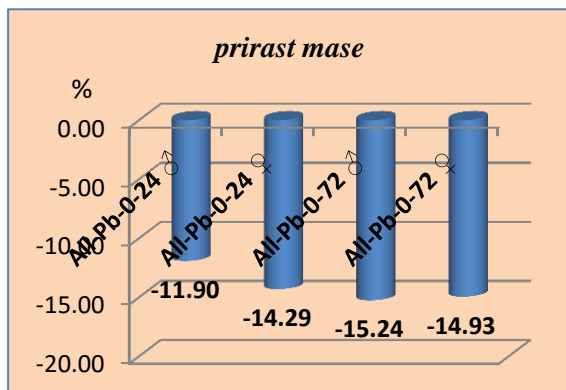
**Tabela br. 17 Organosomatski indeksi jedinki tretiranih olovo-acetatom, aloksanom i inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**

		indeks bubrega D	indeks bubrega L	indeks testisa D	indeks testisa L	indeks jetre	indeks slezene	indeks srca
All-Pb-0-24 ♂	1	0.61	0.60	0.71	0.74	3.80	0.24	0.48
	2	0.61	0.61	0.66	0.60	3.93	0.30	0.49
	3	0.53	0.53	0.63	0.65	3.68	0.27	0.47
	4	0.61	0.55	0.63	0.58	3.94	0.30	0.51
	5	0.57	0.56	0.61	0.56	4.07	0.31	0.48
All-Pb-0-24 ♀	1	0.56	0.55			3.95	0.27	0.40
	2	0.53	0.54			4.05	0.29	0.33
	3	0.54	0.54			3.91	0.30	0.36
	4	0.59	0.58			4.06	0.26	0.40
	5	0.60	0.59			3.83	0.27	0.36
All-Pb-0-72 ♂	1	0.61	0.60	0.75	0.77	3.84	0.30	0.48
	2	0.57	0.56	0.62	0.60	3.99	0.28	0.45
	3	0.57	0.57	0.65	0.63	3.91	0.29	0.47
	4	0.58	0.58	0.62	0.65	4.01	0.29	0.49
	5	0.60	0.58	0.71	0.68	4.02	0.26	0.46
All-Pb-0-72 ♀	1	0.63	0.63			4.13	0.29	0.44
	2	0.59	0.58			4.04	0.29	0.49
	3	0.57	0.56			3.96	0.27	0.44
	4	0.63	0.63			3.95	0.26	0.47
	5	0.58	0.57			4.09	0.31	0.54
All-Pb-0	AVG	<b>0.58</b>	<b>0.58</b>	<b>0.66</b>	<b>0.65</b>	<b>3.96</b>	<b>0.28</b>	<b>0.45</b>
	MIN	<b>0.53</b>	<b>0.53</b>	<b>0.61</b>	<b>0.56</b>	<b>3.68</b>	<b>0.24</b>	<b>0.33</b>
	MAX	<b>0.63</b>	<b>0.63</b>	<b>0.75</b>	<b>0.77</b>	<b>4.13</b>	<b>0.31</b>	<b>0.54</b>
	STDEV	<b>0.03</b>	<b>0.03</b>	<b>0.05</b>	<b>0.07</b>	<b>0.11</b>	<b>0.02</b>	<b>0.05</b>
	COV	<b>4.93</b>	<b>5.06</b>	<b>7.45</b>	<b>10.52</b>	<b>2.78</b>	<b>6.99</b>	<b>11.98</b>

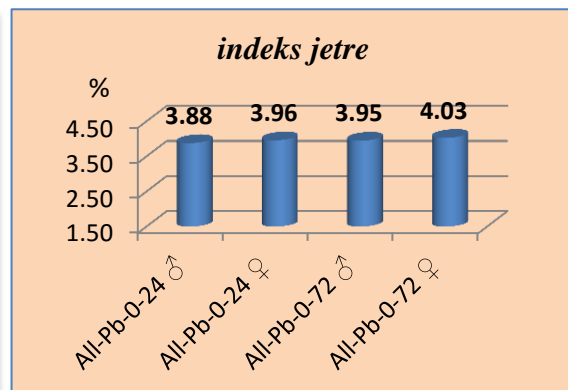
Organosomatski **indeks jetre** (grafikon 122) se kretao od 3.68-4.13% tjelesne mase tretiranih jedinki, prosječno 3.95%. Višestrukom komparacijom uočeno je značajno odstupanje jedinki grupe All-Pb-0-24 ♂ u odnosu na jedinke grupe All-Pb-0-72 ♀ (p=0.039), nastalo vjerovatno usljed najmanjeg gubitka tjelesne mase mužjaka navedene grupe.

Statistički signifikantne razlike se uočavaju i za **indeks srca** (grafikon 123), koji se kretao od 0.33 - 0.54%, sa srednjom vrijednosti od 0.45% tjelesne mase jedinki, pri čemu je najniža vrijednost ovog parametra, 0.37%, konstatovana kod ženki grupe All-

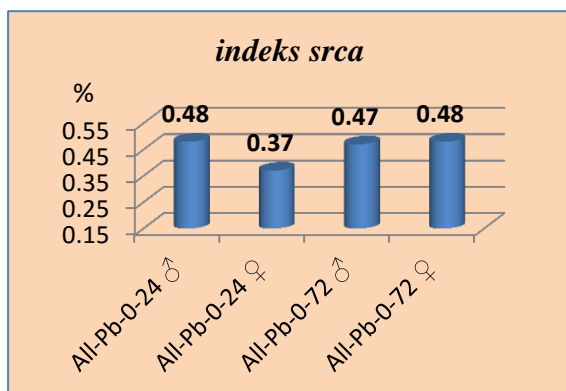
Pb-0-24. Veće vrijednosti ovog parametra su zabilježene kod mužjaka iste grupe, kao i jedinki oba pola grupe All-Pb-0-72 ( $p=0.000$ ).



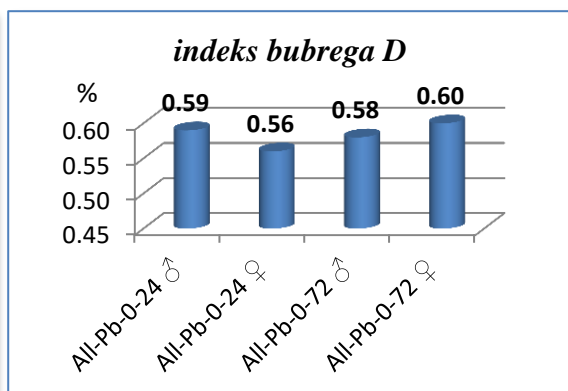
Grafikon br. 121 Prirast mase jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom



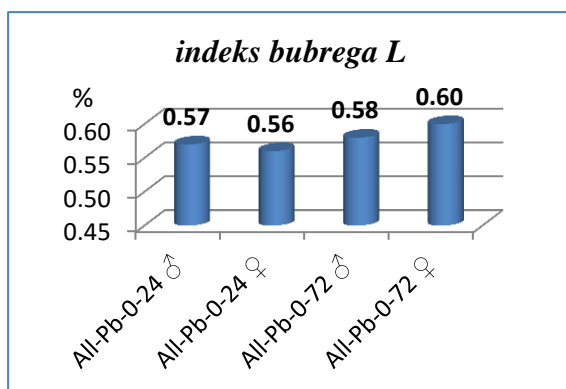
Grafikon br. 122 Organosomatski indeks jetre jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom



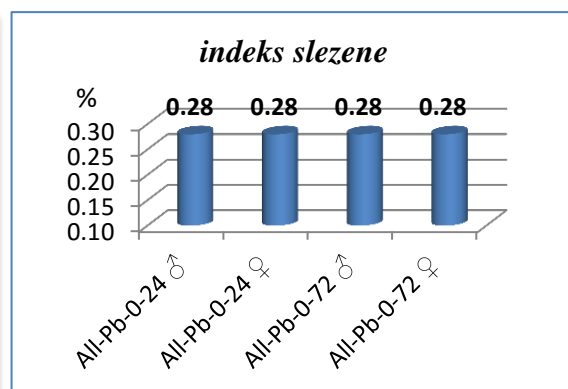
Grafikon br. 123 Organosomatski indeks srca jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom



Grafikon br. 124 Organosomatski indeks desnog bubrega jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom



Grafikon br. 125 Organosomatski indeks lijevog bubrega jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom



Grafikon br. 126 Organosomatski indeks slezene jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom

Ostali organosomatski indeksi ne pokazuju statistički značajne razlike oređenjem različitih grupa tretiranih aloksanom i olovo-acetatom.

**Indeksi desnog i lijevog bubrega** su imali vrijednosti od 0.53 do 0.63% tjelesne mase jedinki, prosječno 0.58%, pri čemu su najmanju vrijednost ovog parametra pokazale jedinke grupe All-Pb-0-24 ♀, a najvišu All-Pb-0-72 ♀ (grafikoni 124 i 125).

Dobijene vrijednosti organosomatskog **indeksa slezene** su bile ujednačene za sve grupe, 0.28% tjelesne mase, sa minimumom od 0.24 i maksimumom od 0.31% (grafikon 126).

Pri dvostrukom tretmanu uočene su značajne promjene prirasta tjelesne mase kod svih jedinki. Stres izazvan samom aplikacijom aloksana, kao i dejstvo olovo-acetata i aloksana na organizam doveli su do gubitka tjelesne mase tretiranih jedinki, što ujedno izaziva povećanje indeksa mase pojedinih organa.

Mude i saradnici (2012) su konstatovali značajan gubitak tjelesne mase kod jedinki intoksikovanih aloksanom u dozi od 40 mg/kg tjelesne mase, 10 i 21 dan od aplikacije. Dijabetes uzrokovan aloksanom (120 mg/kg tjelesne težine, i.p.) izaziva signifikantan gubitak tjelesne mase, polidipsiju, kao i povećanje indeksa bubrega i jetre kod Wistar pacova (Ewenighi *et al.*, 2015). Gubitak tjelesne mase dijabetičnih pacova ukazuje na degradaciju strukturnih proteina usljed dijabetesa (Ananthi *et al.*, 2003).

Saba i saradnici (2010) su uočili da pri četveronedeljnoj hiperglikemiji izazvanoj aloksanom (100 mg/kg tjelesne mase, i.p.) dolazi do značajnog smanjenja tjelesne mase tretiranih jedinki, povećanja indeksa jetre i bubrega i smanjenja indeksa slezene i srca. S druge strane, takođe nakon dvadesetosmodnevne izloženosti aloksanskoj hiperglikemiji (150 mg/kg tjelesne mase, i.p.) Kim i saradnici (2013) su konstatovali pozitivne vrijednosti prirasta mase, ali značajno niže od istih dobijenih za jedinke kontrolne (netretirane) grupe, dok Sarma i Das (2008), pri istoj dozi aloksana i nakon petnaestodnevne izloženosti povećanoj koncentraciji glukoze bilježe negativan prirast mase dijabetičnih jedinki.

Takođe, pri svakodnevnoj intoksikaciji Wistar pacova olovo-acetatom (6 mg/kg tjelesne mase) tokom četrnaest dana javlja se izražen gubitak tjelesne mase (Isaac *et al.*, 2013). Deveci (2006), kao i Deveci *et al.* (2011) su uočili značajan (- 20%) gubitak tjelesne mase nakon dvomjesečne intoksikacije olovo-acetatom putem vode *ad libitum* u koncentraciji od 500 ppm. Slične podatke, gubitak tjelesne mase od 17%, su dobili i de

Figueiredo i saradnici (2014) nakon dvomjesečne intoksikacije olovo-acetatom koncentracije 30 mg/l dejonizovane vode.

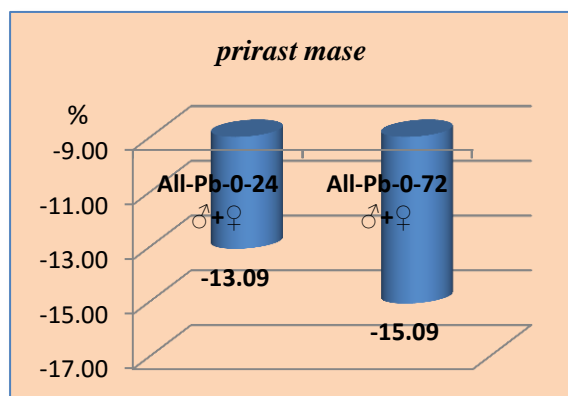
Pri intoksikaciji olovo-acetatom koncentracije 15 mg/kg tjelesne mase dolazi do gubitka mase u vrijednosti od 5% (u odnosu na inicijalnu masu) nakon 14 dana (Olchowik *et al.*, 2014).

Nižu tjelesnu masu kod jedinki intoksikovanih olovo-acetatom u odnosu na kontrolne jedinke su uočili i Shahandeh i saradnici (2013), kao i Ait Hamadouche i saradnici (2013).

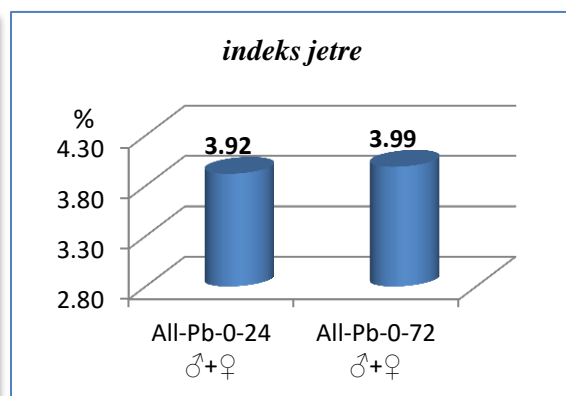
Allouche i saradnici (2011) smatraju da olovo može uticati na smanjenje tjelesne mase u prvom periodu izloženosti, da bi se organizam nakon dugoročne eksponiranosti adaptirao na toksičnost ovog metala i nadomjestio gubitak mase. Istovremeno udio mase jetre se značajno povećava s povećanjem koncentracije olovo-acetata i vremena izloženosti.

Dnevna administracija 100 mg/kg olovo-acetata pacovima, dovodi do smanjenja ukupne tjelesne mase tih jedinki u odnosu na kontrolne, praćenog povećanjem udjela mase pojedinih organa, konstatovano na primjeru mozga, jetre i bubrega (Alabbassi *et al.*, 2008).

### 4.1.7.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)



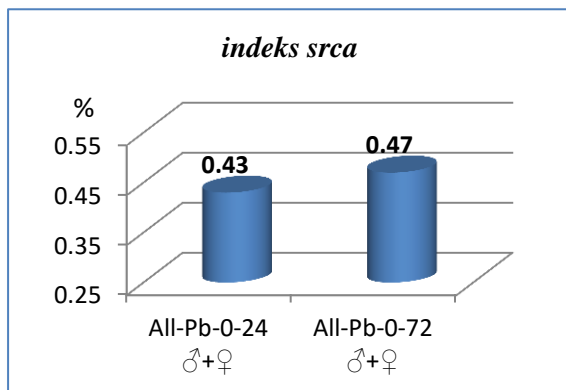
**Grafikon br. 127** Komparacija vrijednosti prirasta mase između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



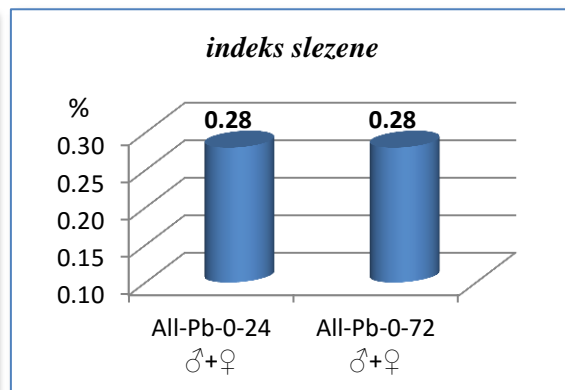
**Grafikon br. 128** Komparacija vrijednosti indeksa jetre između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Poređenjem dobijenih vrijednosti morfometrijskih karaktera jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i aloksanom u odnosu na vrijeme žrtvovanja, 24 i 72 sata od i.p. injekcije fiziološkog rastvora, statistički značajna razlika ( $p=0.029$ ) se uočava samo za prirast mase (grafikon 127). Jedinke žrtvovane kasnije su imale izraženiji

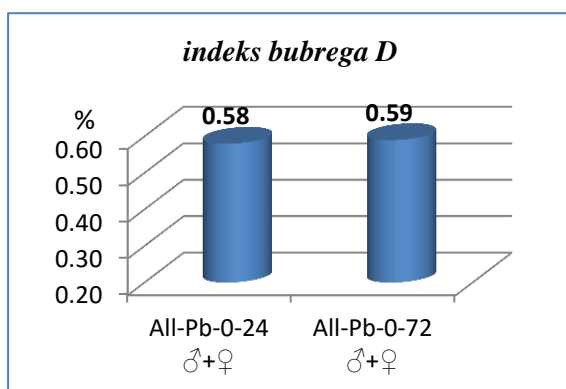
gubitak tjelesne mase (-15.09%) u odnosu na one žrtvovane 24 sata od tretmana (13.09%).



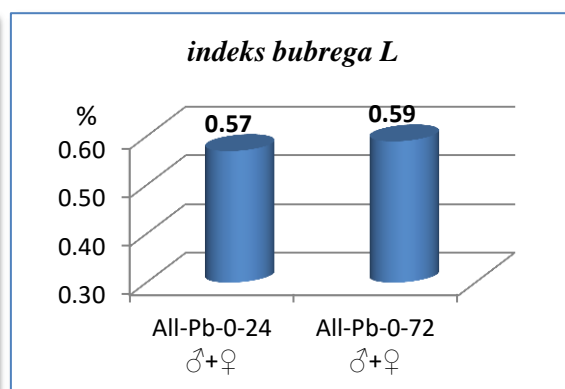
**Grafikon br. 129** Komparacija vrijednosti indeksa srca između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



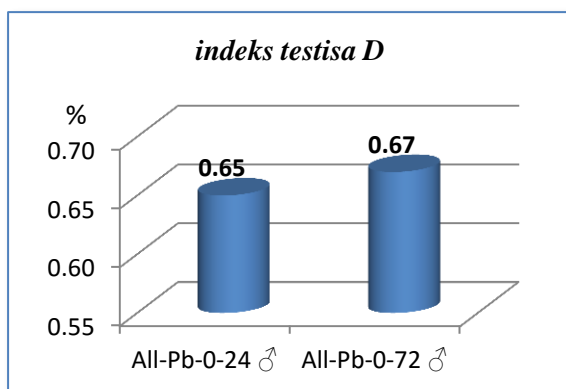
**Grafikon br. 130** Komparacija vrijednosti indeksa slezene između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



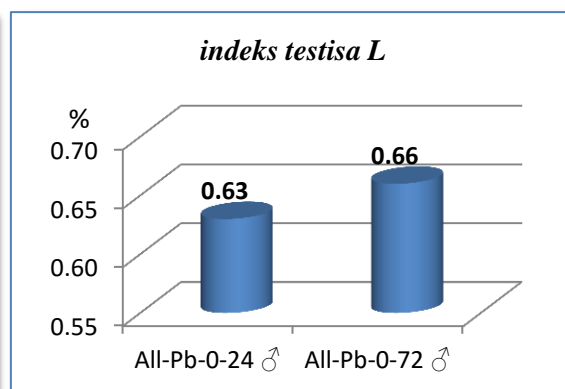
**Grafikon br. 131** Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 132** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 133** Komparacija vrijednosti indeksa desnog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

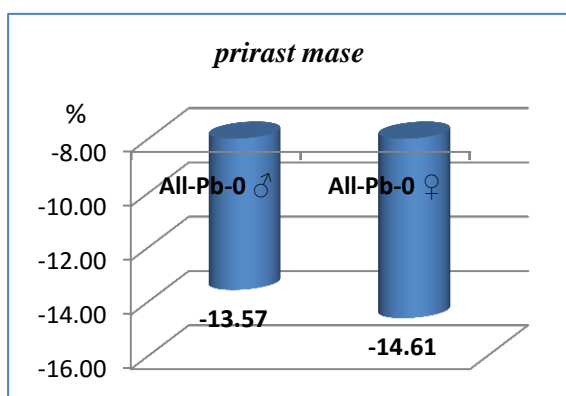


**Grafikon br. 134** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

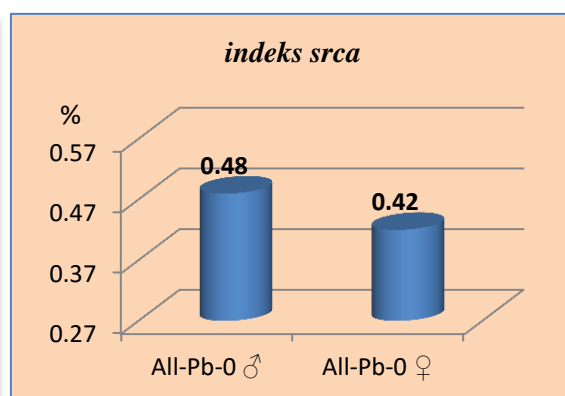
Ostali morfometrijski parametri, indeksi jetre, srca, slezene, bubrega i testisa (grafikoni 128-134) su bili ujednačeni kod jedinki žrtvovanih u različito postaplikativno vrijeme i nisu pokazali statistički značajna odstupanja ( $p>0.050$ ).

### 4.1.7.2. Morfometrijske karakteristike i pol

Nezavisnim T testom su upoređene i vrijednosti dobijene za pripadnike različitog pola tretirane aloksanom i olovo-acetatom. Signifikantna razlika se uočava samo za organosomatski indeks srca (grafikon 136), pri čemu su znatno niže vrijednosti ovog parametra uočene kod ženki u odnosu na mužjake ( $p=0.032$ ).

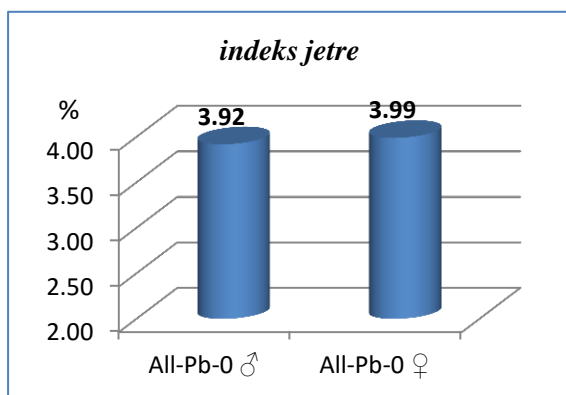


**Grafikon br. 135** Komparacija vrijednosti prirasta mase između mužjaka i ženki

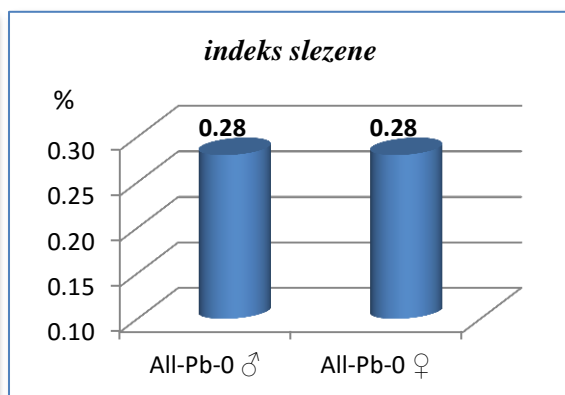


**Grafikon br. 136** Komparacija vrijednosti indeksa srca između mužjaka i ženki

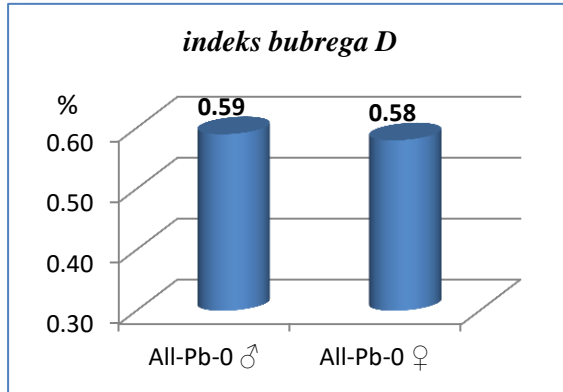
Indeksi jetre, slezene, bubrega (grafikoni 137-140), kao ni prirast tjelesne mase (grafikon 135) ne pokazuju značajna odstupanja poređenjem dobijenih vrijednosti između jedinki muškog i ženskog pola ( $p>0.050$ ).



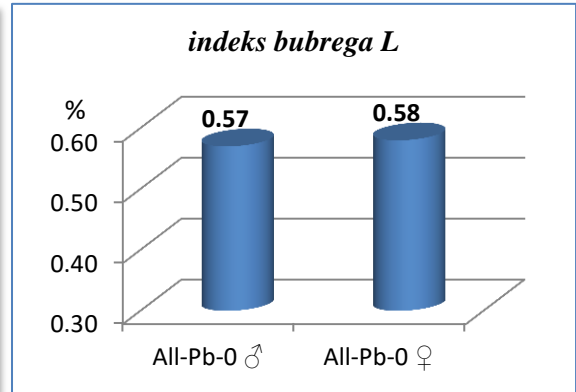
**Grafikon br. 137** Komparacija vrijednosti indeksa jetre između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 138** Komparacija vrijednosti indeksa slezene između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 139** Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 140** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između između mužjaka i ženki



### 4.1.8. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-E)

Zadnja grupa od 20 zdravih jedinki je izdvojena u cilju praćenja sinergističkog efekta oba toksikanta, olovo-acetata i aloksana, zajedno sa bakterijskom infekcijom. Uporedo sa postizanjem stabilne hiperglikemije vršila se intoksikacija olovo-acetatom eksperimentalnih jedinki. Četrnaest dana kasnije izazvana je infekcija kod svih jedinki i.p. ubrizgavanjem 0,2 ml rastvora bakterijske suspenzije (CFU  $3 \times 10^7$ /ml) *Escherichia coli*. Deset jedinki oba pola (All-Pb-E 24) je žrtvovano 24 časa po administraciji bakterijske suspenzije, a preostalih deset jedinki (All-Pb-E 72) 48 časova kasnije. Dobijene vrijednosti praćenih morfometrijskih karaktera su predstavljene u tabelama 18 i 19.

**Tabela br. 18 Masa, prirast mase i dužina tijela jedinki tretiranih olovo-acetatom, aloksanom i inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**

		tijelo m <sub>1</sub> (g)	tijelo m <sub>2</sub> (g)	prirast mase	tijelo d (mm)
All-Pb-E-24♂	1	148.59	132.94	-10.53	160
	2	149.95	134.04	-10.61	170
	3	153.85	122.59	-20.32	171
	4	143.01	119.73	-16.28	173
	5	153.31	135.44	-11.66	175
All-Pb-E-24♀	1	146.19	131.54	-10.02	180
	2	179.01	144.73	-19.15	179
	3	157.33	130.28	-17.19	187
	4	153.58	134.57	-12.38	180
	5	159.03	135.28	-14.93	181.50
All-Pb-E-72♂	1	153.02	130.93	-14.44	183
	2	161.27	132.51	-17.83	177
	3	185.73	155.24	-16.42	193
	4	175.15	130.36	-25.57	183
	5	168.79	137.26	-18.68	184.00
All-Pb-E-72♀	1	152.31	133.89	-12.09	-12.09
	2	166.28	134.02	-19.40	-19.40
	3	149.15	130.16	-12.73	-12.73
	4	164.58	135.24	-17.83	-17.83
	5	172.17	149.74	-13.03	-13.03
All-Pb-E	AVG	<b>159.62</b>	<b>134.52</b>	<b>-15.55</b>	<b>130.07</b>
	MIN	<b>143.01</b>	<b>119.73</b>	<b>-25.57</b>	<b>-19.40</b>
	MAX	<b>185.73</b>	<b>155.24</b>	<b>-10.02</b>	<b>193.00</b>
	STDEV	<b>11.71</b>	<b>8.01</b>	<b>4.03</b>	<b>86.23</b>
	COV	<b>7.34</b>	<b>5.96</b>	<b>-25.90</b>	<b>66.29</b>

Prosječna **masa** jedinki na početku eksperimenta je iznosila 159.66 g (od 143.01 do 185.73 g), da bi u momentu žrtvovanja iznosila 134.52 g (od 119.73 do 155.24 g). Sve jedinke podvrgnute trojnom tretmanu su zabilježile veliki gubitak mase, tako da se po okončanju tretmana **prirast mase** kretao od - 25.57% do - 10.02%. Prosječan gubitak mase je iznosio - 15.55%, znatno više nego kod ostalih eksperimentalnih grupa (grafikon141).

**Tabela br. 19 Organosomatski indeksi jedinki tretiranih olovo-acetatom, aloksanom i inficiranih ešerihijom (*Escherichia coli*)**

		indeks bubrega D	indeks bubrega L	indeks testisa D	indeks testisa L	indeks jetre	indeks slezene	indeks srca
All-Pb-E-24 ♂	1	0.59	0.56	0.67	0.66	4.20	0.23	0.44
	2	0.63	0.59	0.63	0.72	3.96	0.25	0.37
	3	0.61	0.62	0.79	0.78	4.06	0.21	0.33
	4	0.65	0.63	0.78	0.84	4.00	0.24	0.40
	5	0.65	0.63	0.77	0.79	3.63	0.21	0.47
All-Pb-E-24 ♀	1	0.65	0.65			4.08	0.28	0.40
	2	0.67	0.65			4.07	0.30	0.37
	3	0.53	0.51			4.28	0.35	0.43
	4	0.58	0.57			4.13	0.34	0.48
	5	0.61	0.60			4.14	0.32	0.42
All-Pb-E-72 ♂	1	0.57	0.57	0.81	0.89	4.10	0.32	0.39
	2	0.71	0.69	0.85	0.87	4.35	0.23	0.37
	3	0.57	0.57	0.86	0.86	4.37	0.30	0.41
	4	0.72	0.73	1.02	1.04	4.63	0.31	0.55
	5	0.64	0.64	0.89	0.91	4.36	0.29	0.43
All-Pb-E-72 ♀	1	0.67	0.69			4.29	0.30	0.37
	2	0.66	0.63			4.64	0.29	0.43
	3	0.68	0.67			4.31	0.32	0.42
	4	0.70	0.71			4.36	0.30	0.36
	5	0.68	0.67			4.24	0.29	0.39
All-Pb-E	AVG	<b>0.64</b>	<b>0.63</b>	<b>0.81</b>	<b>0.84</b>	<b>4.21</b>	<b>0.29</b>	<b>0.41</b>
	MIN	<b>0.53</b>	<b>0.51</b>	<b>0.63</b>	<b>0.66</b>	<b>3.63</b>	<b>0.21</b>	<b>0.33</b>
	MAX	<b>0.72</b>	<b>0.73</b>	<b>1.02</b>	<b>1.04</b>	<b>4.64</b>	<b>0.35</b>	<b>0.55</b>
	STDEV	<b>0.05</b>	<b>0.06</b>	<b>0.11</b>	<b>0.11</b>	<b>0.23</b>	<b>0.04</b>	<b>0.05</b>
	COV	<b>8.00</b>	<b>9.11</b>	<b>13.60</b>	<b>12.67</b>	<b>5.44</b>	<b>14.17</b>	<b>12.11</b>

Organosomatski indeksi unutrašnjih organa su zabilježili povećanje u odnosu na jedinke kontrolne grupe, kao i jedinke podvrgnute drugačijem tretmanu.

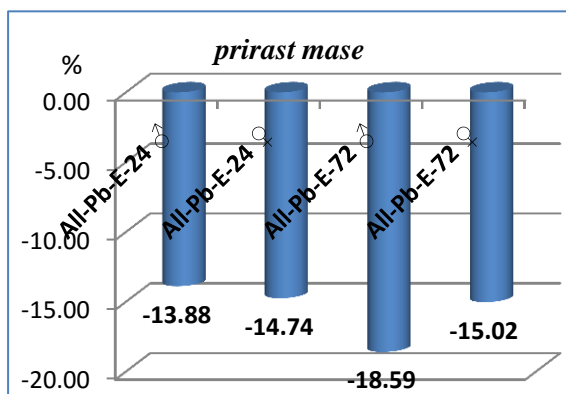
**Indeks** desnog **bubrega** je dostigao vrijednosti od 0.53 do 0.72%, a lijevog bubrega 0.51 do 0.73% tjelesne mase (tabela 19), sa prosječnim vrijednostima za desni 0.64% i lijevi bubreg 0.63%.

Dobijene vrijednosti organosomatskih **indeksa testisa** su imale raspon od 0.63 do 1.02% (prosječno 0.81%) za desni i 0.66 do 1.04% (prosječno 0.84%) za lijevi testis.

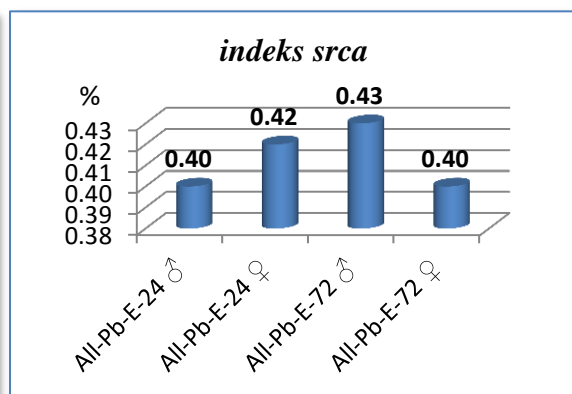
Prosječne vrijednosti **indeksa jetre** (4.21%), **slezene** (0.29%) i **srca** (0.41) su pokazale tendenciju povećanja pod uticajem trojnog tretmana, posebno usljed značajnog gubitka tjelesne mase.

Prosječne vrijednosti praćenih parametara za svaku grupu podvrgnutih trojnom tretmanu (aloksan, olovo-acetat i infekcija ešerihijom) su prikazane grafički (grafikoni 141-146).

Najveći gubitak mase, tj. najniža vrijednost prirasta mase je uočena kod mužjaka žrtvovanih 72 sata od inokulacije bakterijske suspenzije (- 18.59%), dok je najmanji gubitak mase, odnosno najveća vrijednost prirasta mase konstatovana kod mužjaka žrtvovanih 24 sata od iniciranja infekcije (- 13.88%) (grafikon 141).



**Grafikon br. 141** Prirast mase jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom i inficiranih ešerihijom



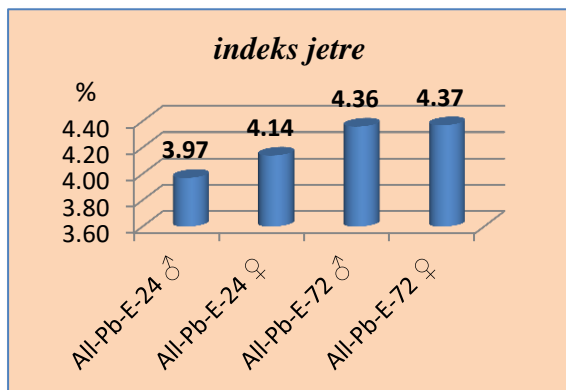
**Grafikon br. 142** Organosomatski indeks srca jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom i inficiranih ešerihijom

Komparacijom dobijenih vrijednosti univarijantnom analizom varijanse ne uočava se statistički značajna razlika između grupa tretiranih jedinki za parametre prirasta mase i organosomatski indeks srca ( $p > 0.050$ ), dok se kod ostalih morfometrijskih parametara, indeksa jetre, slezene, desnog i lijevog bubrega, uočavaju signifikantne razlike ( $p < 0.050$ ).

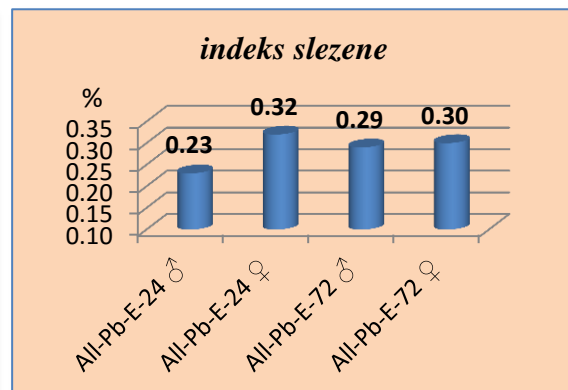
Najniža prosječna vrijednost indeksa srca je zabilježena za grupe All-Pb-E-24 ♂ i All-Pb-E 72 ♀ (0.40%), dok je kod All-Pb-E 24 ♀ iznosila 0.42%, a kod All-Pb-E 72 ♂ 0.43% ukupne tjelesne mase.

Organosomatski indeks jetre (grafikon 143) je dostigao signifikantno niže vrijednosti kod mužjaka grupe All-Pb-E 24, u odnosu na mužjake i ženke grupe All-Pb-E 72 ( $p = 0.021$ ). Niske vrijednosti su zabilježene i kod ženki žrtvovanih 24 sata od

aplikacije bakterijske suspenzije (All-Pb-E 24 ♀, 4.14%), što je značajno niže u odnosu na ženke žrtvovane 48 časova kasnije ( $p=0.050$ ).

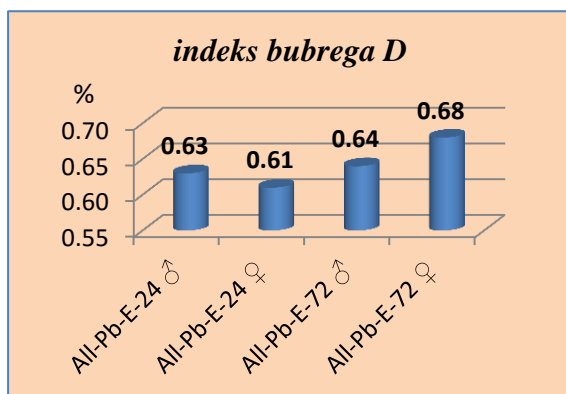


**Grafikon br. 143 Organosomatski indeks jetre jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom i inficiranih ešerihijom**

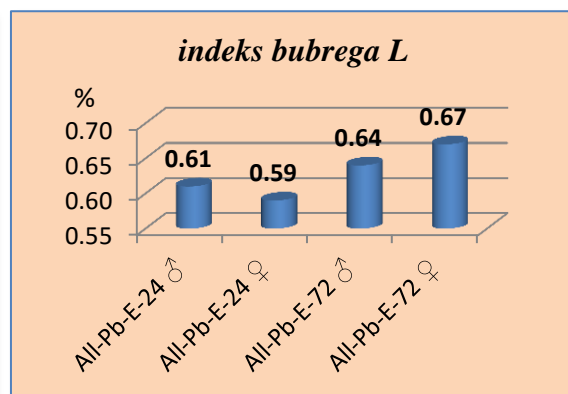


**Grafikon br. 144 Organosomatski indeks slezene jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom i inficiranih ešerihijom**

Najniže vrijednosti indeksa slezene (grafikon 144) su uočene kod jedinki grupe All-Pb-E 24 ♂ i iznosile su 0.23% ukupne tjelesne mase. Komparacijom ove vrijednosti sa podacima dobijenim za ostale eksperimentalne grupe uočava se statistički signifikantna razlika i to: u odnosu na ženke grupa All-Pb-E 24 i All-Pb-E 72 ( $p=0.000$ ), kao i mužjake grupe All-Pb-E 72 ( $p=0.001$ ).



**Grafikon br. 145 Organosomatski indeks desnog bubrega jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom i inficiranih ešerihijom**



**Grafikon br. 146 Organosomatski indeks lijevog bubrega jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom i inficiranih ešerihijom**

Za organosomatski indeks bubrega (grafikoni 145 i 146) statistički značajna razlika se uočava između ženki grupe All-Pb-E 24 u odnosu na ženke All-Pb-E 72 ( $p=0.032$  za desni bubreg i  $p=0.027$  za lijevi bubreg), pri čemu su niže vrijednosti konstatovane kod jedinki žrtvovanih 24 sata od početka infekcije.

Pacijenti sa šećernom bolešću su skloniji infekcijama od nedijabetičara (Larkin *et al.*, 1985), kod njih se učestalije javljaju neuobičajene infekcije kao što su

rinocerebralna i plućna mukormikoza, emfizemni holecistitis i pielonefritis, nekrotizirajući celulitis ili fascitis i maligni eksterni otitis (Seidel *et al.*, 2003).

Mogućnost infekcija, posebno urinarnog trakta, predstavlja ozbiljan klinički problem kod pacijenata sa *diabetes mellitus*-om (Saber *et al.*, 2010). Emfizemni cistitis, pielonefritis, renalni i perinefrički apsces, bakteremija i renalna papilarna nekroza su znatno češće zastupljene kod dijabetičara. Kod pacijenata sa dijabetesom značajan morbiditet i mortalitet su uzrokovani infekcijama. Prevalenca asimptomatične bakteriurije kod žena sa dijabetesom je češća 2-3 puta nego kod nedijabetičara. Najčešće izolovan organizam kod pacijenata sa asimptomatičnom bakteriurijom je *Escherichia coli* (Dalal *et al.*, 2009; Sharma *et al.*, 2011).

Brush (2011) je naveo da se emfizemni pielonefritis javlja u 70-90% slučajeva kod dijabetičara i da je u 60% slučajeva posljedica infekcije *Escherichia coli*. Takođe, oko polovina pacijenata sa dijagnostifikovanim emfizemnim pielitisom je imala razvijen *diabetes mellitus*, a izolovana bakterija, uzročnik komplikacija, je u većini slučajeva bila *Escherichia coli*. Što se tiče emfizemnog cistitisa i on se javlja kao komplikacija infekcije urinarnog trakta u znatno većem broju kod dijabetičara. Navodi se da da je 80% potvrđenih oboljenja ovog tipa utvrđeno kod dijabetičara.

Potvrđeno je da umjerena i jaka glukozurija povećavaju bakterijski rast, što objašnjava povećanu osjetljivost dijabetičara na infekcije urinarnog trakta, pri čemu se ne uočava razlika u rastu uropatogenih i ne-uropatogenih sojeva *Escherichia coli* (Geerlings *et al.*, 1999).

Dijabetes uzrokuje nekoliko abnormalnosti u odbrambenom sistemu domaćina koji mogu rezultovati povećanim rizikom od pojedinih infekcija, uključujući infekcije urinarnog trakta (UTI). Wright i saradnici (2000) su utvrdili da je dijabetes nezavisan faktor rizika za infekcije organizmima rezistentnim na veći broj lijekova. Saber i saradnici (2010) su konstatovali da *Escherichia coli* izolovana kod dijabetičara sa razvijenom UTI, pokazuje znatno veću rezistentnost na veliki broj antibiotika, što dodatno komplikuje liječenje ozbiljnijih oboljenja kod pacijenata sa šećernom bolesti.

Studije koje uključuju različite dijabetične modele životinja podržavaju ideju da su domaćini sa dijabetesom osjetljiviji na bakteremiju ili sepsu. Liječenje inzulinom i odgovarajuća kontrola glikemije mogu povećati otpornost na sepsu kod dijabetičnih osoba i životinja. Dijabetes i hiperglikemija mogu narušiti i urođeni i stečeni imunitet i time smanjiti otpornost organizma na patogene infekcije i prateće bolesti. Tretman

inzulinom i pravilna kontrola glikemije mogu smanjiti brojnost bakterija u lezijama čime se direktno utiče na tok bolesti (Yeh *et al.*, 2014).

Hiperglikemija povećava oksidativni stres koji dovodi do razvoja komplikacija kod dijabetičara. Utvrđena je povezanost glikemijskog statusa sa oksidativnim stresom, čak i kod dobro kontrolisanog dijabetesa tipa 2. Poznato je da olovo indukuje širok spektar fizioloških i biohemijskih poremećaja, kao i poremećaje nervnog, hemopoetskog, kardiovaskularnog sistema, bubrega, jetre i reproduktivnog sistema kod životinja i kod ljudi (Ayoubi *et al.*, 2015). Toksičnost olova se ispoljava putem generisanja oksidativnog stresa, jonskog mehanizma i apoptoze, od kojih je oksidativni stres izraženiji i znatno ozbiljniji. Intoksikacijom organizma olovom nastaje oksidativni stres istovremeno pod uticajem dva različita mehanizma, s jedne strane dolazi do generacije ROS, kao što su hidroperoksilni radikali ( $\text{HO}_2\cdot$ ), singlet kiseonik ( $^1\text{O}_2$ ) i vodonik peroksid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) i do gubitka antioksidativnih rezervi s druge strane. Nastanak ROS rezultuje kritičnom oštećivanjem različitih biomolekula kao što su DNK, enzimi, proteini i lipidi membrana, dok istovremeno olovo napada antioksidativni odbrambeni sistem (Flora *et al.*, 2012).

Izloženost organizma olovu se najbolje ogleda u koncentraciji olova u krvi, ukoliko se izloženost desila u skorije vrijeme ili u koncentraciji olova u kostima, gdje se akumulira oko 95% olova unesenog u organizam. Olovo u kostima predstavlja izvor endogene intoksikacije pojedinaca usljed starenja ili pri pojedinim oboljenjima, kada dolazi do imobilizacije olova iz koštanog tkiva i njegovog prelaska u cirkulaciju putem koje dobija pristup mekim tkivima. U oba slučaja, pri egzogenoj ili endogenoj intoksikaciji, najčešće dolazi do različitih oštećenja bubrega. Veoma značajan faktor koji doprinosi olovnoj nefrotoksičnosti je dijabetes. Sa starošću jedinki povećava se prevalenca dijabetesa tipa 2, koji se javlja u oko 10% ljudske populacije (sa većim udjelom kod osoba starijih od 55 godina), koji je sam po sebi nezavisni predskazivač ubrzanog pada renalne funkcije. Istraživanja su pokazala da olovo u krvi i akumulirano olovo u kostima dovode do značajnog povećanja kreatinina u serumu kod sredovječnih i starijih ljudi sa dijabetesom ili hipertenzijom. Ovakva interakcija može nastati združenim efektom patoloških promjena glomerula izazvanih dijabetesom i tubularnom atrofijom i intersticijalnim nefritisom/fibrozom uzrokovanih olovom (Tsaih *et al.*, 2004).

Prema Huang i saradnicima (2013) izloženost olovu iz spoljašnje sredine može progresivno da ubrza nefropatiju kod pacijenata sa razvijenim dijabetesom tipa 2, bez

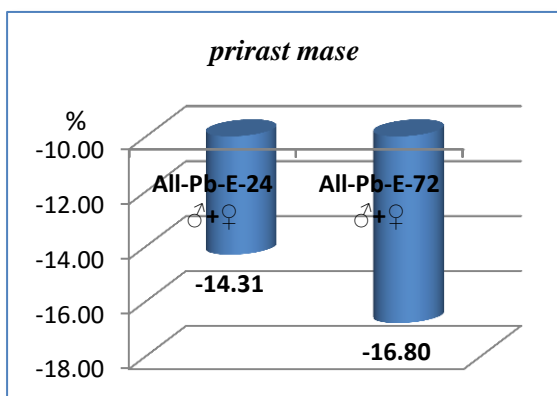
obzira na glikemijsku kontrolu i primjenjenu terapiju. Smatra se da dijabetičari trebaju izbjegavati svaki kontakt s ovim toksikantom i ukoliko u svom organizmu imaju koncentraciju olova veću od 80  $\mu\text{g}$  neophodno je primijeniti helatnu terapiju.

Pri izloženosti dijabetičnih Wistar pacova niskim dozama olovo-acetata uočene su značajne toksične promjene u građi i funkciji testisa, nastale kao rezultat oksidativnog stresa, koji ima veliku ulogu u patogenezi dijabetesa (Apaydin, *et al.*, 2015).

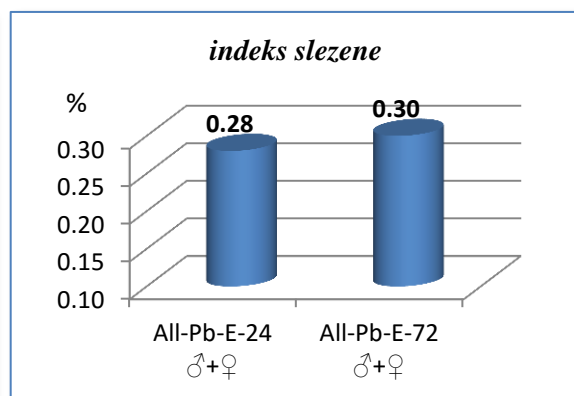
### 4.1.8.1 Morfometrijske karakteristike i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

Primjenom nezavisnog T testa ne uočavaju se statistički značajne razlike ( $p > 0.050$ ) između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata od izazivanja infekcije za parametar prirast tjelesne mase, indeks slezene i indeks srce (grafikoni 147-149), dok se za desni bubreg (grafikon 150) srednje vrijednosti praćenih grupa nalaze na granici statističkog značaja ( $p = 0.053$ ), pri čemu je veća vrijednost uočena kod jedinki žrtvovanih kasnije.

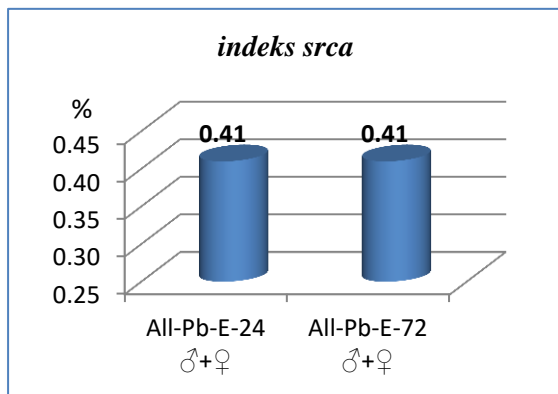
Vrijednosti indeksa lijevog bubrega su značajno veće ( $p = 0.024$ ) kod jedinki oba pola grupe All-Pb-E-72 i iznosile su 0.66% ukupne tjelesne mase, dok je kod jedinki žrtvovanih 24 časa od početka infekcije zabilježena prosječna vrijednost ovog indeksa 0.62% (grafikon 151).



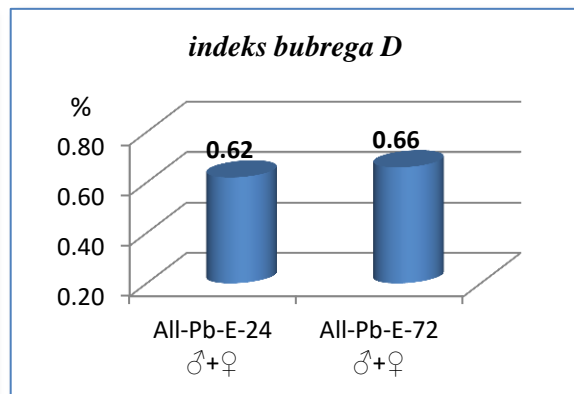
**Grafikon br. 147** Komparacija vrijednosti prirasta mase između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



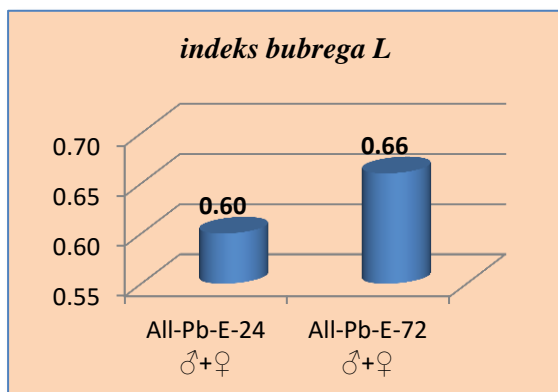
**Grafikon br. 148** Komparacija vrijednosti indeksa slezene između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



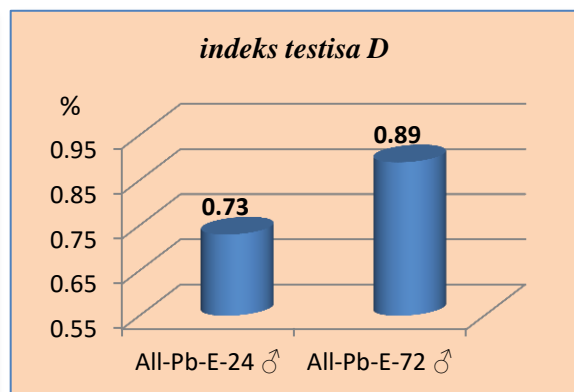
**Grafikon br. 149** Komparacija vrijednosti indeksa srca između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



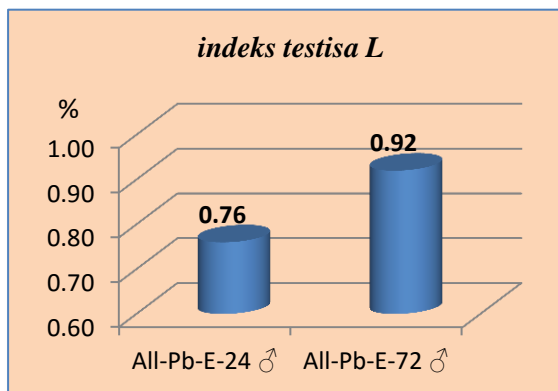
**Grafikon br. 150** Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



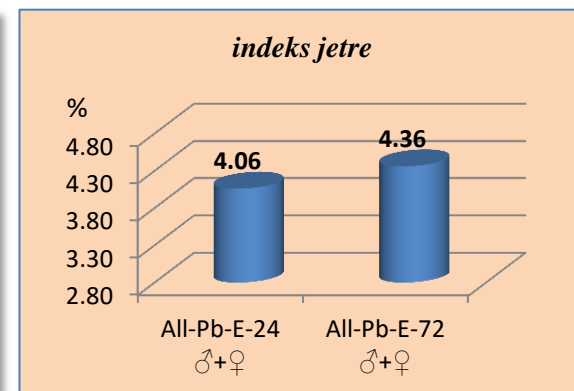
**Grafikon br. 151** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 152** Komparacija vrijednosti indeksa desnog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 153** Komparacija vrijednosti indeksa mase lijevog testisa između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 154** Komparacija vrijednosti indeksa jetre između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

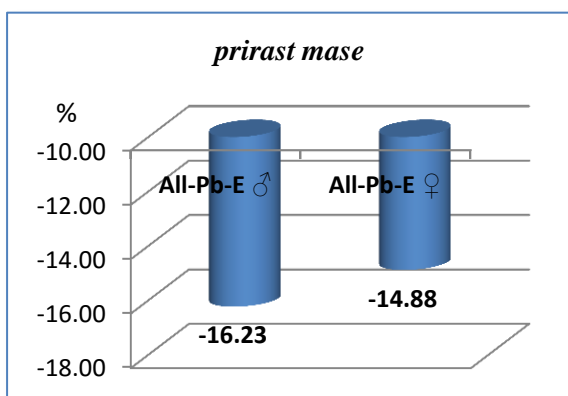
Veće vrijednosti organosomatskog indeksa jetre (4.36%) su takođe zapažene kod jedinki žrtvovanih 72 sata od inokulacije bakterijske suspenzije u odnosu na jedinke



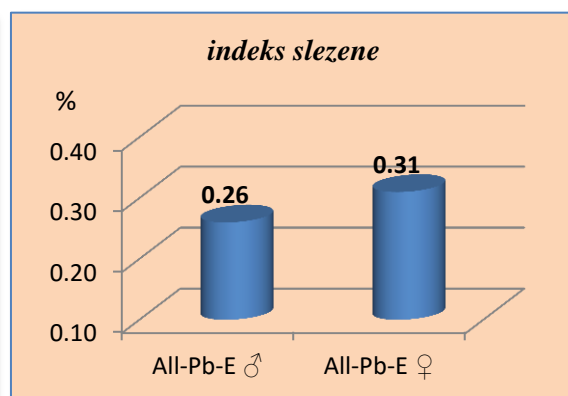
žrtvovane 48 časova ranije (4.06%), pri čemu je statistički značaj iznosio  $p=0.001$  (grafikon 154).

Kod mužjaka grupe All-Pb-E-72 prosječne vrijednosti indeksa testisa su iznosile 0.92% za lijevi i 0.89% za desni testis čime se signifikantno razlikuju ( $p=0.010$  L i  $p=0.011$  D) od mužjaka grupe All-Pb-E-72, čije su vrijednosti iznosile 0.76% za lijevi i 0.73% za desni testis (grafikoni 152 i 153).

### 4.1.8.2. Morfometrijske karakteristike i pol

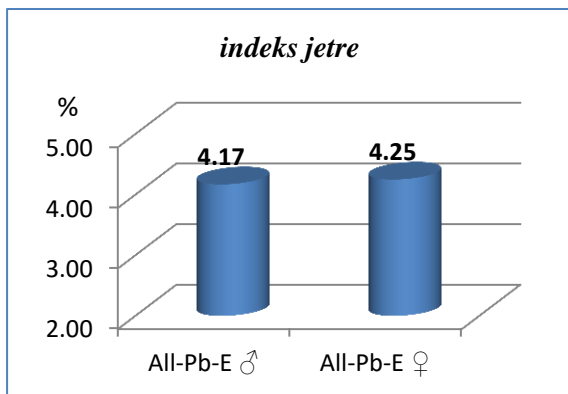


**Grafikon br.155** Komparacija vrijednosti prirasta mase između mužjaka i ženki

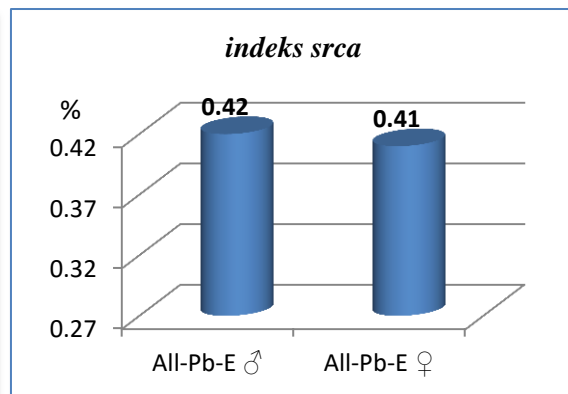


**Grafikon br. 156** Komparacija vrijednosti indeksa slezene između mužjaka i ženki

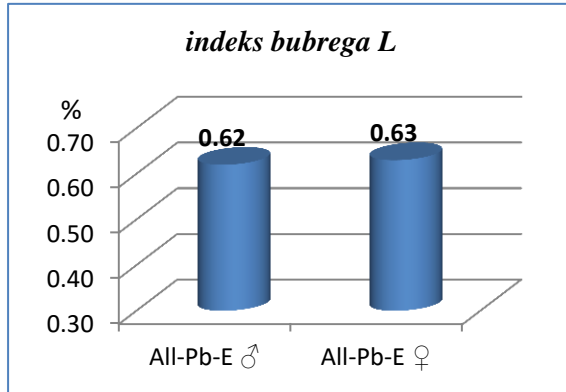
Komparacijom jedinki različitog pola uočavaju se statistički značajne razlike samo za organosomatski indeks slezene ( $p=0.007$ ). Kod ženskih jedinki konstatovane su znatno veće vrijednosti ovog parametra (0.31%) u odnosu na mužjake (0.26%). Posmatranjem ostalih morfometrijskih parametara ne zapažaju se značajne razlike između jedinki različitog pola ( $p>0.050$ ).



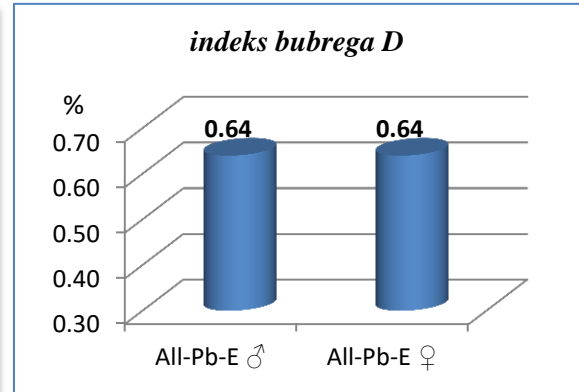
**Grafikon br. 157** Komparacija vrijednosti indeksa jetre između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 158** Komparacija vrijednosti indeksa srca između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 159** Komparacija vrijednosti indeksa lijevog bubrega između mušjaka i ženki



**Grafikon br. 160** Komparacija vrijednosti indeksa desnog bubrega između mušjaka i ženki

### 4.1.9. Komparacija morfometrijskih vrijednosti tretiranih i kontrolnih jedinki

Dobijene vrijednosti praćenih morfometrijskih parametara jedinki podvrgnutih različitom tretmanu su upoređene sa onim dobijenim za jedinke kontrolnih grupa, K-0 i K-E, kao i poređenjem sinergističkog efekta višestrukih tretmana u odnosu na dvojne i pojedinačne intoksikacije. Vrijednosti statističke signifikantnosti su izložene u tabeli 20.

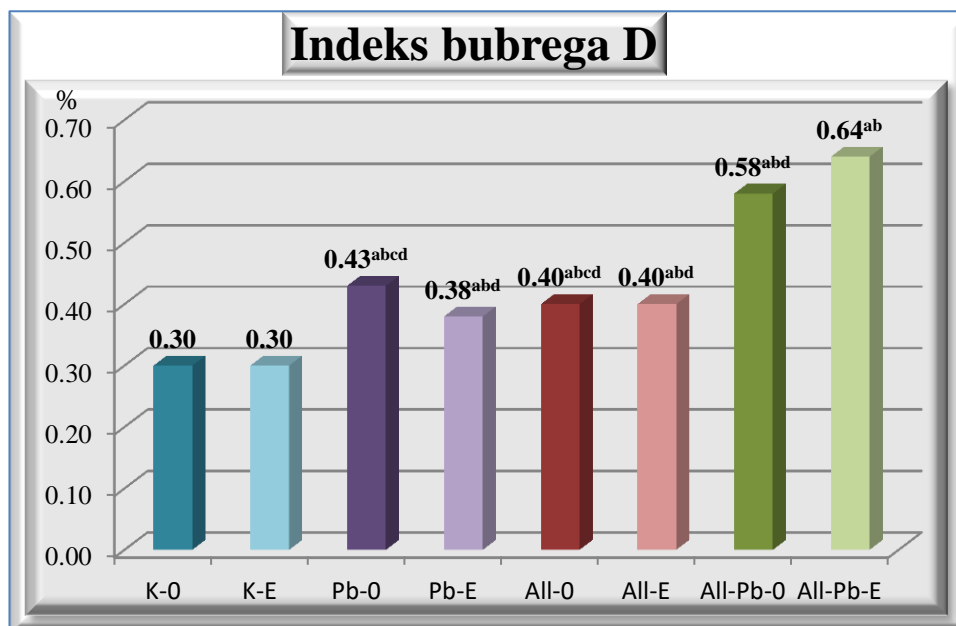
**Tabela br. 20 Vrijednosti statističkog značaja u komparaciji rezultata morfometrijskih parametara**

tretman	MORFOMETRIJSKI PARAMETRI <sup>5</sup>							Prirast tjelesne mase u %	pozitivna i negativna kontrola
	organosomatski indeksi								
	bubreg desni	bubreg lijevi	testis desni	testis lijevi	jetra	slezena	srce		
<i>Tretiranih u odnosu na kontrolne jedinke</i>									
K-E	0.823	0.677	0.836	0.000	0.162	0.001	0.000	0.099	K-0
Pb-0	0.000	0.000	0.962	0.000	0.001	0.157	0.000	0.000	K-0
	0.000	0.000	0.874	0.806	0.035	0.041	0.716	0.000	K-E
Pb-E	0.000	0.000	0.042	0.013	0.001	0.000	0.000	0.000	K-0
	0.000	0.000	0.066	0.118	0.040	0.456	0.403	0.000	K-E
All-0	0.000	0.000	0.073	0.005	0.000	0.001	0.000	0.000	K-0
	0.000	0.000	0.112	0.211	0.018	1.000	0.001	0.000	K-E
All-E	0.000	0.000	0.102	0.009	0.120	0.112	0.000	0.000	K-0
	0.000	0.000	0.151	0.156	0.874	0.061	0.000	0.000	K-E
All-Pb-0	0.000	0.000	0.657	0.000	0.000	0.915	0.000	0.000	K-0
	0.000	0.000	0.515	0.250	0.000	0.000	0.000	0.000	K-E
All-Pb-E	0.000	0.000	0.060	0.013	0.000	0.831	0.000	0.000	K-0
	0.000	0.000	0.092	0.115	0.000	0.000	0.000	0.000	K-E
<i>Sinergistički efekat višestrukih tretmana u odnosu na dvojne i pojedinačne intoksikacije</i>									
All-Pb-0	0.000	0.000	0.623	0.164	0.000	0.128	0.000	0.000	Pb-0
	0.000	0.000	0.027	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000	All-0
All-Pb-E	0.000	0.000	0.066	0.182	0.000	0.104	0.000	0.000	Pb-0
	0.000	0.000	0.874	0.988	0.000	0.000	0.000	0.000	Pb-E
	0.000	0.000	0.924	0.740	0.000	0.000	0.060	0.000	All-0
	0.000	0.000	0.799	0.874	0.000	0.072	0.276	0.000	All-E
	0.003	0.003	0.021	0.007	0.042	0.915	0.005	0.369	All-Pb-0

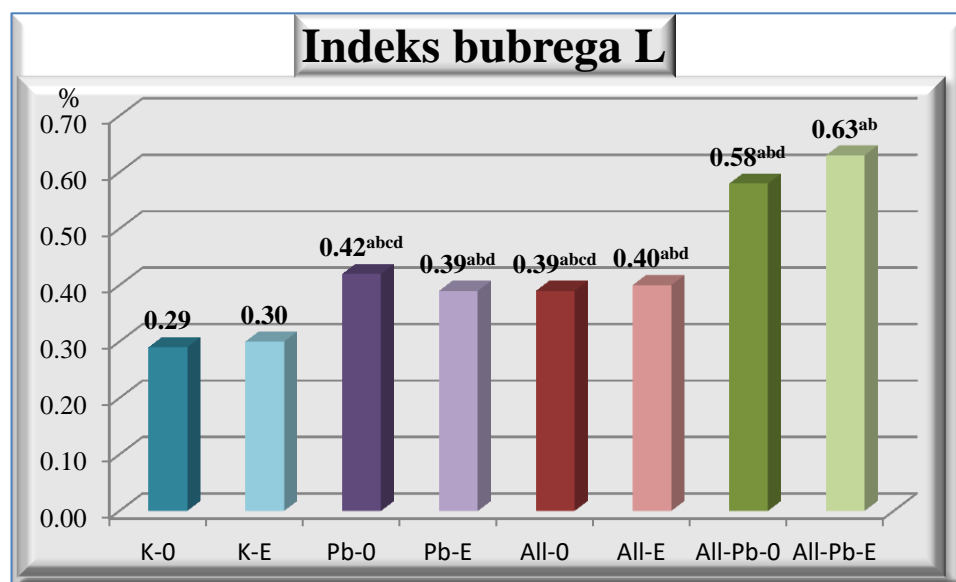
Kao što je i očekivano, došlo je do značajnih promjena u većini posmatranih parametara usljed dejstva različitih tretmana, posebno pri sinergističkom dejstvu oba toksikanta udruženom sa dejstvom infekcije, u odnosu na jedinke kontrolnih grupa. Najmanje statistički značajnih odstupanja se uočava za vrijednosti organosomatskog

<sup>5</sup> Statistički značajne razike su označene roza bojom, dok plava polja označavaju vrijednosti iznad statističke signifikantnosti.

indeksa desnog testisa, zatim lijevog testisa i udjela slezene u ukupnoj tjelesnoj masi intoksikovanih jedinki.



Grafikon br. 161 Srednje vrijednosti indeksa desnog bubrega kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\*



Grafikon br. 162 Srednje vrijednosti indeksa lijevog bubrega kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\*

Udio bubrega, desnog i lijevog, u ukupnoj tjelesnoj masi tretiranih jedinki se značajno povećao, u odnosu na jedinke kontrolnih grupa, što pod uticajem intoksikacije

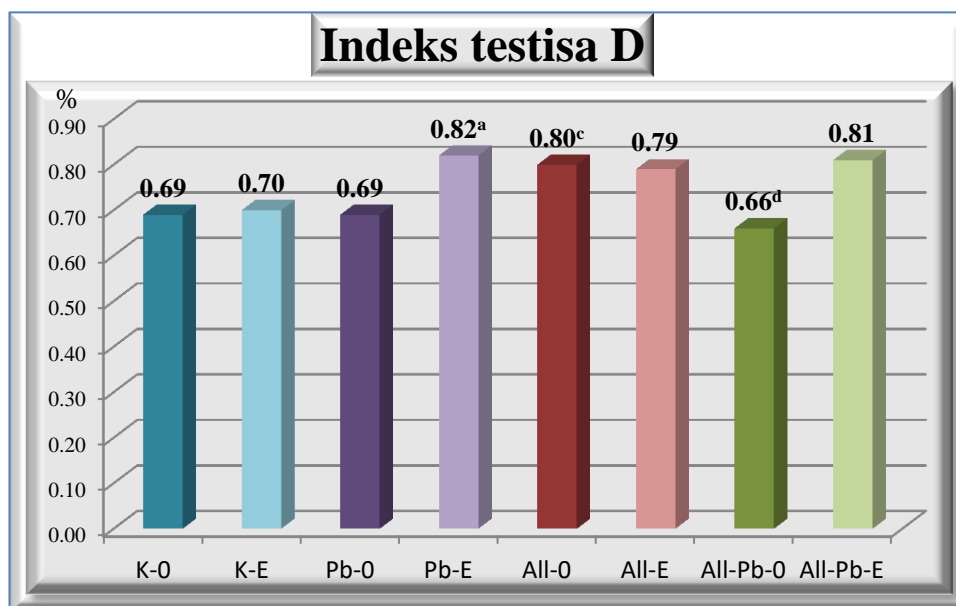
\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-O, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E

olovo-acetatom, usljed nagomilavanja ovog metala u njima, što pod uticajem gubitka tjelesne mase usljed toksičnosti aloksana (grafikoni 161 i 162).

Najveću vrijednost ovih organosomatskih indeksa su ostvarile jedinke grupa All-Pb-E i All-Pb-0 podvrgnute aloksanskom dijabetesu i intoksikaciji olovo-acetatom, a potom inficirane ešerihijom.

Njihova odstupanja su veoma značajna u odnosu na netretirane jedinke, kao i na jedinke podvrgnute dvostrukom, odnosno pojedinačnom tretmanu. Sama bakterijska infekcija kod jedinki kontrolne grupe K-E nije dovela do promjena u udjelu ovih organa u ukupnoj tjelesnoj masi (grafikoni 161 i 162, tabela 20).

Kod organosomatskih **indeksa testisa** ne uočavaju se isti obrasci za desni i lijevi testis. Prosječan udio desnog testisa u ukupnoj tjelesnoj masi je najmanji kod jedinki grupe All-Pb-0, a najveći kod jedinki grupe Pb-E, tako da se statistički značajne promjene uočavaju samo poređenjem jedinki grupe Pb-E sa jedinkama negativne kontrole K-0. Srednja vrijednost udjela lijevog testisa je najveća u masi jedinki negativne kontrole i značajno odstupa od vrijednosti svih ostalih grupa, dok se ne uočavaju bitne razlike tretiranih jedinki u odnosu na inficirane jedinke pozitivne kontrole (K-E).

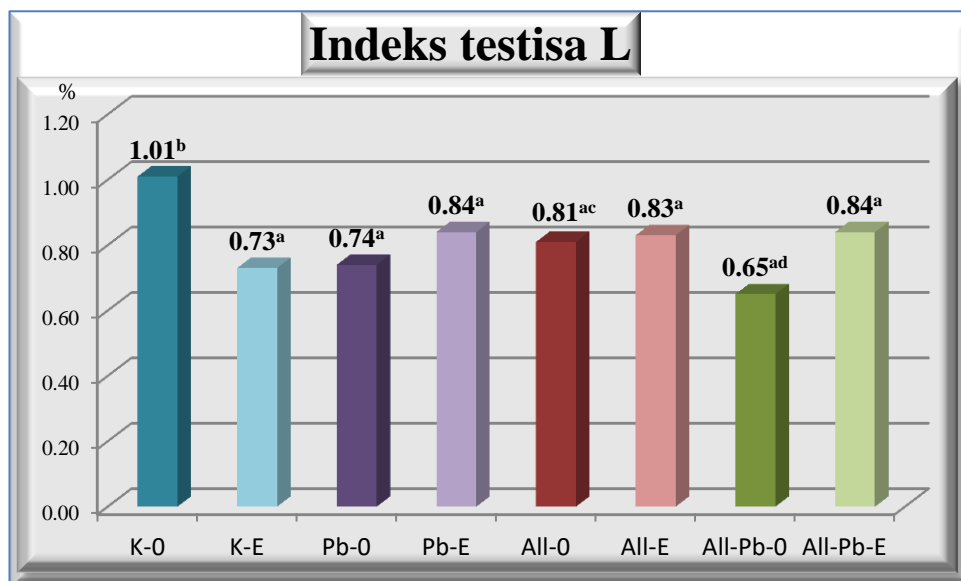


**Grafikon br. 163 Srednje vrijednosti indeksa desnog testisa kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\***

Takođe, poređenjem prosječnih vrijednosti organosomatskih indeksa desnog i lijevog testisa između jedinki podvrgnutih dvojnog i trojnog tretmanu sa onim

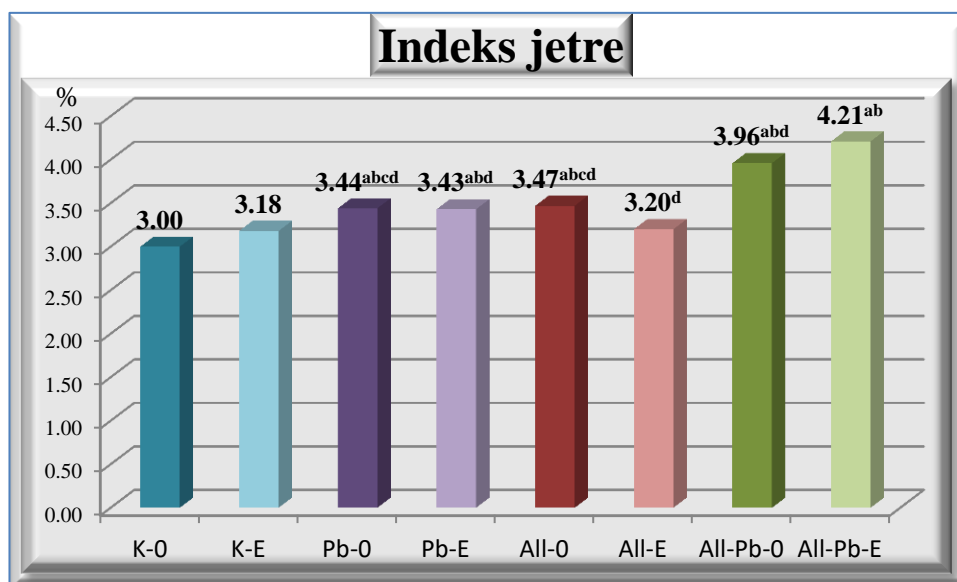
\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-0, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E

izloženim pojedinačnim tretmanima, značajna odstupanja se uočavaju između grupa All-Pb-0 i All-0, kao i All-Pb-E u poređenju sa All-Pb-0 (grafikoni 163 i 164).



Grafikon br. 164 Srednje vrijednosti indeksa lijevog testisa kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\*

Prosječne vrijednosti **indeksa jetre** su kod svih testnih grupa, inficiranih i neinficiranih ešerihijom, uvećane u odnosu na prosjek negativne i pozitivne kontrole (K-0 i K-E), mada u slučaju grupe All-E razlika nije statistički značajna ( $p > 0.050$ ).

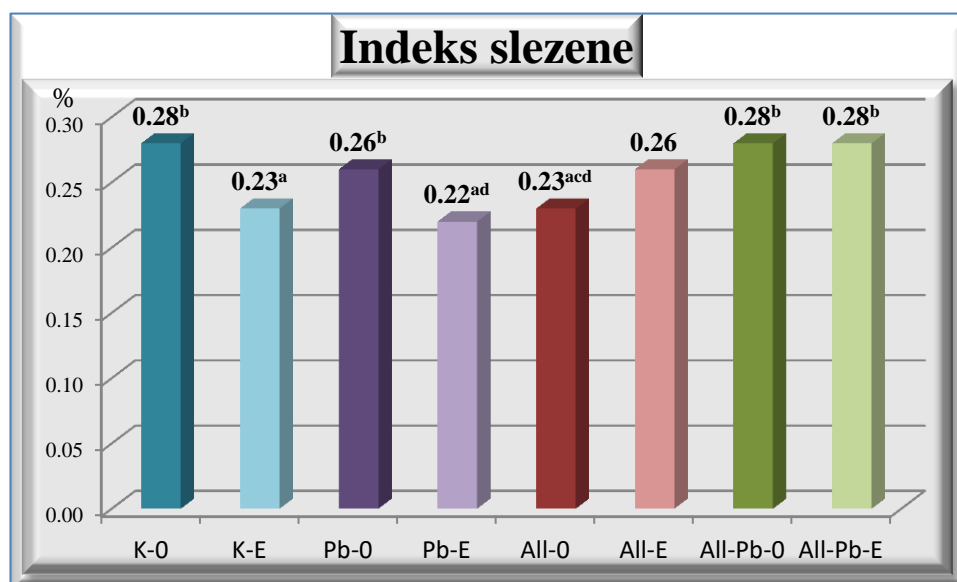


Grafikon br. 165 Srednje vrijednosti indeksa jetre kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\*

\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-0, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E

Infekcija jedinki kontrolne grupe nije dovela do značajnih odstupanja u vrijednostima ovog parametra u odnosu na neinficirane jedinke. Dvojna intoksikacija olovo-acetatom i aloksanom, kao i dodatna infekcija ešerihijom su izazvali veća odstupanja u udjelu mase jetre u ukupnoj tjelesnoj masi. Pojavile su se značajne razlike između jedinki grupe All-Pb-0 u poređenju sa All-0 i Pb-0, kao i analizom vrijednosti dobijenih za jedinke grupe All-Pb-E u odnosu na All-0, Pb-0, All-E, Pb-E i All-Pb-0 (grafikon 165 , tabela 20).

Jedinke negativne kontrolne grupe (K-0) su zabilježile iznenađujuće visoke vrijednosti **indeksa slezene**, jednake onim kod jedinki grupa All-Pb-0 i All-Pb-E, a približne onim kod jedinki grupe Pb-0, tako da se statistički signifikantne razlike javljaju između njih i pozitivne kontrole (K-E). S druge strane, jedinke grupa Pb-E i All-O, kao i sama pozitivna kontrolna, su zabilježile niže vrijednosti ovog parametra, koje značajno odstupaju od onih konstatovanih za jedinke negativne kontrole (grafikon 166).



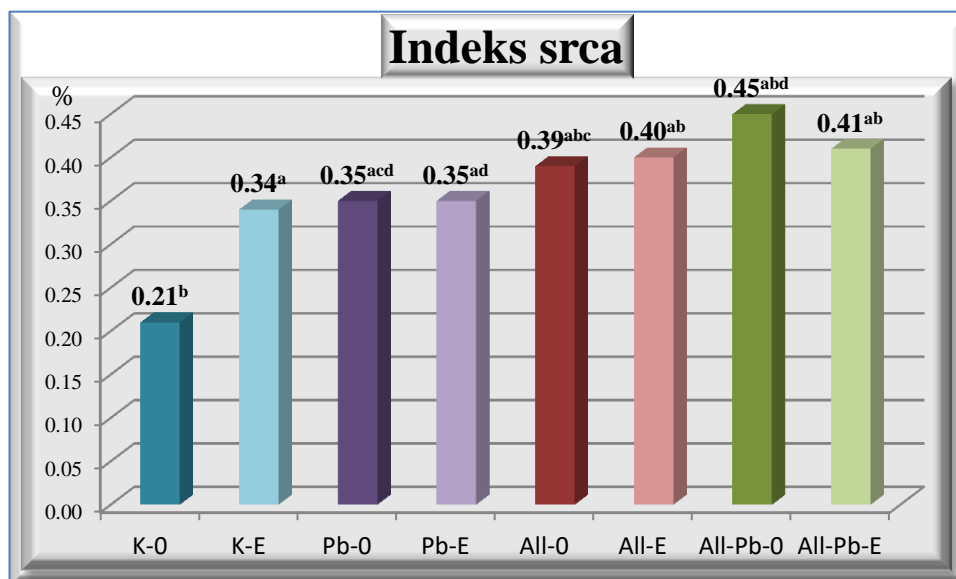
**Grafikon br. 166 Srednje vrijednosti indeksa slezene kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\***

Srednje vrijednosti indeksa slezene jedinki grupe All-Pb-0 su značajno povećane u odnosu na jedinke grupe All-0, kao i kod jedinki grupe All-Pb-E u odnosu na jedinke grupa Pb-E i All-0.

Značajno najniže vrijednosti **indeksa srca** su zapažene kod neinficiranih jedinki kontrolne grupe u odnosu na pozitivnu kontrolu i različite grupe tretiranih jedinki (grafikon 167). Ovaj parametar je ostvario najveće vrijednosti kod jedinki pojenih

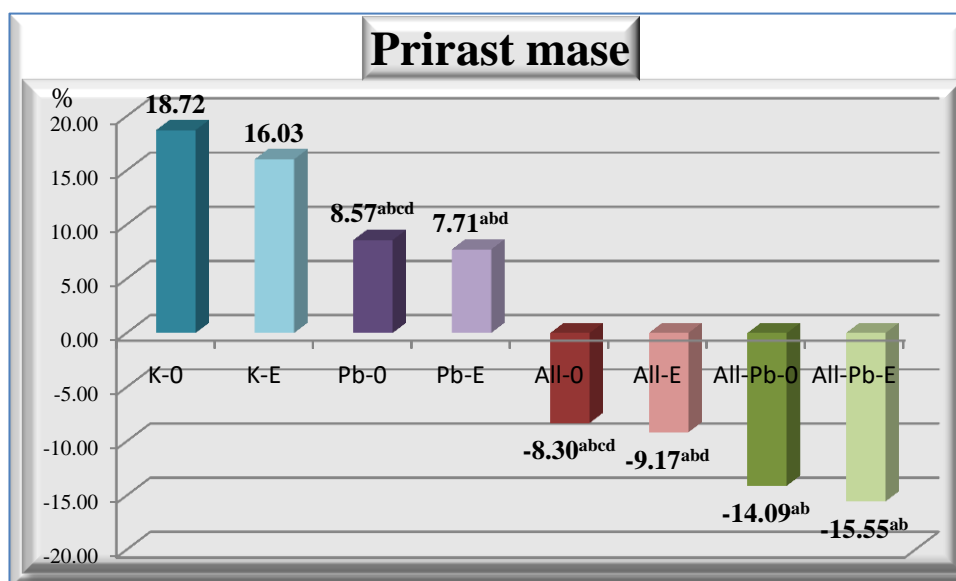
\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-0, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E

olovo-acetatom i tretiranih aloksanom (All-Pb-0), posebno u odnosu na jedinke pozitivne i negativne kontrole, kao i jedinke grupa All-0, Pb-0 i All-Pb-E. Nešto niže vrijednosti su uočene kod jedinki grupe All-Pb-E (u odnosu na All-Pb-0) i dalje značajno više od onih uočenih kod grupa Pb-0 i Pb-E.



**Grafikon br. 167 Srednje vrijednosti indeksa srca kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\***

Jedinke kontrolnih grupa, kao i jedinke intoksikovane samo olovo-acetatom, sa infekcijom i bez, su ostvarile pozitivan **prirast mase** (grafikon 168), signifikantno slabiji kod tretiranih jedinki u odnosu na netretirane.



**Grafikon br. 168 Srednje vrijednosti prirasta mase kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu**

\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole; <sup>c</sup> grupe All-Pb-0, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E



Sve jedinke intoksikovane aloksanom u cilju izazivanja stabilne hiperglikemije su pretrpile značajan gubitak tjelesne mase, najveći kod jedinki podvrgnutih sinergističkom dejstvu aloksana, olovo-acetata i bakterijske infekcije, iz grupe All-Pb-E (tabela 20).

Značajan gubitak tjelesne mase su ostvarile i jedinke podvrgnute dvojnjoj intoksikaciji u odnosu na pojedinačne tretmane i jedinke kontrolnih grupa.

## 4.2 Eritrocitni profil

Po anesteziranju jedinki prikupljena je krv kardijalnom punkcijom, u sterilnim uslovima, iglom promjera 1,2 mm i špricom zapremine 2 ml. Krv je odlagana u vakutenere sa antikoagulansom K<sub>3</sub>EDTA. Određeni su sljedeći parametri crvene loze: broj eritrocita /l krvi, hematokrit, koncentracija hemoglobina, MCV, MCH i MCHC.

### 4.2.1. Kontrolne jedinice (K-0)

Dobijene vrijednosti parametara crvene loze dvadeset jedinki kontrolne grupe su predstavljene u tabeli 21.

**Tabela br. 21 Parametri crvene loze kontrolne grupe jedinki (K-0)**

		<b>E</b> (x10 <sup>12</sup> /l)	<b>Hb</b> (g/l)	<b>Hct</b> (l/l)	<b>MCV</b> (fl)	<b>MCH</b> (pg)	<b>MCHC</b> (g/l E)
<b>K-0-24</b> ♂	1	7.68	137.04	0.333	43.40	17.84	411.11
	2	6.67	107.41	0.222	33.32	16.10	483.33
	3	7.68	151.85	0.381	49.60	19.77	398.61
	4	7.90	133.33	0.346	43.82	16.88	385.19
	5	7.60	148.15	0.364	47.60	19.39	407.41
<b>K-0-24</b> ♀	1	7.32	129.63	0.304	41.58	17.71	425.93
	2	7.76	129.63	0.333	42.96	16.70	388.89
	3	8.84	140.74	0.333	37.71	15.92	422.22
	4	8.05	118.52	0.259	32.21	14.72	457.14
	5	8.14	111.11	0.263	32.33	13.65	422.22
<b>K-0-72</b> ♂	1	7.41	118.52	0.320	43.19	15.99	370.37
	2	7.04	122.22	0.333	47.35	17.36	366.67
	3	7.60	144.44	0.263	34.63	19.01	548.89
	4	7.90	122.22	0.333	42.19	15.47	366.67
	5	7.82	125.93	0.380	48.59	16.10	331.38
<b>K-0-72</b> ♀	1	7.49	129.63	0.370	49.45	17.31	350.00
	2	7.64	129.63	0.353	46.20	16.97	367.28
	3	7.59	155.56	0.333	43.92	20.49	466.67
	4	7.91	133.33	0.361	45.60	16.86	369.70
	5	8.22	140.74	0.375	45.62	17.12	375.31
<b>K-0</b>	<b>AVG</b>	<b>7.71</b>	<b>131.48</b>	<b>0.328</b>	<b>42.56</b>	<b>17.07</b>	<b>405.75</b>
	<b>MIN</b>	<b>7.04</b>	<b>111.11</b>	<b>0.259</b>	<b>32.21</b>	<b>13.65</b>	<b>331.38</b>
	<b>MAX</b>	<b>8.84</b>	<b>155.56</b>	<b>0.381</b>	<b>49.60</b>	<b>20.49</b>	<b>548.89</b>
	<b>STDEV</b>	<b>0.45</b>	<b>12.97</b>	<b>0.045</b>	<b>5.63</b>	<b>1.68</b>	<b>51.94</b>
	<b>COV</b>	<b>5.8</b>	<b>9.9</b>	<b>13.6</b>	<b>13.2</b>	<b>9.8</b>	<b>12.8</b>

**Broj eritrocita** se kretao od  $7.04 \times 10^{12}$  do  $8.84 \times 10^{12}$ , sa prosječnom vrijednosti od  $7.71 \times 10^{12}$  po litri krvi, što je u opsegu referentnih vrijednosti navedenih kod Sharp i Villano (2013), Thrall *et al.* (2012), Brkić *et al.* (2011), Davidović *et al.* (2007, 2010),

Charles River Laboratories (1998) i Hiellyer i Quesenberry (1997). Antai *et al.* (2009), Prichet i Corning (2004) i Moore (2000) navode niže vrijednosti broja eritrocita u perifernoj krvi Wistar pacova, dok je raspon vrijednosti ovog parametra naveden kod Lewicka *et al.* (2012), Kampfmann *et al.* (2012) i Oyeyemi *et al.* (2009) znatno viši od dobijenih podataka za jedinke kontrolne grupe.

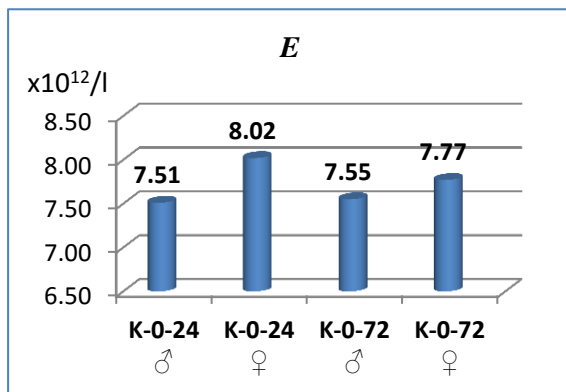
**Koncentracija hemoglobina** izmjerena u uzorcima krvi kontrolnih jedinki je imala vrijednosti od 111.11 do 155.56 i srednju vrijednost 131.48 g/l krvi. Literaturni podaci o normalnim vrijednostima koncentracije hemoglobin u krvi Wistar pacova variraju od autora do autora. Dobijene vrijednosti su u skladu sa onim navedenim kod Sharp i Villano (2013), Brkić *et al.* (2011), Davidović *et al.* (2007, 2010), Gikins i Clifford (2008), Charles River Laboratories (1998) i Hiellyer i Quesenberry (1997). Prosječna koncentracija hemoglobina u krvi netretiranih jedinki Lewicka i saradnika (2012) je bila niža od srednje vrijednosti dobijene za kontrolne jedinke tokom ovog eksperimenta, dok su Kampfmann *et al.* (2012), Thrall *et al.* (2012), Antai *et al.* (2009) i Moore (2000) naveli više vrijednosti.

**Hematokrit** se kretao od 25.9% (0.259 l/l) do 38.1% (0.381 l/l), sa prosječnom vrijednosti za kontrolnu grupu 32.8% (0.328 l/l), što je u saglasnosti sa podacima navedenim kod Oyeyemi *et al.* (2009), dok su ostali autori (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Antai *et al.*, 2009; Gikins i Clifford, 2008; Prichet i Corning, 2004; Charles River Laboratories, 1998, Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)) naveli više vrijednosti ovog parametra.

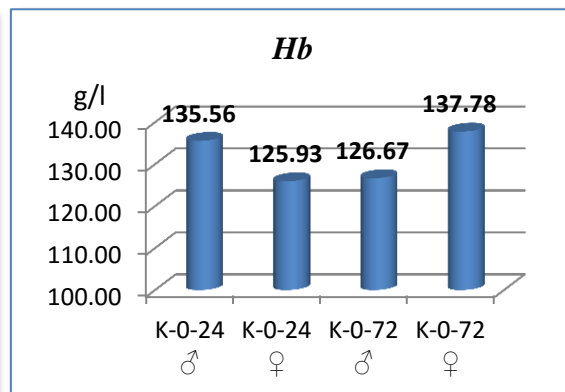
Najniža vrijednosti hematološkog indeksa **MCV** je iznosila 32.21 fl, a najviša 49.60 fl, sa prosječnom vrijednosti ukupnog uzorka 42.56 fl, što je niže od literaturnih podataka (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Antai *et al.*, 2009; Charles River Laboratories, 1998; Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)).

Srednja vrijednost **MCH** je iznosila 17.07 pg, dobijena na osnovu intervala od 13.65-20.49 pg. Dobijene vrijednosti se nalaze u okviru referentnih, navedenih kod Thrall *et al.* (2012), Hiellyer i Quesenberry (1997) i Kampfmann *et al.* (2012). Više

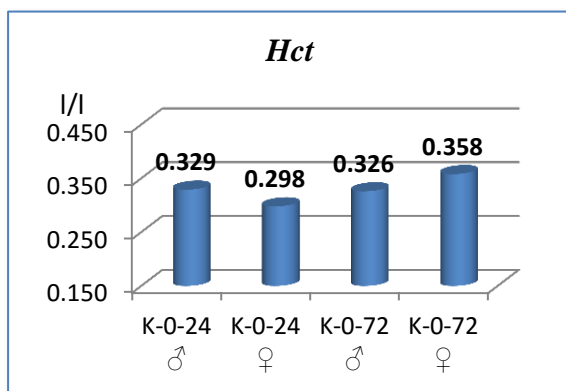
vrijednosti su navedene kod Sharp i Villano (2013), Antai *et al.* (2009) i Charles River Laboratories (1998), a niže kod Lewicka *et al.* (2012).



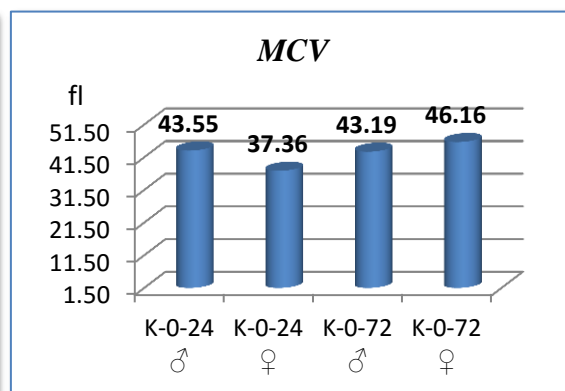
**Grafikon br. 169 Broj eritrocita po litri krvi kontrolnih jedinki**



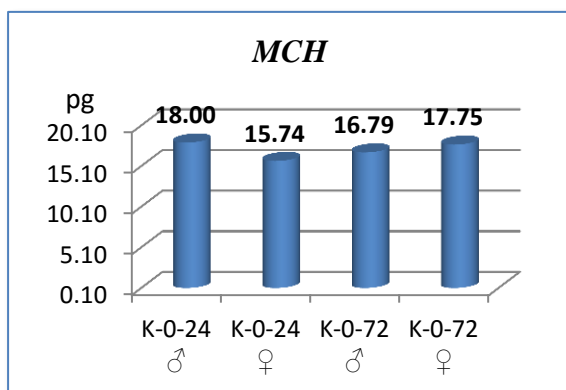
**Grafikon br. 170 Koncentracija hemoglobina u litri krvi kontrolnih jedinki**



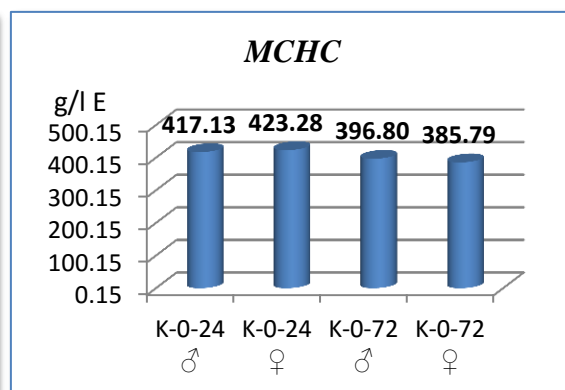
**Grafikon br. 171 Hematokrit kontrolnih jedinki**



**Grafikon br. 172 MCV kontrolnih jedinki**



**Grafikon br. 173 MCH kontrolnih jedinki**



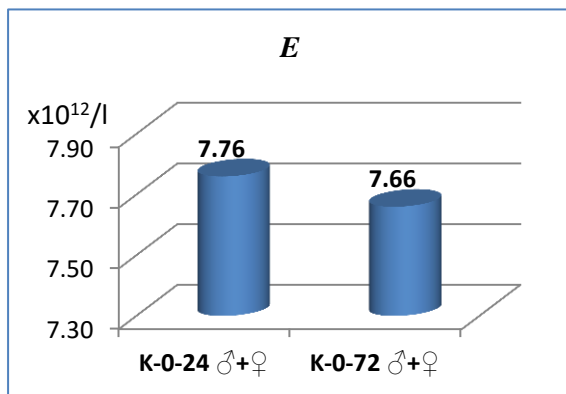
**Grafikon br. 174 MCHC kontrolnih jedinki**

MCHC se kretao od 331.38-548.89 g/l, sa prosjekom od 405.75 g/l eritrocita, što je malo više od navedenih literaturnih podataka (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Antai *et al.*,

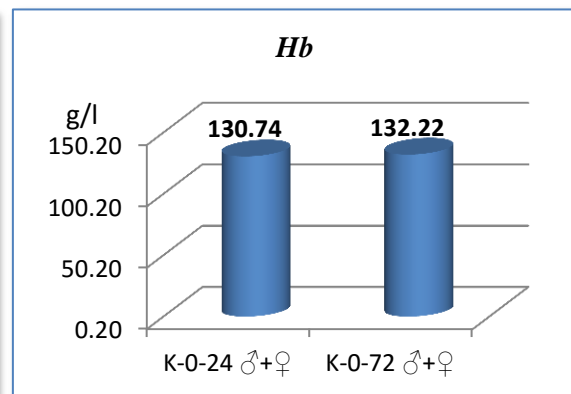
2009; Charles River Laboratories, 1998, Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)).

Poređenjem dobijenih vrijednosti praćenih parametara crvene loze se ne uočavaju statistički signifikantne razlike između jedinki kontrolne grupe ( $p > 0.050$ ).

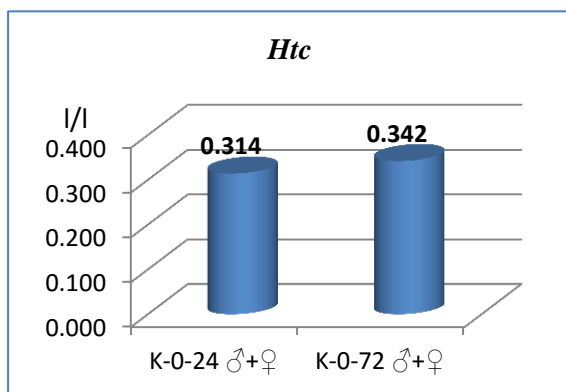
### 4.2.1.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)



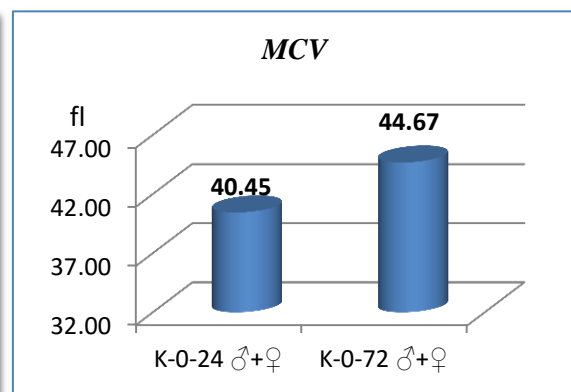
**Grafikon br. 175** Komparacija vrijednosti broja eritrocita po litri krvi između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 176** Komparacija vrijednosti koncentracija hemoglobina u litri krvi između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

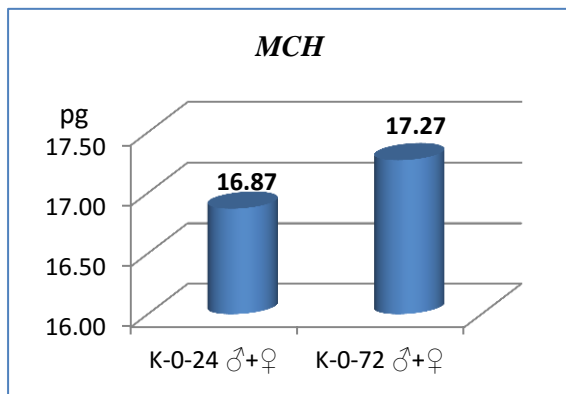


**Grafikon br. 177** Komparacija vrijednosti hematokrita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

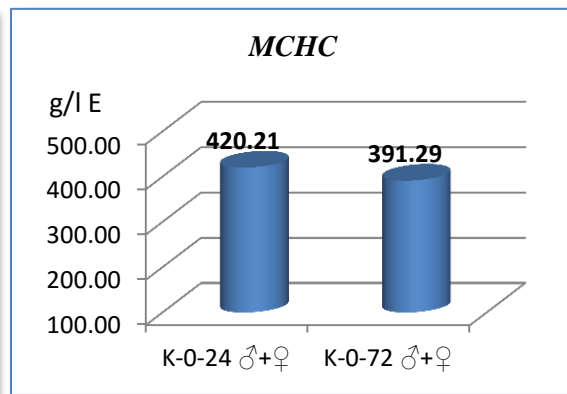


**Grafikon br. 178** Komparacija vrijednosti MCV između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Primjenom nezavisnog T testa nisu uočene statistički značajne razlike praćenih hematoloških parametara između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata od intraperitonealnog ubrizgavanja fiziološkog rastvora (grafikoni 175-180).

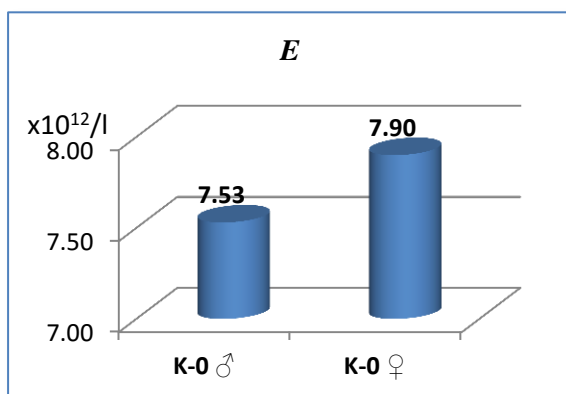


Grafikon br. 179 Komparacija vrijednosti MCH između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

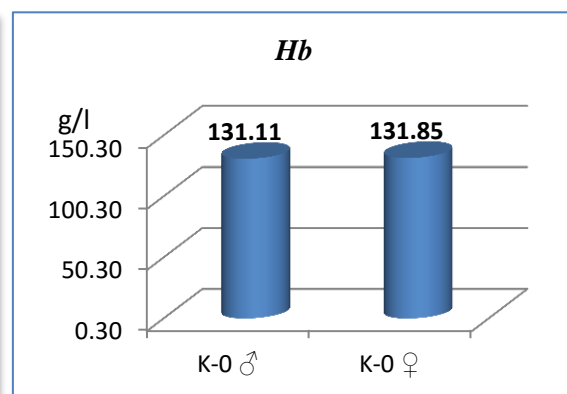


Grafikon br. 180 Komparacija vrijednosti MCHC između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

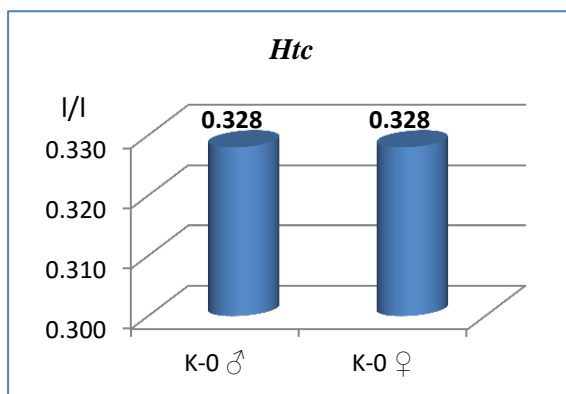
4.2.1.2. Eritrogram i pol



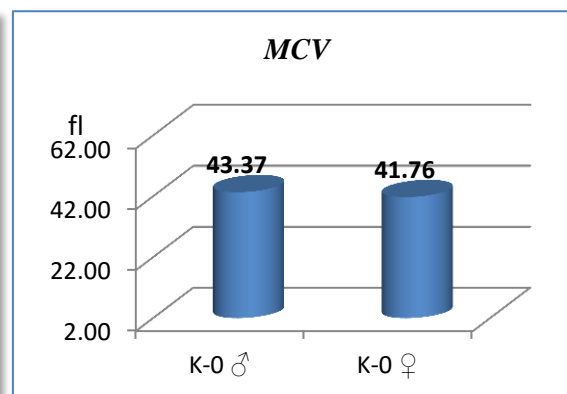
Grafikon br. 181 Komparacija vrijednosti broja eritrocita po litri krvi između mužjaka i ženki



Grafikon br. 182 Komparacija vrijednosti koncentracija hemoglobina u litri krvi između mužjaka i ženki

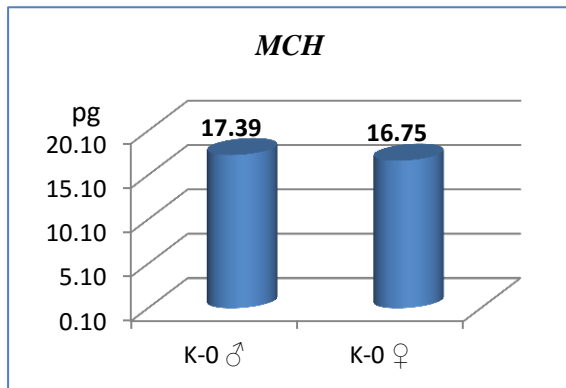


Grafikon br. 183 Komparacija vrijednosti hematokrita između mužjaka i ženki

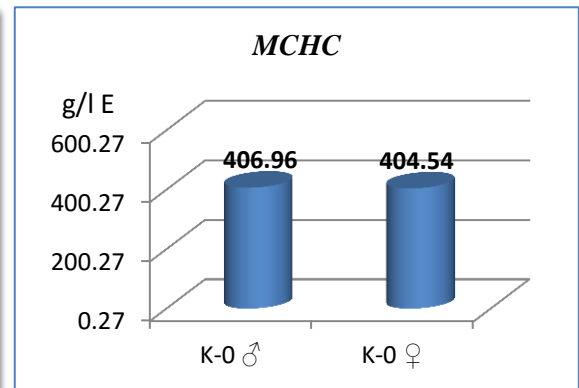


Grafikon br. 184 Komparacija vrijednosti MCV između mužjaka i ženki

Komparacijom dobijenih podataka nisu uočene statistički značajne razlike praćenih hematoloških parametara između mužjaka i ženki (grafikoni 181-186).



**Grafikon br. 185** Komparacija vrijednosti  
*MCH između mužjaka i ženki*



**Grafikon br. 186** Komparacija vrijednosti  
*MCHC između mužjaka i ženki*

### 4.2.2. Kontrolne jedinke inficirane ešerihijom (K-E)

Dvadeset i četiri i sedamdeset i dva časa od izazivanja infekcije aplikacijom bakterijske suspenzije, svim jedinkama grupe K-E uzeta je krv kardijalnom punkcijom. Dobijene vrijednosti eritrograma su navedene u tabeli 22.

**Tabela br.22 Parametri crvene loze kontrolnih jedinki inficiranih ešerihijom (K-E)**

		<b>E</b> ( $\times 10^{12}/l$ )	<b>Hb</b> (g/l)	<b>Hct</b> (l/l)	<b>MCV</b> (fl)	<b>MCH</b> (pg)	<b>MCHC</b> (g/l E)
<b>K-E-24</b> ♂	1	4.83	103.70	0.238	49.30	21.47	435.56
	2	5.90	111.11	0.214	36.32	18.83	518.52
	3	5.46	92.59	0.190	34.89	16.96	486.11
	4	6.27	92.59	0.227	36.25	14.77	407.41
	5	6.32	114.81	0.240	37.98	18.17	478.40
<b>K-E-24</b> ♀	1	6.50	107.41	0.300	46.15	16.52	358.02
	2	6.80	103.70	0.222	32.68	15.25	466.67
	3	5.88	96.30	0.231	39.25	16.38	417.28
	4	4.78	111.11	0.269	56.32	23.24	412.70
	5	5.72	85.19	0.222	38.85	14.89	383.33
<b>K-E-72</b> ♂	1	6.18	77.78	0.333	53.94	12.59	233.33
	2	6.15	92.59	0.283	45.95	15.06	327.64
	3	6.01	85.19	0.250	41.60	14.17	340.74
	4	5.96	111.11	0.288	48.40	18.64	385.19
	5	6.51	88.89	0.250	38.40	13.65	355.56
<b>K-E-72</b> ♀	1	4.74	81.48	0.150	31.65	17.19	543.21
	2	5.50	77.78	0.182	33.06	14.14	427.78
	3	4.63	111.11	0.250	54.00	24.00	444.44
	4	4.93	88.89	0.280	56.80	18.03	317.46
	5	4.91	88.89	0.158	32.16	18.10	562.96
<b>K-E</b>	<b>AVG</b>	<b>5.70</b>	<b>96.11</b>	<b>0.239</b>	<b>42.20</b>	<b>17.10</b>	<b>415.11</b>
	<b>MIN</b>	<b>4.63</b>	<b>77.78</b>	<b>0.150</b>	<b>31.65</b>	<b>12.59</b>	<b>233.33</b>
	<b>MAX</b>	<b>6.80</b>	<b>114.81</b>	<b>0.333</b>	<b>56.80</b>	<b>24.00</b>	<b>562.96</b>
	<b>STDEV</b>	<b>0.68</b>	<b>12.16</b>	<b>0.047</b>	<b>8.49</b>	<b>3.09</b>	<b>81.64</b>
	<b>COV</b>	<b>12.0</b>	<b>12.7</b>	<b>19.5</b>	<b>20.1</b>	<b>18.1</b>	<b>19.7</b>

**Broj eritrocita u litri krvi** inficiranih jedinki se kretao od 4.63 do 6.80  $\times 10^{12}$ , sa prosječnom vrijednošću od 5.70  $\times 10^{12}/l$ . Dobijene vrijednosti su niže od referentnih vrijednosti navedenih kod Sharp i Villano (2013), Thrall *et al.* (2012), Lewicka *et al.* (2012), Kampfmann *et al.* (2012), Brkić *et al.* (2011), Davidović *et al.* (2010, 2007), Oyeyemi *et al.* (2009), Prichet i Corning (2004), Moore (2000), Charles River Laboratories (1998) i Hiellyer i Quesenberry (1997), dok su više od vrijednosti navedenih za kontrolnu grupu kod Antai *et al.* (2009).



Analizom **koncentracije hemoglobina** u krvi inficiranih jedinki dobijen je raspon od 77.78 do 114.81 g/l, sa srednjom vrijednošću od 96.11 g/l krvi. Navedene vrijednosti su niže od literaturnih (Sharp i Villano, 2013, Lewicka *et al.* 2012, Kampfmann *et al.* 2012, Thrall *et al.*, 2012, Antai *et al.*, 2009, Moore, 2000, Brkić *et al.*, 2011, Davidović *et al.*, 2007, 2010, Gikins i Clifford, 2008, Charles River Laboratories, 1998 i Hiellyer i Quesenberry, 1997) i nastale kao posljedica bakterijske infekcije.

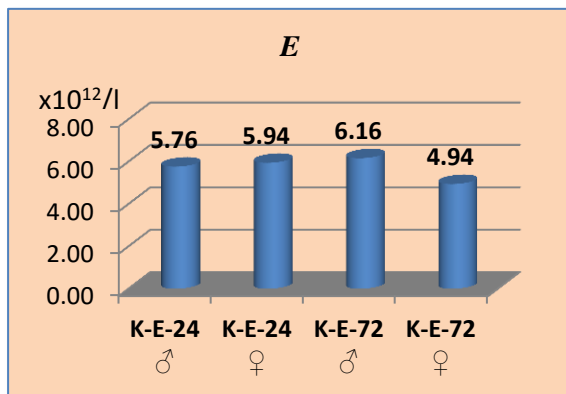
Dobijene vrijednosti **hematokrita** jedinki grupe K-E su se kretale od 0.150-0.333 l/l, odnosno 15.0-33.3%, prosječno 0.239 l/l krvi (23.90%). U odnosu na literaturne referentne vrijednosti zdravih jedinki (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Oyeyemi *et al.*, 2009, Antai *et al.*, 2009; Gikins i Clifford, 2008; Prichet i Corning, 2004; Charles River Laboratories, 1998, Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)), dobijene vrijednosti hematokrita su znatno niže.

Hematološki indeksi MCV, MCH i MCHC su imali prosječne vrijednosti slične onima dobijenim kod kontrolnih jedinki, sa odstupanjima u minimalnim i maksimalnim vrijednostima.

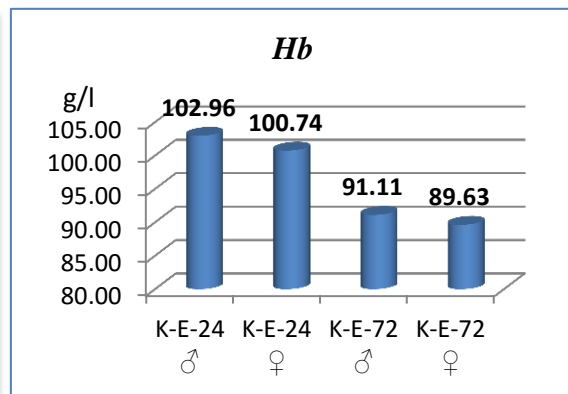
**MCV** se kretao od 31.65-56.80 fl ( $\bar{X}$ =42.20fl), **MCH** 12.59-24.00 pg ( $\bar{X}$ =17.10 pg) i **MCHC** 233.33-562.96 g/l eritrocita ( $\bar{X}$ =415.11 g/l), pri čemu su vrijednosti MCV malo niže, MCH u skladu sa literaturnim, i MCHC nešto više od navedenih literaturnih vrijednosti (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Oyeyemi *et al.*, 2009; Antai *et al.*, 2009; Gikins i Clifford, 2008; Prichet i Corning, 2004; Charles River Laboratories, 1998; Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)).

Ogundare i Onifade (2009) navode znatno niže vrijednosti koncentracije hemoglobina, hematokrita i broja eritrocita kod jedinki inficiranih *Escherichia coli* p.o., što ukazuje na hemolitični efekat infekcije.

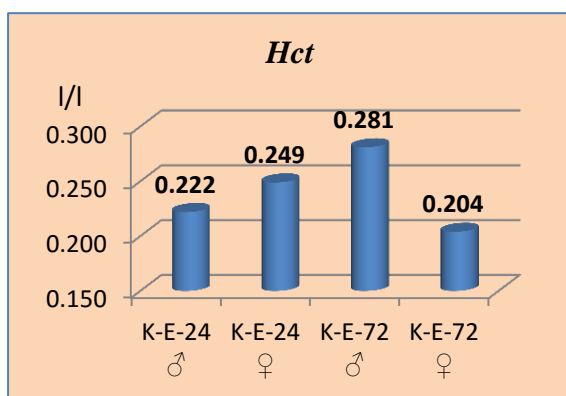
Ogundare i Onifade navode vrijednosti hematokrita prije (39.0 - 41.0%) i nakon *per oralno* izazvane infekcije (25 - 29%), sa značajnim padom istih usljed anemije. Breuille *et al.* (1999) bilježe pad vrijednosti hematokrita šest dana od *i.p.* inokulacije bakterijske suspenzije *E. coli* CFU  $8.3 \times 10^8$ , sa  $42.1 \pm 2.5$  na  $37.3 \pm 3.6\%$ .



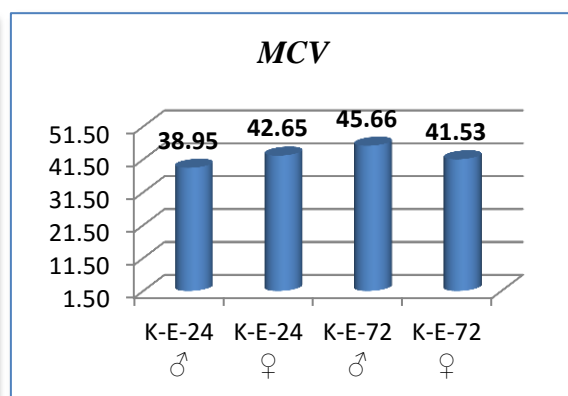
Grafikon br. 187 Broj eritrocita po litri krvi jedinki inficiranih *E. coli*



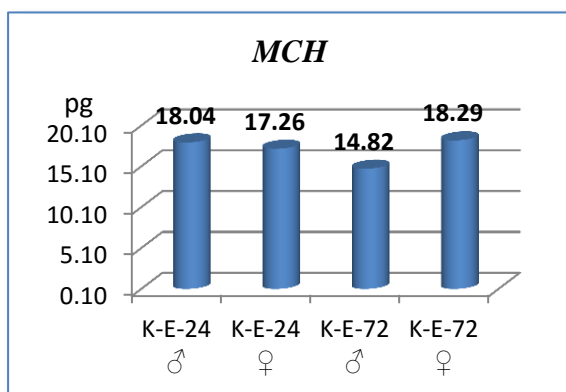
Grafikon br. 188 Koncentracija hemoglobina u litri krvi jedinki inficiranih *E. coli*



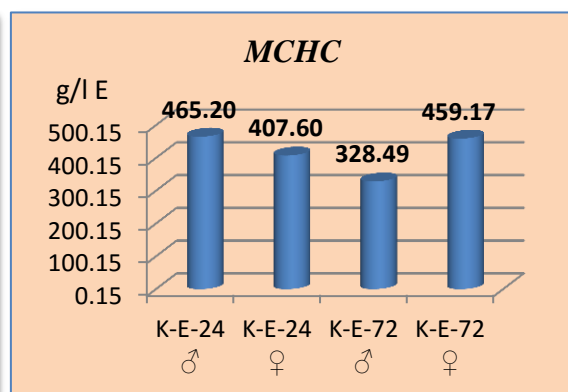
Grafikon br. 189 Hematokrit kontrolnih jedinki inficiranih *E. coli*



Grafikon br. 190 MCV kontrolnih jedinki inficiranih *E. coli*



Grafikon br.191 MCH kontrolnih jedinki inficiranih *E. coli*

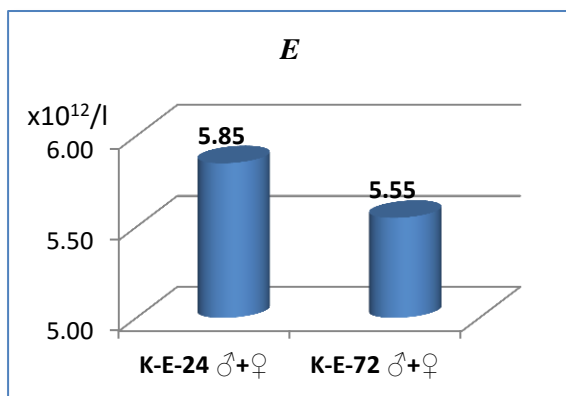


Grafikon br. 192 MCHC kontrolnih jedinki inficiranih *E. coli*

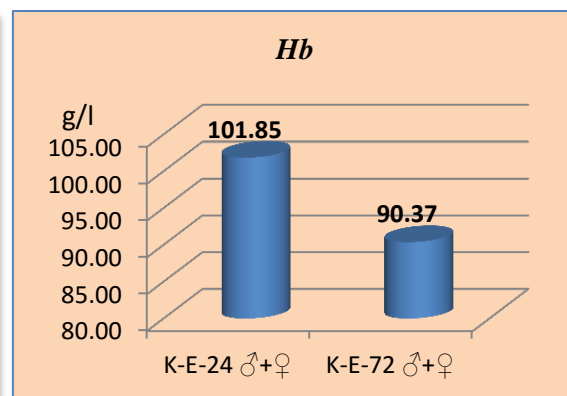
Komparacijom dobijenih podataka statistički značajna razlika između grupa se uočava za tri parametra – broj eritrocita, hematocrit i MCHC. Najniže vrijednosti broja eritrocita su zabilježene za jedinke grupe K-E 72 ♀,  $4.94 \times 10^{12}$ / litri krvi, značajno niže u odnosu na jedinke grupe K-E 24 ♂ ( $p=0.029$ ), K-E 24 ♀ ( $p=0.010$ ) i K-E 72 ♂ ( $p=0.002$ ). Što se tiče hematokrita najveće vrijednosti su konstatovane za jedinke grupe K-E

72 ♂, značajno veće od jedinki grupe K-E 24 ♂ ( $p=0.030$ ) i K-E 72 ♀ ( $p=0.007$ ). Najniže vrijednosti MCHC su imale jedinke grupe K-E 72 ♂, značajno povišene u odnosu na vrijednosti grupe K-E 24 ♂ ( $p=0,004$ ) i K-E 72 ♀ ( $p=0.006$ ).

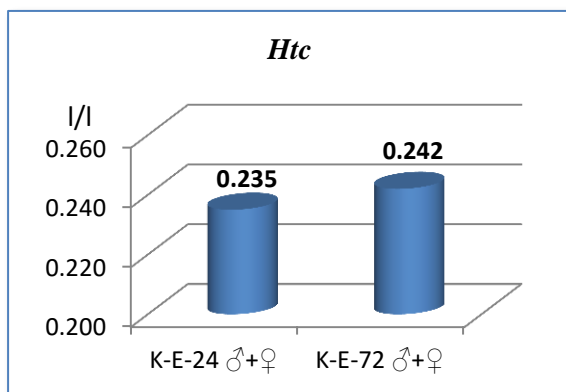
### 4.2.2.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)



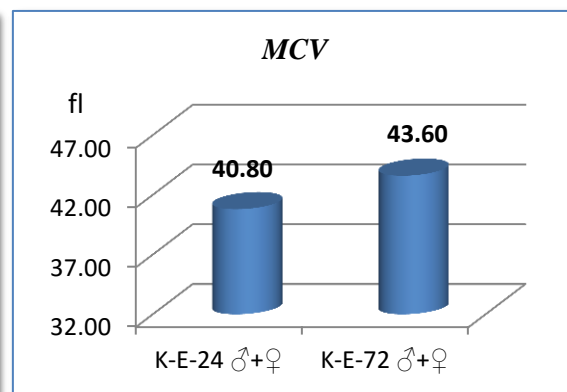
**Grafikon br. 193** Komparacija vrijednosti broja eritrocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 194** Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

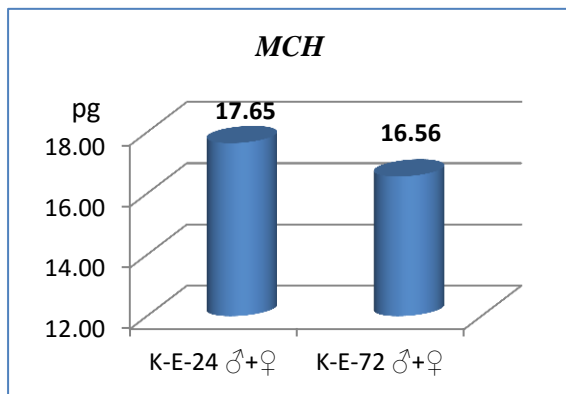


**Grafikon br. 195** Komparacija vrijednosti hematokrita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

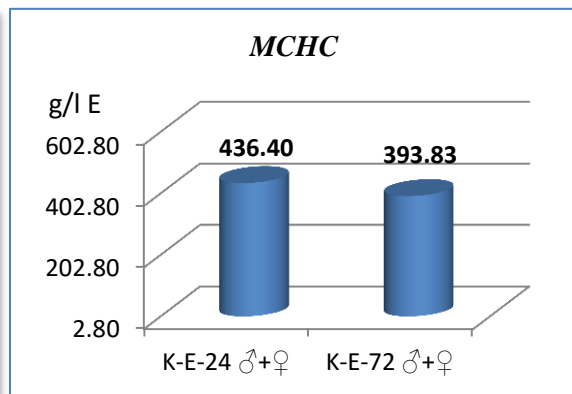


**Grafikon br. 196** Komparacija vrijednosti MCV između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Poređenjem parametara crvene loze između jedinki žrtvovanih 24 i 72 sata od aplikacije bakterijske suspenzije, statistički značajna razika se uočava samo za vrijednosti koncentracije hemoglobina. Jedinke žrtvovane kasnije su pokazale zatno niže ( $p=0.031$ ) vrijednosti ovog parametra, usljed infekcijom uzrokovane anemije (grafikon 194). Takođe, vrijednosti broja eritrocita su niže kod jedinki žrtvovanih 72 sata od aplikacije bakterijske suspenzije, usljed duže izloženosti hemolitičkom efektu infekcije, ali bez statističkog značaja.



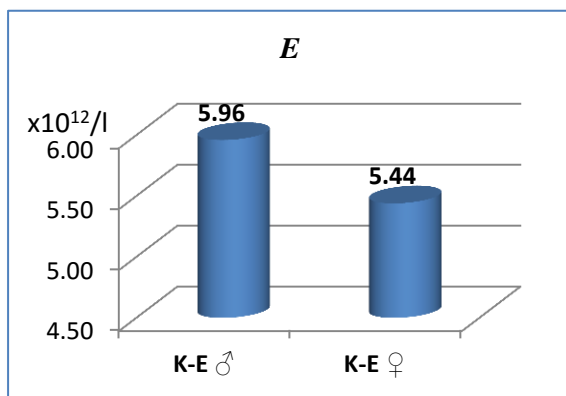
**Grafikon br. 197** Komparacija vrijednosti MCH između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



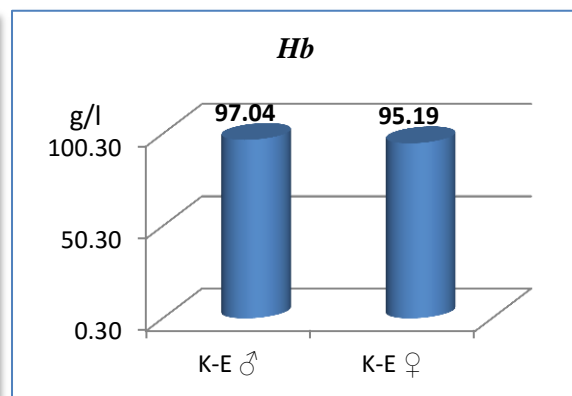
**Grafikon br. 198** Komparacija vrijednosti MCHC između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

#### 4.2.2.2. Eritrogram i pol

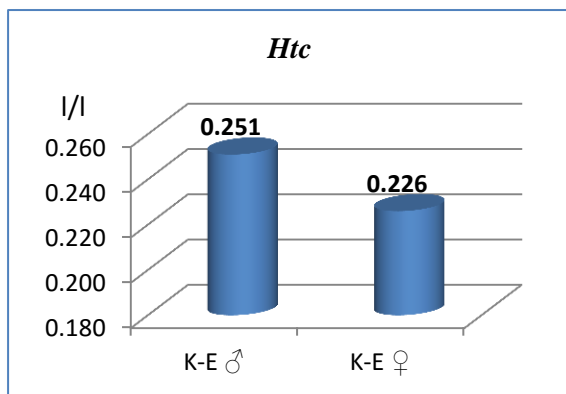
Analizom eritrograma jedinki različitog pola grupa K-E ne uočavaju se značajne razlike za pojedine parametre (grafikoni 199-204).



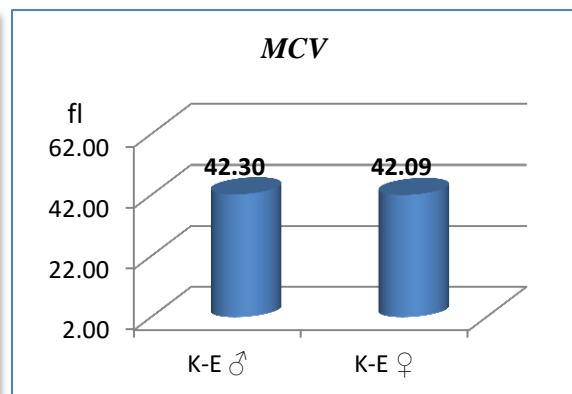
**Grafikon br. 199** Komparacija vrijednosti broja eritrocita između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 200** Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između mužjaka i ženki

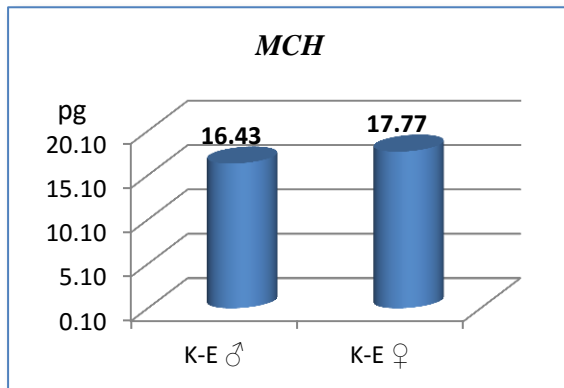


**Grafikon br. 201** Komparacija vrijednosti hematokrita između mužjaka i ženki

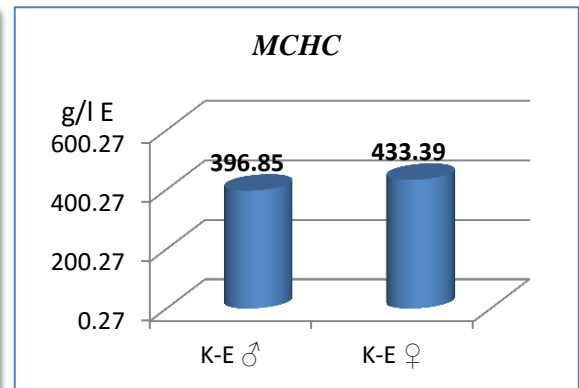


**Grafikon br. 202** Komparacija vrijednosti MCV između mužjaka i ženki

Broj eritrocita, koncentracija hemoglobina i hematokrit su imali niže vrijednosti kod ženki u odnosu na mužjake, ali bez statističkog značaja.



**Grafikon br. 203** Komparacija vrijednosti MCH između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 204** Komparacija vrijednosti MCHC između mužjaka i ženki

### 4.2.3. Tretman olovo-acetatom (Pb-0)

Dobijene vrijednosti eritrograma ukupnog uzorka su predstavljene u tabeli 23. Vrijednosti **broja eritrocita u litri krvi** su se kretale od  $3.42-7.93 \times 10^{12}$ , sa prosječnom vrijednošću od  $5.96 \times 10^{12}/l$  krvi, što je niže od većine navedenih referentnih vrijednosti (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Oyeyemi *et al.*, 2009; Prichet i Corning, 2004; Moore, 2000; Charles River Laboratories, 1999; Hiellyer i Quesenberry, 1997), kao i od vrijednosti zabilježenih kod jedinki kontrolne grupe ( $7.04 - 8.84 \times 10^{12}/l$ , prosječno  $7.71 \times 10^{12}/l$ ).

**Tabela br. 23 Parametri crvene loze jedinki pojenih olovo-acetatom (Pb-0)**

		<b>E</b> ( $\times 10^{12}/l$ )	<b>Hb</b> (g/l)	<b>Hct</b> (l/l)	<b>MCV</b> (fl)	<b>MCH</b> (pg)	<b>MCHC</b> (g/l E)
<b>Pb-0-24 ♂</b>	1	4.14	103.70	0.333	80.52	25.05	311.11
	2	2.41	85.19	0.286	118.55	35.35	298.15
	3	3.24	100.00	0.333	102.88	30.86	300.00
	4	7.00	96.30	0.310	44.34	13.70	310.29
	5	7.20	92.59	0.308	42.74	12.86	300.93
<b>Pb-0-24 ♀</b>	1	3.42	96.30	0.291	85.09	28.16	330.92
	2	6.45	103.70	0.318	49.33	16.08	325.93
	3	7.93	111.11	0.227	28.66	14.01	488.89
	4	7.66	85.19	0.308	40.17	11.12	276.85
	5	7.66	114.81	0.286	37.30	14.99	401.85
<b>Pb-0-72 ♂</b>	1	6.85	77.78	0.211	30.73	11.35	369.44
	2	5.69	100.00	0.375	65.91	17.57	266.67
	3	7.21	88.89	0.333	46.23	12.33	266.67
	4	7.82	92.59	0.250	31.97	11.84	370.37
	5	6.20	107.41	0.296	47.79	17.32	362.50
<b>Pb-0-72 ♀</b>	1	5.49	92.59	0.263	47.93	16.87	351.85
	2	6.44	88.89	0.313	48.53	13.80	284.44
	3	5.88	107.41	0.296	50.39	18.27	362.50
	4	4.78	92.59	0.267	55.79	19.37	347.22
	5	5.72	103.70	0.167	29.14	18.13	622.22
<b>Pb-0</b>	<b>AVG</b>	<b>5.96</b>	<b>97.04</b>	<b>0.289</b>	<b>54.20</b>	<b>17.95</b>	<b>347.44</b>
	<b>MIN</b>	<b>3.42</b>	<b>77.78</b>	<b>0.167</b>	<b>28.66</b>	<b>11.12</b>	<b>266.67</b>
	<b>MAX</b>	<b>7.93</b>	<b>114.81</b>	<b>0.375</b>	<b>118.55</b>	<b>35.35</b>	<b>622.22</b>
	<b>STDEV</b>	<b>1.62</b>	<b>9.58</b>	<b>0.048</b>	<b>24.65</b>	<b>6.79</b>	<b>83.43</b>
	<b>COV</b>	<b>27.3</b>	<b>9.9</b>	<b>16.6</b>	<b>45.5</b>	<b>37.8</b>	<b>24.0</b>

Vrijednosti **koncentracije hemoglobina** su se kretale u rasponu od 77.78 - 114.81, prosječno 97.04 g/l krvi, što je znatno niže i od referentnih (Sharp i Villano, 2013, Lewicka *et al.* 2012, Kampfmann *et al.* 2012, Thrall *et al.*, 2012, Antai *et al.*,

2009, Moore, 2000, Brkić *et al.*, 2011, Davidović *et al.*, 2007, 2010, Gikins i Clifford, 2008, Charles River Laboratories, 1998 i Hiellyer i Quesenberry, 1997) i od vrijednosti zabilježenih kod jedinki kontrolne grupe (111.11 - 155.56,  $\bar{x}$  = 131.48g/l), dok odgovaraju vrijednostima dobijenim za inficirane jedinke (77.78 - 114.81,  $\bar{x}$  = 96.11g/l).

**Hematokrit** se kretao od 0.167-0.375 l/l, sa srednjom vrijednošću 0.289 l/l krvi, što je niže od referentnih vrijednosti (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Antai *et al.*, 2009; Oyeyemi *et al.*, 2009; Gikins i Clifford, 2008; Prichet i Corning, 2004; Charles River Laboratories, 1998, Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)), kao i vrijednosti dobijenih za jedinke kontrolne grupe.

**MCV** je imao vrijednost 54.20 fl, u rasponu 28.66 - 118.55 fl, pri čemu su prosječne vrijednosti grupe u skladu sa većinom literaturnih navoda (Sharp i Villano, 2013, Kampfmann *et al.* 2012, Thrall *et al.*, 2012, Moore, 2000, Gikins i Clifford, 2008 i Charles River Laboratories, 1998) dok su Hiellyer i Quesenberry (1997) i Antai *et al.* (2009) naveli više vrijednosti ovog parametra, a Lewicka i saradnici (2012) niže.

Srednja vrijednost **MCH** je iznosila 17.95 pg (od 11.12 - 35.35 pg), kako je navedeno i kod Thrall *et al.* (2012), Kampfmann *et al.* (2012) i Hiellyer i Quesenberry (1997), dok Sharp i Villano (2013) i Antai *et al.* (2009) navode više, a Lewicka *et al.* (2012) niže vrijednosti.

**MCHC** ukupnog uzorka ima širi raspon (266.67 - 622.22 g/lE) od navedenih referentnih vrijednosti, mada su srednje vrijednosti približne prosječnim literaturnim podacima (Sharp i Villano, 2013, Kampfmann *et al.* 2012, Thrall *et al.*, 2012, Lewicka i saradnici, 2012; Antai *et al.*, 2009; Gikins i Clifford, 2008; Charles River Laboratories, 1998; Hiellyer i Quesenberry, 1997).

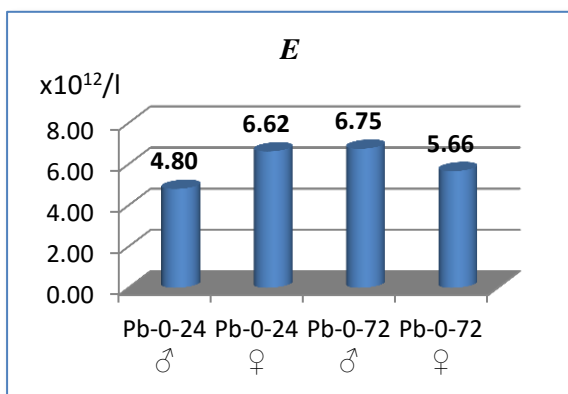
Krv uzeta kardijalnom punkcijom nakon šestonedelnog tretmana pacova olovo-acetatom u koncentraciji od 100 ppm imala je niže vrijednosti broja eritrocita, koncentracije hemoglobina, hematokrita i MCHC, dok su vrijednosti MCV i MCH bile uvećane u odnosu na iste zabilježene kod netretiranih jedinki (Nwokocho *et al.*, 2011).

Alabbassi i saradnici (2008) su istakli, pored ostalih toksičnih efekata olova na organizam pacova, smanjenje udjela uobličjenih krvnih elemenata i sniženu koncentraciju hemoglobina.

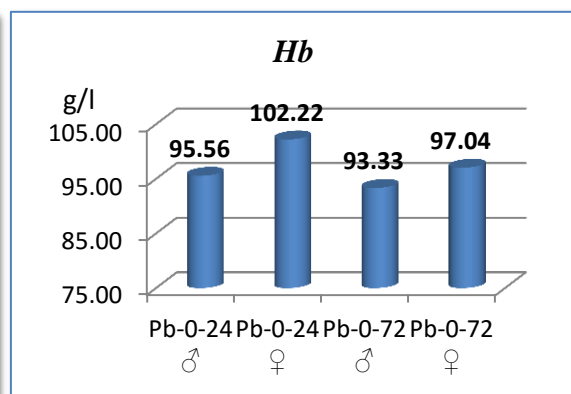
Pri osmonedeljnoj intoksikaciji Wistar pacova olovo-acetatom u dozi od 200 mg/kg dnevno, p.o., uočeno je značajno smanjenje broja eritocita, kao i koncentracije hemoglobina u krvi uzetoj kardijalnom punkcijom (Mannem, 2014). Slične zaključke su izveli i drugi autori. Tako su Ibrahim i saradnici (2012) konstatovali smanjenje koncentracije hemoglobina, kao i manji broj eritrocita u krvi jedinki intoksikovanih olovo-acetatom, Noori Mugahi i saradnici (2003) smanjenje sljedećih parametara: E, Hb, Hct, MCH i MCV, dok su Okediran i saradnici (2010) zabilježili značajniji pad parametara crvene loze (E, Hb, MCV i MCHC) s povećanjem doze toksikanta.

Subletalne doze olovo-acetata, i.p., značajno utiču na parametre standardne hematološke analize, izazivajući smanjenje broja eritrocita, kao i koncentracije hemoglobina i niže vrijednosti hematokrita u krvi ženki Wistar pacova (Nikolić *et al.*, 2011).

I Suradkar i saradnici (2009) su uočili toksičan efekat olova u dozi već od 100 i 1000 ppm, praćen smanjenjem svih parametara crvene loze (E, Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC) što ukazuje na razvoj mikrocistične hipohromne anemije usljed toksičnosti olovo-acetata. Promjene su očitije pri većim dozama i dužem izlaganju ovom teškom metalu. Olovo inhibira sitezu hema, skraćuje životni vijek eritrocita (Klassen, 2001), pri čemu usljed povećane destrukcije eritrocita dolazi do snižavanja navedenih hematoloških vrijednosti (Helmy *et al.*, 2000).



**Grafikon br. 205 Broj eritrocita po litri krvi jedinki intoksikovanih olovo-acetatom**

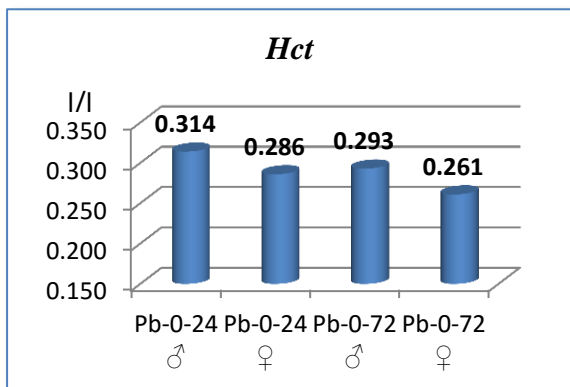


**Grafikon br. 206 Koncentracija hemoglobina u litri krvi jedinki intoksikovanih olovo-acetatom**

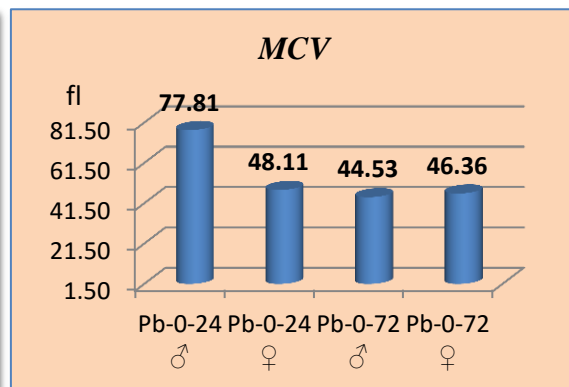
Statističkom analizom dobijenih hematoloških parametara signifikantna odstupanja se uočavaju samo za vrijednosti MCV jedinki tretiranih olovo-acetatom (grafikon 208), pri čemu su više vrijednosti ovog parametra konstatovane kod jedinki



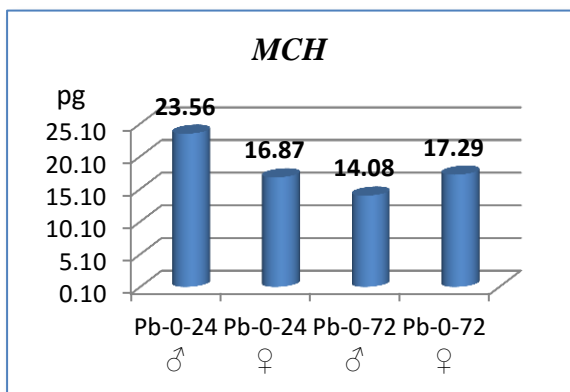
grupe Pb-0-24 ♂ u odnosu na jedinice grupe Pb-0-24 ♀ ( $p=0.049$ ), Pb-0-72 ♂ ( $p=0.030$ ) i Pb-0-72 ♀ ( $p=0.039$ ).



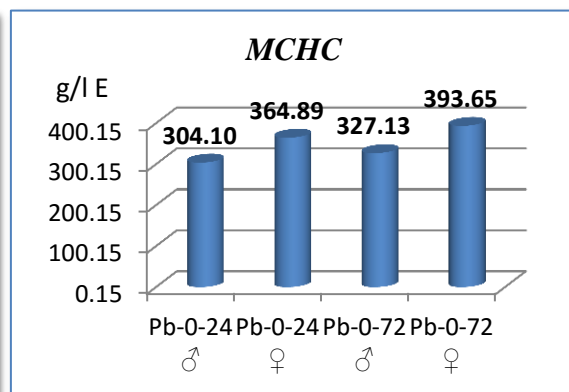
**Grafikon br. 207 Hematokrit kontrolnih jedinica intoksikovanih olovo-acetatom**



**Grafikon br. 208 MCV kontrolnih jedinica intoksikovanih olovo-acetatom**

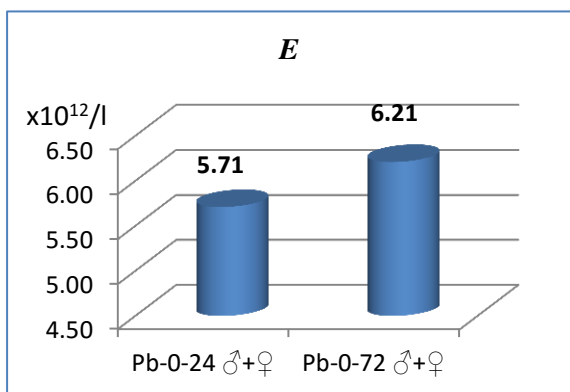


**Grafikon br. 209 MCH kontrolnih jedinica intoksikovanih olovo-acetatom**

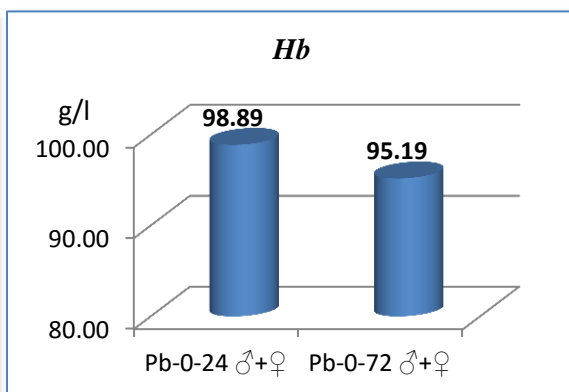


**Grafikon br. 210 MCHC kontrolnih jedinica intoksikovanih olovo-acetatom**

### 4.2.3.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

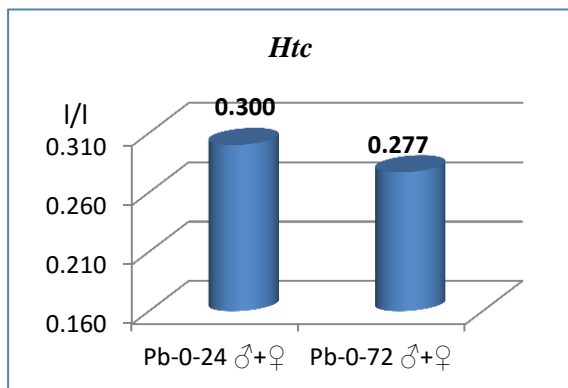


**Grafikon br. 211 Komparacija vrijednosti broja eritrocita između jedinica žrtvovanih nakon 24 i 72 sata**

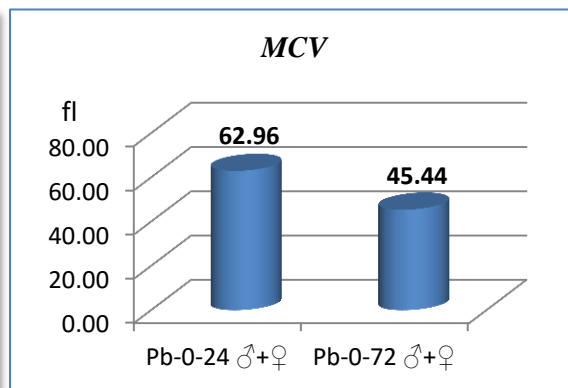


**Grafikon br. 212 Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između jedinica žrtvovanih nakon 24 i 72 sata**

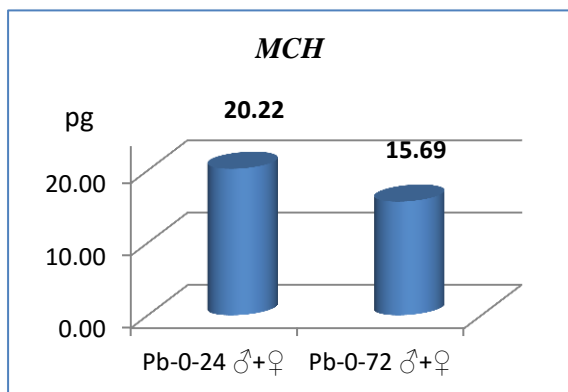
Komparacijom praćenih hematoloških parametara između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata od intraperitonealnog ubrizgavanja fiziološkog rastvora nezavisnim T testom nisu uočena statistički značajna odstupanja ( $p > 0.050$ ).



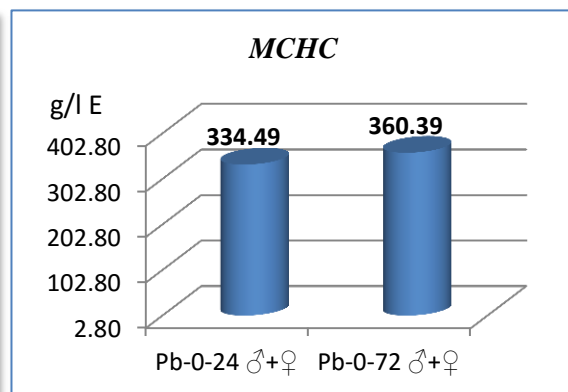
**Grafikon br. 213** Komparacija vrijednosti hematokrita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 214** Komparacija vrijednosti MCV između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



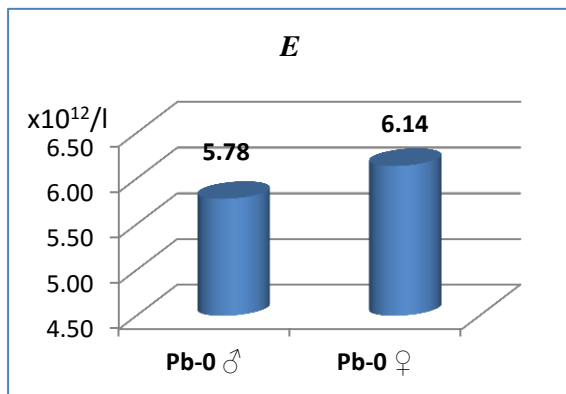
**Grafikon br. 215** Komparacija vrijednosti MCH između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



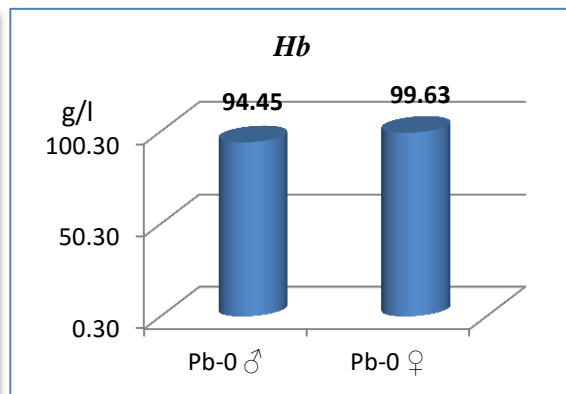
**Grafikon br. 216** Komparacija vrijednosti MCHC između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

### 4.2.3.2. Eritrogram i pol

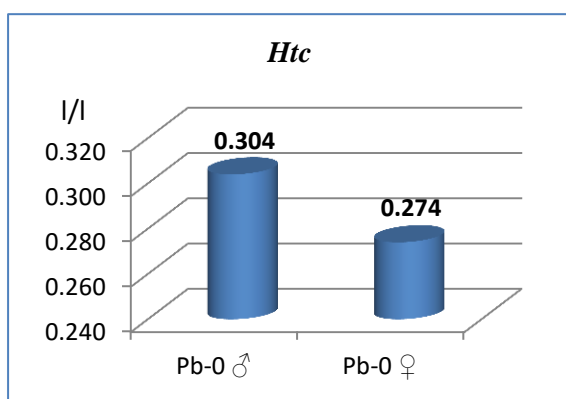
Poređenjem dobijenih vrijednosti pripadnika muškog pola sa onim konstatovanim kod jedinki ženskog pola (grafikoni 217-222), statistički značajna razlika se ne uočava ni za jedan posmatrani parametar crvene loze ( $p > 0.050$ ).



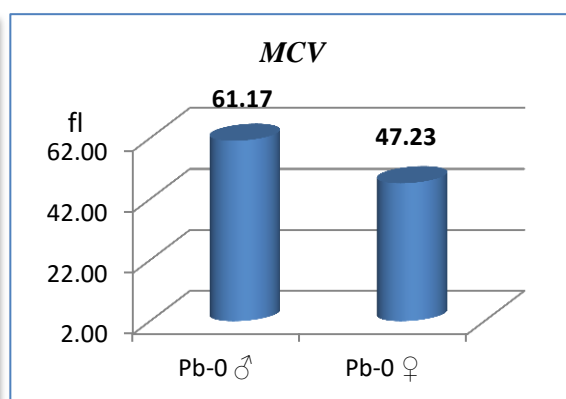
Grafikon br. 217 Komparacija vrijednosti broja eritrocita između mužjaka i ženki



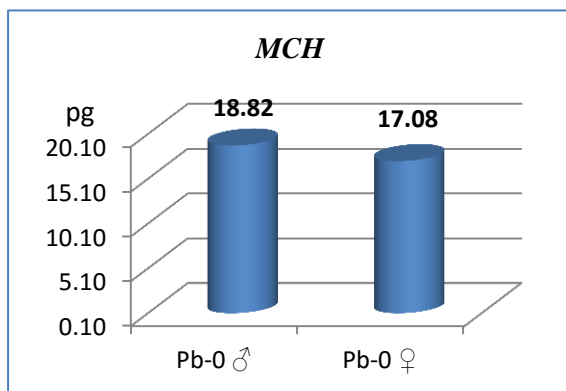
Grafikon br. 218 Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između mužjaka i ženki



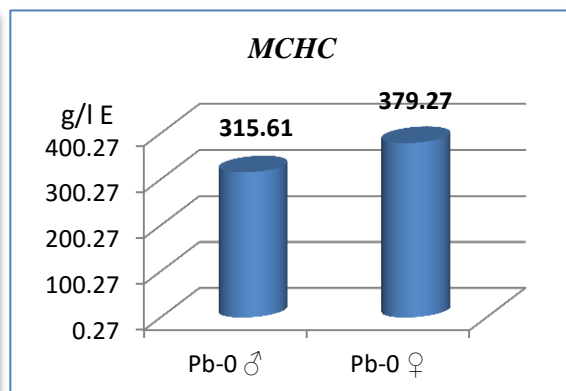
Grafikon br. 219 Komparacija vrijednosti hematokrita između mužjaka i ženki



Grafikon br. 220 Komparacija vrijednosti MCV između mužjaka i ženki



Grafikon br. 221 Komparacija vrijednosti MCH između mužjaka i ženki



Grafikon br. 222 Komparacija vrijednosti MCHC između mužjaka i ženki

### 4.2.4. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih olovo-acetatom (Pb-E)

Eritrogram jedinki, pojenih rastvorom olovo-acetata u koncentraciji od 1500 ppm (putem vode *ad libitum*) tokom četrnaest dana, a potom inficiranih ešerihijom (0,2 ml rastvora bakterijske suspenzije CFU  $3 \times 10^7$ /ml *Escherichia coli*), podijeljenih u grupe Pb-E-24 ♂, Pb-E-24 ♀, Pb-E-72 ♂ i Pb-E-72 ♀ je predstavljen u tabeli 24.

**Tabela br. 24 Parametri crvene loze inficiranih jedinki pojenih olovo-acetatom (Pb-E)**

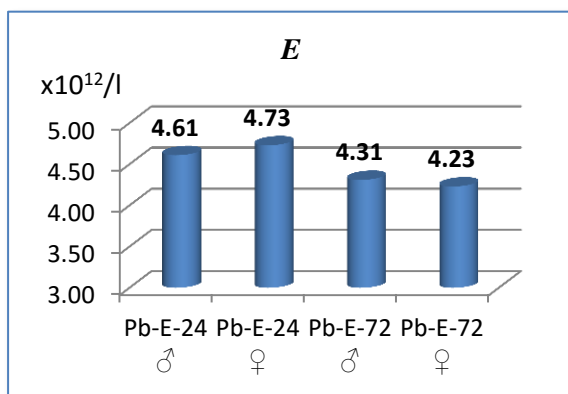
		<b>E</b> ( $\times 10^{12}/l$ )	<b>Hb</b> (g/l)	<b>Hct</b> (l/l)	<b>MCV</b> (fl)	<b>MCH</b> (pg)	<b>MCHC</b> (g/l E)
<b>Pb-E-24 ♂</b>	1	4.61	70.37	0.357	77.47	15.26	197.04
	2	5.04	74.07	0.227	45.09	14.70	325.93
	3	3.42	77.78	0.294	86.00	22.74	264.44
	4	4.61	111.11	0.321	69.72	24.10	345.68
	5	5.39	92.59	0.313	57.98	17.18	296.30
<b>Pb-E-24 ♀</b>	1	4.46	92.59	0.208	46.71	20.76	444.44
	2	5.24	107.41	0.316	60.27	20.50	340.12
	3	4.19	114.81	0.273	65.09	27.40	420.99
	4	5.12	55.56	0.250	48.83	10.85	222.22
	5	4.65	44.44	0.263	56.59	9.56	168.89
<b>Pb-E-72 ♂</b>	1	4.73	70.37	0.313	66.07	14.88	225.19
	2	4.80	100.00	0.267	55.56	20.83	375.00
	3	3.18	103.70	0.316	99.31	32.61	328.40
	4	4.02	77.78	0.333	82.92	19.35	233.33
	5	4.82	114.81	0.348	72.16	23.82	330.09
<b>Pb-E-72 ♀</b>	1	4.05	92.59	0.211	51.98	22.86	439.81
	2	4.50	85.19	0.250	55.56	18.93	340.74
	3	3.29	111.11	0.273	82.90	33.77	407.41
	4	4.86	111.11	0.333	68.59	22.86	333.33
	5	4.46	81.48	0.333	74.74	18.27	244.44
<b>Pb-E</b>	<b>AVG</b>	<b>4.47</b>	<b>89.44</b>	<b>0.290</b>	<b>66.18</b>	<b>20.56</b>	<b>314.19</b>
	<b>MIN</b>	<b>3.18</b>	<b>44.44</b>	<b>0.21</b>	<b>45.09</b>	<b>9.56</b>	<b>168.89</b>
	<b>MAX</b>	<b>5.39</b>	<b>114.81</b>	<b>0.357</b>	<b>99.31</b>	<b>33.77</b>	<b>444.44</b>
	<b>STDEV</b>	<b>0.62</b>	<b>20.33</b>	<b>0.045</b>	<b>14.60</b>	<b>6.22</b>	<b>81.20</b>
	<b>COV</b>	<b>13.9</b>	<b>22.7</b>	<b>15.6</b>	<b>22.1</b>	<b>30.3</b>	<b>25.8</b>

Vrijednosti **broja eritrocita u litri krvi** su se kretale od  $3.18-5.39 \times 10^{12}$ , sa prosječnom vrijednošću od  $4.47 \times 10^{12}/l$  krvi, što je niže od većine literaturno evidentiranih vrijednosti ovog hematološkog parametra (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Oyeyemi *et al.*, 2009; Prichet i Corning, 2004; Moore, 2000; Charles River Laboratories, 1999; Hiellyer i Quesenberry, 1997), dok je u saglasnosti sa podacima publikovanim od strane Antai i saradnika (2009). Takođe, dobijene vrijednosti

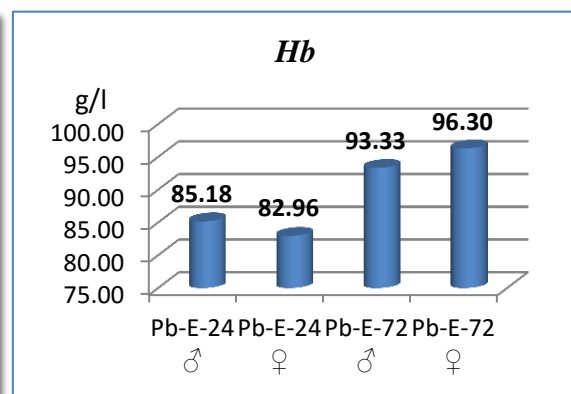
su niže od onih zabilježenih kod jedinki kontrolne grupe ( $7.04-8.84 \times 10^{12}/l$ , prosječno  $7.71 \times 10^{12}/l$ ).

Vrijednosti **koncentracije hemoglobina** jedinki pojedinih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom su se kretale u rasponu od 44.44 do 114.81, prosječno 98.96g/l, niže od uobičajenih vrijednosti netretiranih jedinki navedenih od strane različitih autora (Sharp i Villano, 2013, Lewicka *et al.* 2012, Kampfmann *et al.* 2012, Thrall *et al.*, 2012, Antai *et al.*, 2009, Moore, 2000, Brkić *et al.*, 2011, Davidović *et al.*, 2007, 2010, Gikins i Clifford, 2008, Charles River Laboratories, 1998 i Hiellyer i Quesenberry, 1997), kao i od vrijednosti zabilježenih kod jedinki kontrolne grupe (111.11 - 155.56,  $\bar{x} = 131.48g/l$ ).

**Odnos uobličanih krvnih elemenata i krvne plazme** jedinki inficiranih ešerihijom i intoksikovanih olovo-acetatom je imao smanjene vrijednosti (u rasponu od 0.208 do 0.357, prosječno 0.290 l/l krvi) u odnosu na jedinke kontrolne grupe (0.259-0.381, prosječno 0.328), kao i vrijednosti navedene u literaturi (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Antai *et al.*, 2009; Oyeyemi *et al.*, 2009; Gikins i Clifford, 2008; Prichet i Corning, 2004; Charles River Laboratories, 1998, Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)).



**Grafikon br. 223 Broj eritrocita po litri krvi jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom**

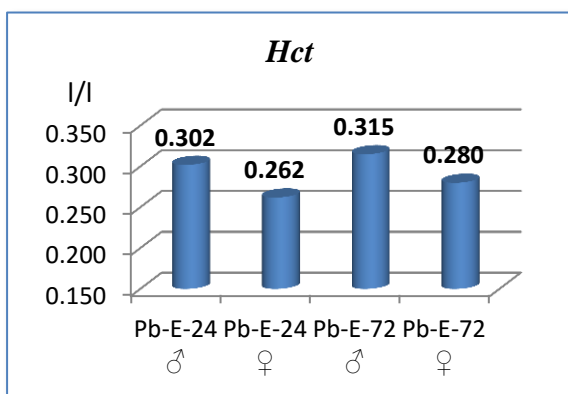


**Grafikon br. 224 Koncentracija hemoglobina u litri krvi jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom**

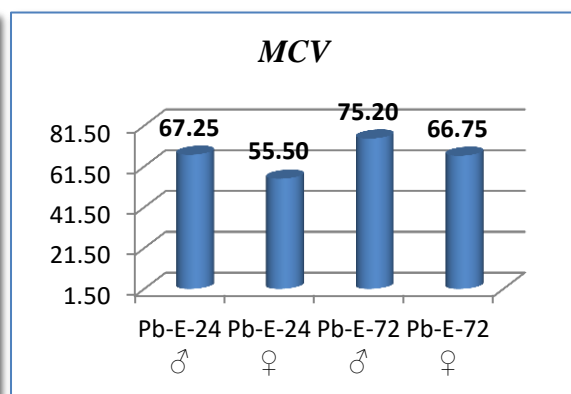
Hematološki indeksi **MCV**, **MCH** i **MCHC** su takođe pokazali odstupanje u vrijednostima u odnosu na jedinke kontrolne grupe i navedene literaturne podatke. Tako se MCV kreće u rasponu od 45.09-99.31, prosječno 66.18 fl, većem od vrijednosti konstatovanih za kontrolne jedinke (32.21 - 49.60 fl,  $\bar{x} = 42.56$ ). Niže vrijednosti ovog parametra su naveli i Sharp i Villano, 2013, Lewicka *et al.*, 2012, Kampfmann *et al.*

2012, Thrall *et al.*, 2012, Moore, 2000, Charles River Laboratories, 1998 i Hiellyer i Quesenberry (1997) a Antai *et al.* (2009) i Gikins i Clifford, 2008 su dobili vrijednosti slične onim kod tretiranih jedinki.

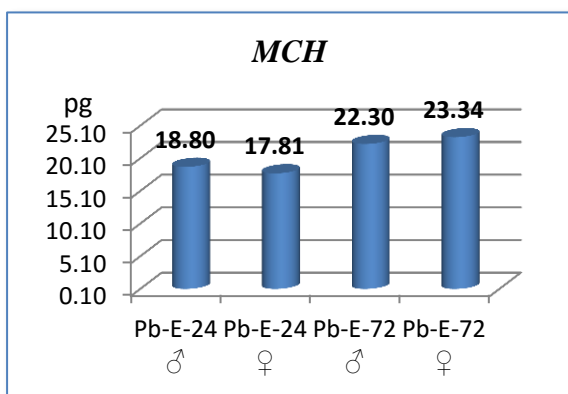
Višestrukom komparacijom dobijenih vrijednosti nisu uočena statistički značajna odstupanja ( $p > 0.050$ ) između jedinki različitih grupa tretiranih olovo-acetatom u koncentraciji od 1500 ppm putem vode *ad libitum* i inficiranih ešerihijom (0,2 ml rastvora bakterijske suspenzije CFU  $3 \times 10^7$ /ml *Escherichia coli*) (grafikoni 223-228).



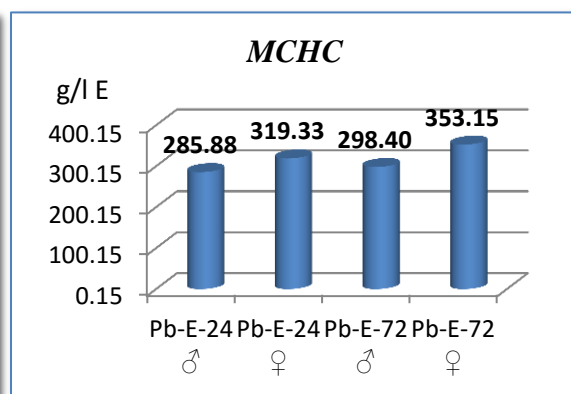
**Grafikon br. 225 Hematokrit jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom**



**Grafikon br. 226 MCV jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom**



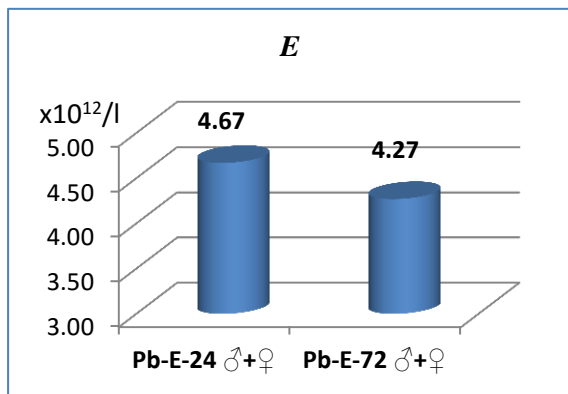
**Grafikon br. 227 MCH jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom**



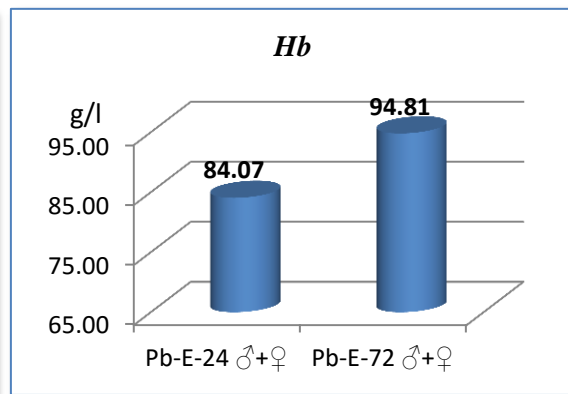
**Grafikon br. 228 MCHC jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom**

#### 4.2.4.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

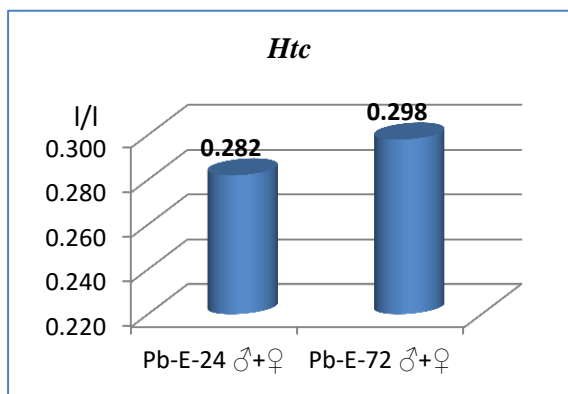
Poređenjem praćenih hematoloških parametara između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata (grafikoni 229-234) od intraperitonealnog ubrizgavanja bakterijske suspenzije nisu uočena statistički značajna odstupanja ( $p > 0.050$ ).



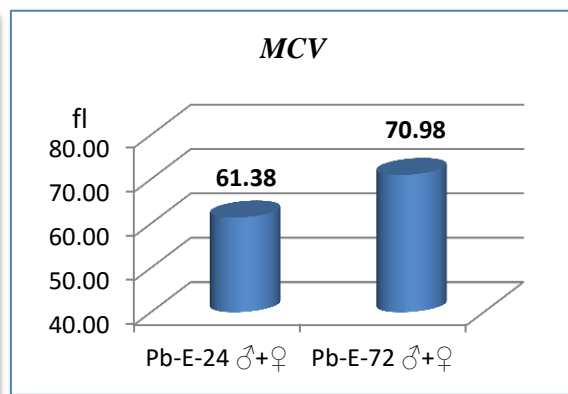
*Grafikon br. 229 Komparacija vrijednosti broja eritrocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata*



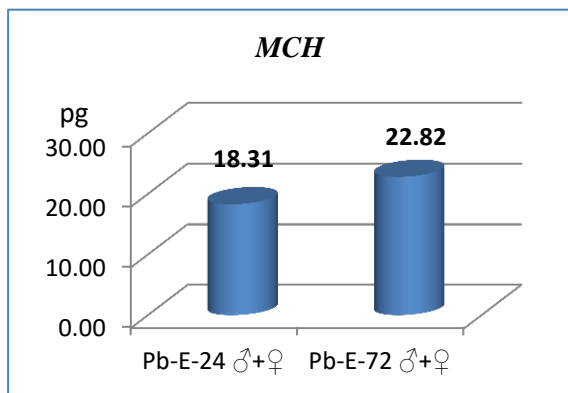
*Grafikon br. 230 Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata*



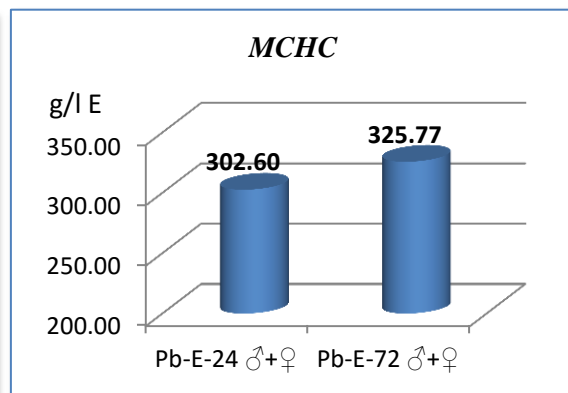
*Grafikon br. 231 Komparacija vrijednosti hematokrita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata*



*Grafikon br. 232 Komparacija vrijednosti MCV između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata*

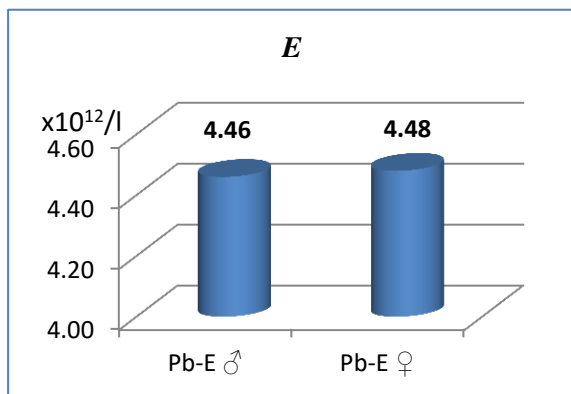


*Grafikon br. 233 Komparacija vrijednosti MCH između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata*

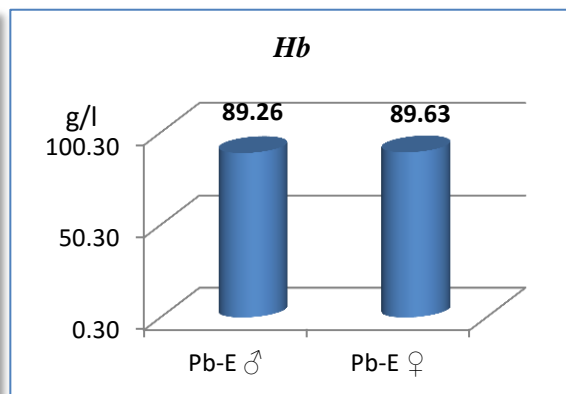


*Grafikon br. 234 Komparacija vrijednosti MCHC između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata*

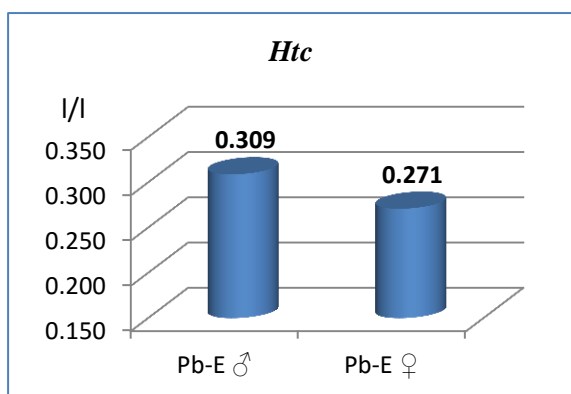
4.2.4.2. Eritrogram i pol



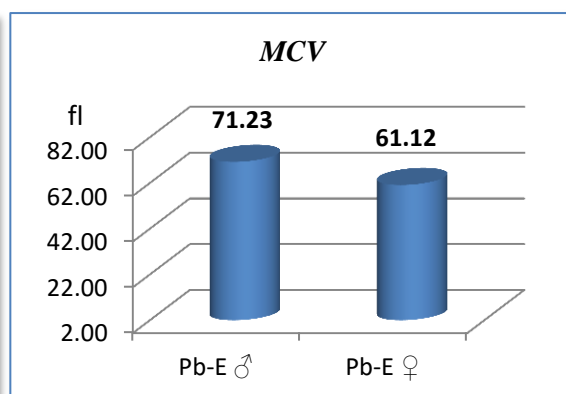
Grafikon br. 235 Komparacija vrijednosti broja eritrocita između mužjaka i ženki



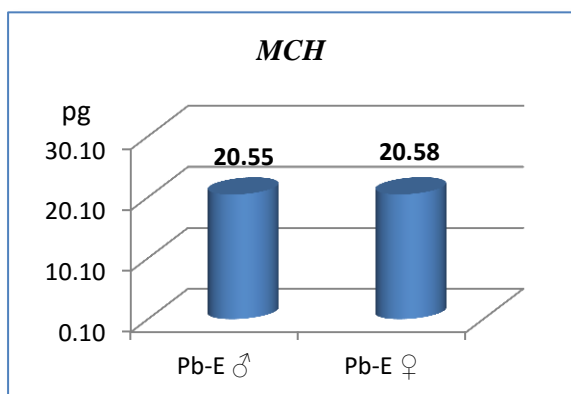
Grafikon br. 236 Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između mužjaka i ženki



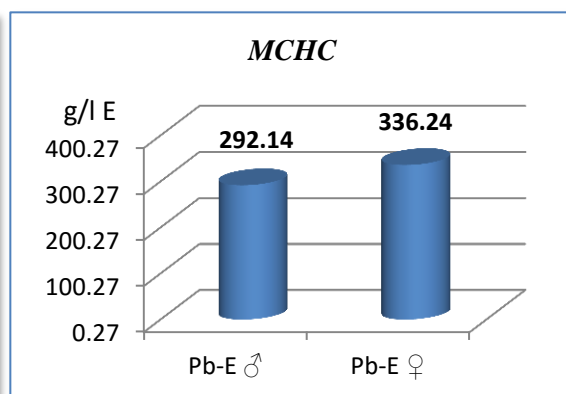
Grafikon br. 237 Komparacija vrijednosti hematokrita između mužjaka i ženki



Grafikon br. 238 Komparacija vrijednosti MCV između mužjaka i ženki



Grafikon br. 239 Komparacija vrijednosti MCH između mužjaka i ženki



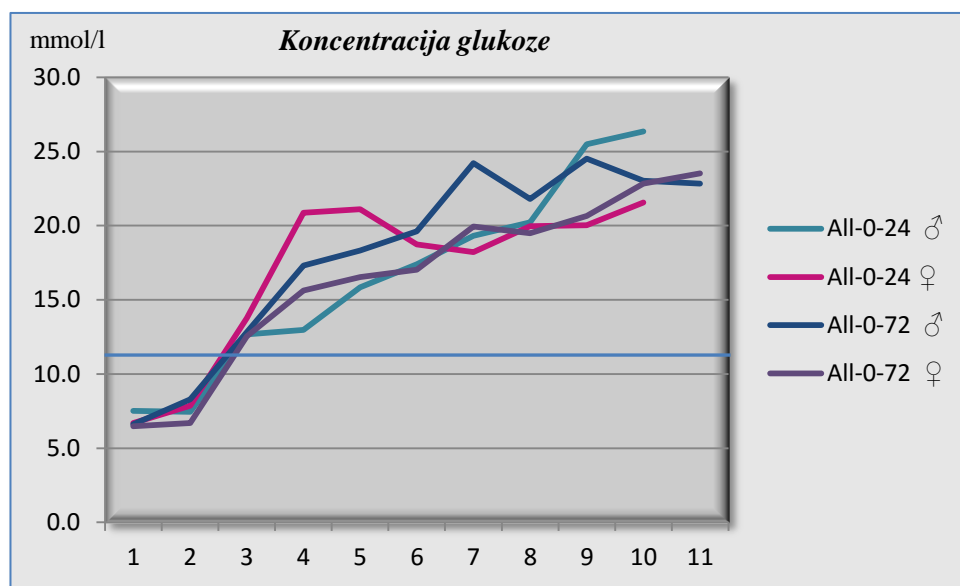
Grafikon br. 240 Komparacija vrijednosti MCHC između mužjaka i ženki

Primjenom nezavisnog T testa na uzorke različitog pola tretirane olovo-acetatom i inficirane ešerihijom koli (grafikoni 235-240) ne uočavaju se statistički signifikantne razlike ( $p > 0.050$ ) praćenih parametara eritrograma.



## 4.2.5. Tretman aloksanom (All-0)

Jedinke su tretirane aloksanom u cilju postizanja stabilne hiperglikemije (>11 mmol glukoze po litri krvi), koja je održavana do okončanja eksperimenta (grafikon 241).



**Grafikon br. 241** Koncentracija glukoze u krvi pacova tretiranih aloksanom

Jedinkama je 24, odnosno 72 časa nakon i.p. administracije 0.2 ml fiziološkog rastvora uzeta krv kardijalnom punkcijom. Vrijednosti eritrograma su predstavljene u tabeli 25.

Dobijene vrijednosti **broja eritrocita u litri krvi** pacova tretiranih aloksanom su se kretale od 4.44 - 7.06, prosječno  $5.98 \times 10^{12}$ , što je u saglasnosti sa podacima navedenim kod Sharp i Villano (2013), Prichet i Corning (2004), Charles River Laboratories (1998) i Hiellyer i Quesenberry (1997). U odnosu na vrijednosti broja eritrocita zabilježene kod Thrall *et al.* (2012), Lewicka *et al.* (2012), Kampfmann *et al.* (2012), Brkić *et al.* (2011), Davidović *et al.* (2010, 2007), Moore (2000) i Oyeyemi *et al.* (2009), kao i kod jedinki kontrolne grupe, manji broj eritrocita je izbrojan kod jedinki tretiranih aloksanom, dok Antai *et al.* (2009) navode još niže vrijednosti kao uobičajene za zdrave jedinke ( $4.44 \pm 0.15 \times 10^{12}/l$  krvi).

**Konzentracija hemoglobina** u krvi je bila snižena kod jedinki tretiranih aloksanom, u odnosu na jedinke kontrolne grupe (111.11 - 155.56,  $\bar{x} = 131.48g/l$ ) i kretala se od 44.44 - 151.58g/l, prosječno 102.96g/l, što je niže i od navedenih literaturnih podataka (Sharp i Villano, 2013, Lewicka *et al.* 2012, Kampfmann *et al.* 2012, Thrall *et al.*, 2012, Antai *et al.*, 2009, Moore, 2000, Brkić *et al.*, 2011, Davidović

*et al.*, 2007, 2010, Gikins i Clifford, 2008, Charles River Laboratories, 1998 i Hiellyer i Quesenberry, 1997).

**Tabela br. 25 Parametri crvene loze jedinki tretiranih aloksanom (All-0)**

		<b>E</b> ( $\times 10^{12}/l$ )	<b>Hb</b> (g/l)	<b>Hct</b> (l/l)	<b>MCV</b> (fl)	<b>MCH</b> (pg)	<b>MCHC</b> (g/l E)
<b>All-0-24</b> ♂	1	6.25	62.96	0.200	32.00	10.07	314.81
	2	6.47	118.52	0.208	32.20	18.32	568.89
	3	6.23	111.11	0.261	41.87	17.83	425.93
	4	6.24	92.59	0.185	29.68	14.84	500.00
	5	6.01	77.78	0.167	27.73	12.94	466.67
<b>All-0-24</b> ♀	1	6.24	133.33	0.291	46.63	21.37	458.19
	2	5.77	114.81	0.250	43.33	19.90	459.26
	3	5.58	62.96	0.296	53.10	11.28	212.50
	4	5.40	151.85	0.259	48.01	28.12	585.71
	5	5.85	114.81	0.182	31.08	19.63	631.48
<b>All-0-72</b> ♂	1	4.77	118.52	0.259	54.35	24.85	457.14
	2	5.71	100.00	0.313	54.73	17.51	320.00
	3	6.54	125.93	0.370	56.63	19.25	340.00
	4	5.23	100.00	0.348	66.51	19.12	287.50
	5	6.28	44.44	0.421	67.05	7.08	105.56
<b>All-0-72</b> ♀	1	6.23	103.70	0.321	51.59	16.65	322.63
	2	6.19	107.41	0.211	34.01	17.35	510.18
	3	7.06	133.33	0.364	51.51	18.89	366.67
	4	5.64	92.59	0.320	56.74	16.42	289.35
	5	5.92	92.59	0.214	36.20	15.64	432.10
<b>All-0</b>	<b>AVG</b>	<b>5.98</b>	<b>102.96</b>	<b>0.272</b>	<b>45.75</b>	<b>17.35</b>	<b>402.73</b>
	<b>MIN</b>	<b>4.77</b>	<b>44.44</b>	<b>0.167</b>	<b>27.73</b>	<b>7.08</b>	<b>105.56</b>
	<b>MAX</b>	<b>7.06</b>	<b>151.85</b>	<b>0.421</b>	<b>67.05</b>	<b>28.12</b>	<b>631.48</b>
	<b>STDEV</b>	<b>0.51</b>	<b>26.37</b>	<b>0.072</b>	<b>12.20</b>	<b>4.79</b>	<b>130.99</b>
	<b>COV</b>	<b>8.55</b>	<b>25.61</b>	<b>26.319</b>	<b>26.66</b>	<b>27.60</b>	<b>32.53</b>

**Hematokrit** dijabetičnih jedinki se kretao od 0.167 - 0.421 l/l krvi, sa srednjom vrijednosti od 0.272 l/l krvi, niže od svih navedenih opsega datog parametra kod različitih autora (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Antai *et al.*, 2009; Oyeyemi *et al.*, 2009; Gikins i Clifford, 2008; Prichet i Corning, 2004; Charles River Laboratories, 1998, Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)), kao i vrijednosti dobijenih za jedinke kontrolne grupe (0.259 - 0.381,  $\bar{x}$  = 0.328).

Hematološki indeksi MCV i MCH su neznatno viši, a MCHC malo niži od onih zabilježenih kod jedinki kontrolne grupe.

**MCV** je pokazao vrijednosti od 27.73 - 67.05, prosječno 45.75 fl, što je u skladu sa podacima publikovanim od strane Lewicka *et al.* (2012) i niže od vrijednosti navedenih kod ostalih istraživača (Sharp i Villano, 2013, Kampfmann *et al.* 2012, Thrall *et al.*, 2012, Moore, 2000, Antai *et al.*, 2009, Gikins i Clifford, 2008, Charles River Laboratories, 1998 i Hiellyer i Quesenberry, 1997).

Vrijednosti hematološkog parametra **MCH** su imale raspon od 7.08 - 28.12, sa prosjekom od 17.35 pg, što se može dovesti u saglasnost sa publikovanim vrijednostima za zdrave jedinke (Sharp i Villano, 2013, Kampfmann *et al.* 2012, Thrall *et al.*, 2012, Moore, 2000, Antai *et al.*, 2009, Gikins i Clifford, 2008, Charles River Laboratories, 1998 i Hiellyer i Quesenberry, 1997). Antai i saradnici (2009) su zabilježili znatno više vrijednosti ovog parametra ( $31.8 \pm 1.28$  pg).

Hematološki indeks **MCHC** se kretao od minimalno 105.56 do maksimalno 631.48 g/l eritrocita, dok je srednja vrijednost iznosila 402.73 g/l eritrocita. Ovakva prosječna vrijednost je neznatno niža od one dobijene za jedinke kontrolne grupe, viša od vrijednosti zabilježenih kod Sharp i Villano (2013), Thrall *et al.* (2012), Lewicka *et al.* (2012), Kampfmann *et al.* (2012), Brkić *et al.* (2011), Gikins i Clifford (2008), Charles River Laboratories (1998), Hiellyer i Quesenberry (1997) i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html) i niža od istih publikovanih od strane Antai i saradnici (2009).

Helal i saradnici (2005) su uočili da četiri nedelje nakon podkožne aplikacije aloksana u dozi od 120 mg/kg tjelesne mase i postizanja stabilne hiperglikemije dolazi do značajnih promjena u vrijednostima pojedinih hematoloških parametara. Što se tiče eritrograma, zabilježili su izuzetno značajno ( $p < 0.010$ ) smanjenje broja eritrocita po litri krvi, koncentracije hemoglobina i hematokrita kod dijabetičnih jedinki. Kao rezultat toksičnosti aloksana, pacovi su razvili anemiju, koja je vjerovatno nastala usljed destrukcije eritrocita i smanjenja produkcije istih od strane koštane srži. Mnoge studije su pokazale da anemiju izaziva povećan nivo lipidne peroksidacije membrana eritrocita.

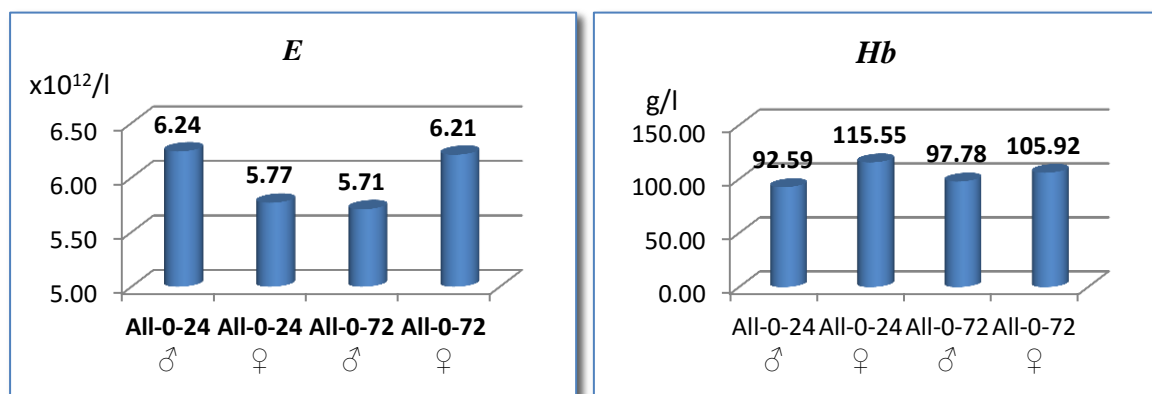
Azeez i saradnici (2010) su takođe konstatovali mikrocističnu hipohromnu anemiju kod pacova sa dijabetesom indukovanim aloksanom u dozi od 100 mg/kg tjelesne mase, i.p., uzrokovanu značajnim padom Hct, E, Hb i MCV vrijednosti. Smatraju da ovakva klinička slika nastaje usljed dvojakog dejstva aloksana na ubrzano

dijeljenje hemopoetskih ćelija i supresiju hemopoeze, kao rezultat nedostatka inzulina nastalog destrukcijom  $\beta$ -ćelija Langerhansovih ostrvaca pankreasa pod dejstvom aloksana.

Tri nedelje po izazivanju aloksanskog dijabetesa (150 mg/kg tjelesne mase, i.p.) u krvi Wistar pacova je uočeno, između ostalog, značajno smanjenje vrijedosti broja eritrocita, odnosa uobličjenih krvnih elemenata i krvne plazme, kao i poremećaji srčanog ritma, nastali usljed autonomnih disfunkcija srčanog i centralnog parasimpatičkog sistema povezanih sa dijabetesom (Mansi, 2006).

Signifikantno smanjenje broja eritrocita, koncentracije hemoglobina i vrijednosti hematokrita kod pacova sa aloksanskim dijabetesom (160 mg/kg tj.mase, i.p.), Muhammad i saradnici (2012) objašnjavaju nastalim oštećenjima eritrocita usljed povećane koncentracije ROS izazvane toksičnim dejstvom aloksana, kako navode i drugi autori. Hiperglikemija rezultuje povećanjem koncentracije glikoziliranog hemoglobina, što dovodi do smanjenja ukupne koncentracije hemoglobina u krvi pacova intoksikovanih aloksanom. Redukcija u količini hemoglobina može biti praćena smanjenjem broja eritrocita i vrijednosti hematokrita, što ukazuje na anemiju.

Sve dobijene vrijednosti eritrograma pacova različitih grupa tretiranih aloksanom su upoređene i grafički predstavljene (grafikoni 242-248).



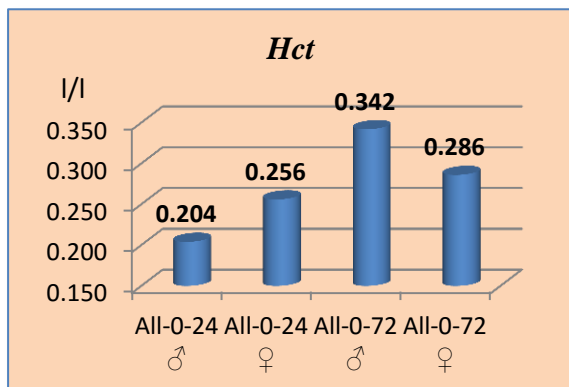
**Grafikon br. 242 Broj eritrocita po litri krvi jedinki tretiranih aloksanom**

**Grafikon br. 243 Koncentracija hemoglobina u litri krvi jedinki tretiranih aloksanom**

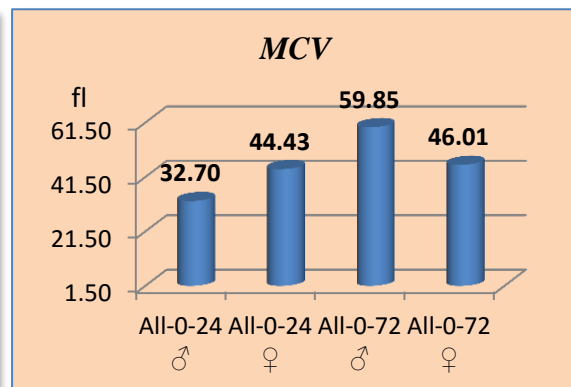
Vrijednosti praćenih parametara crvene loze: broj eritrocita po litri krvi, koncentracije hemoglobina u litri krvi, kao i hematoloških indeksa MCH i MCHC ne pokazuju statistički značajne razlike ( $p > 0.050$ ) između jedinki različitih grupa (All-0-24 ♂ i ♀, All-0-72 ♂ i ♀) tretiranih aloksanom.

S druge strane, odnos uobličjenih krvnih elemenata i krvne plazme je imao najveće vrijednosti kod jedinki All-0-72 ♂ u odnosu na jedinke grupa All-0-24 ♀

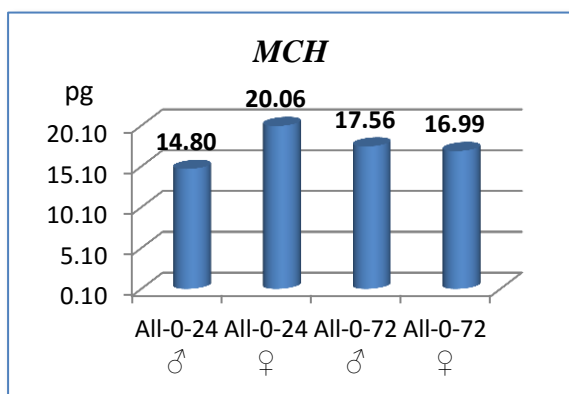
( $p=0.023$ ) i All-0-24 ♂ ( $p=0.001$ ), zatim kod jedinki grupe All-0-72 ♀ u odnosu na jedinke grupe All-0-24 ♂ ( $p=0.030$ ).



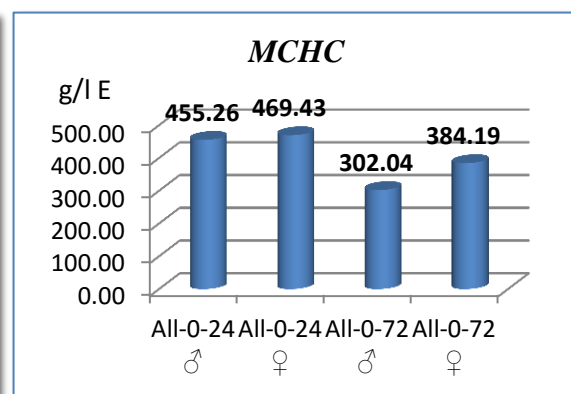
Grafikon br. 245 Hematokrit jedinki tretiranih aloksanom



Grafikon br. 246 MCV jedinki tretiranih aloksanom



Grafikon br. 247 MCH jedinki tretiranih aloksanom



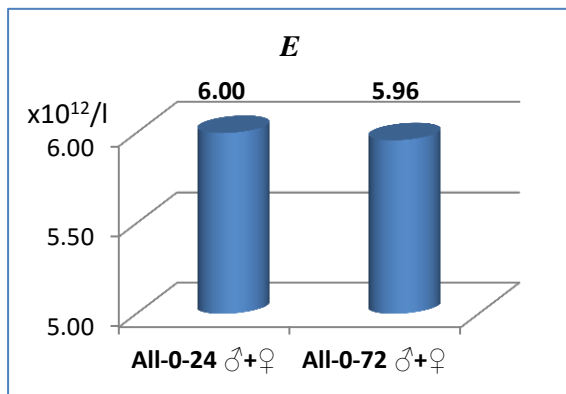
Grafikon br. 248 MCHC jedinki tretiranih aloksanom

Najniže zabilježene vrijednosti MCV su kod jedinki grupe All-0-24 ♂, signifikantno niže od jedinki grupa All-0-72 ♂ ( $p=0.000$ ), All-0-72 ♀ ( $p=0.016$ ) i All-0-24 ♀ ( $p=0.030$ ).

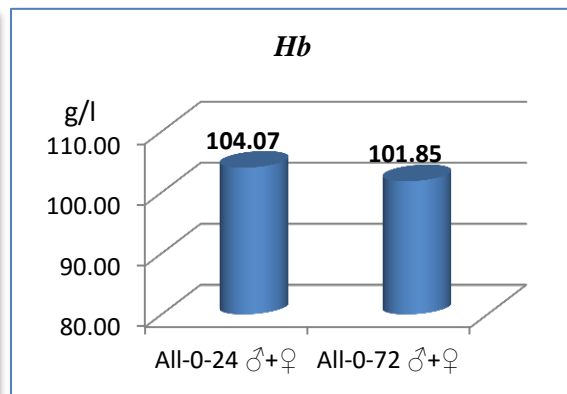
### 4.2.5.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

Posmatrajući dobijene vrijednosti jedinki žrtvovanih 24 časa od aplikacije fiziološkog rastvora i.p. u odnosu na jedinke žrtvovane 48 časova kasnije (grafikoni 249-254), statistički značajne razlike ( $p<0.050$ ) se uočavaju za vrijednosti hematokrita, MCV i MCHC, pri čemu je uočeno povećanje Hct ( $p=0.005$ ) i MCV ( $p=0.005$ ) i smanjenje MCHC ( $p=0.038$ ) kod jedinki žrtvovanih kasnije.

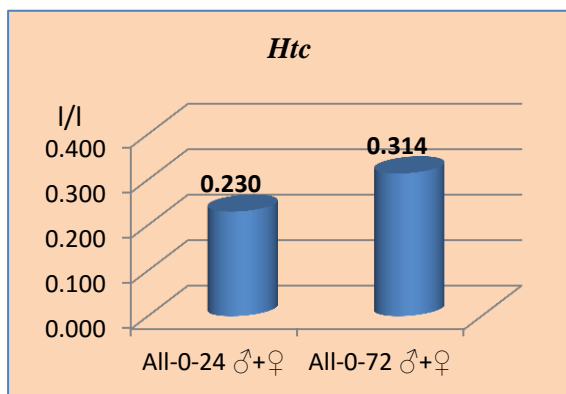
Ostale praćene vrijednosti crvene loze jedinki tretiranih aloksanom nisu pokazale statistički značajna odstupanja u odnosu na vrijeme žrtvovanja ( $p>0.050$ ).



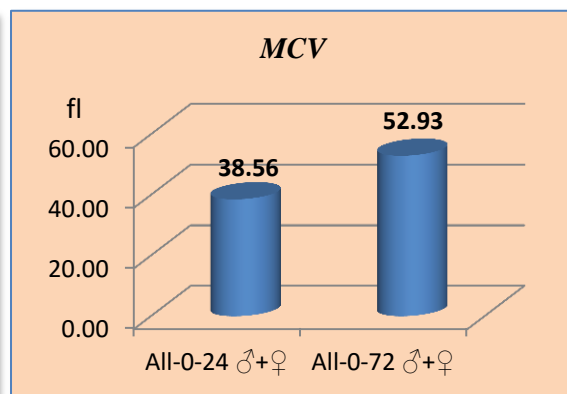
**Grafikon br. 249** Komparacija vrijednosti broja eritrocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



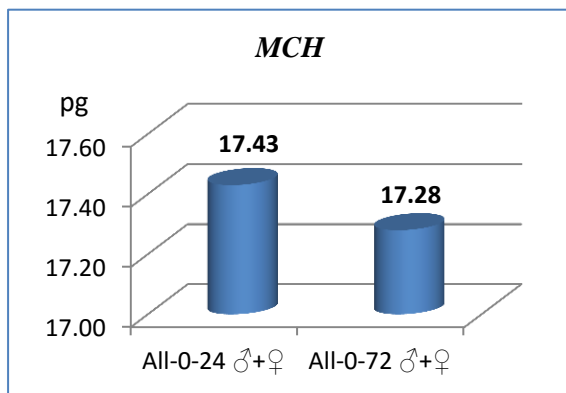
**Grafikon br. 250** Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



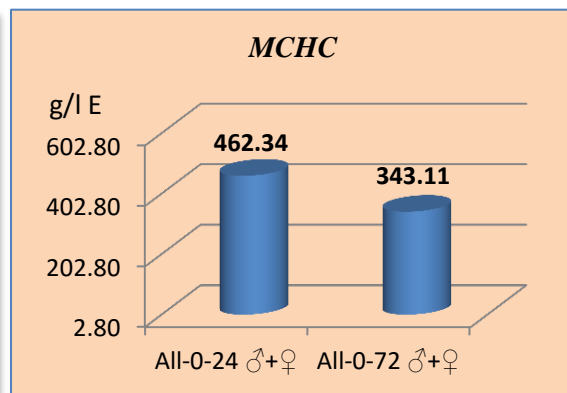
**Grafikon br. 251** Komparacija vrijednosti hematokrita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 252** Komparacija vrijednosti MCV između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



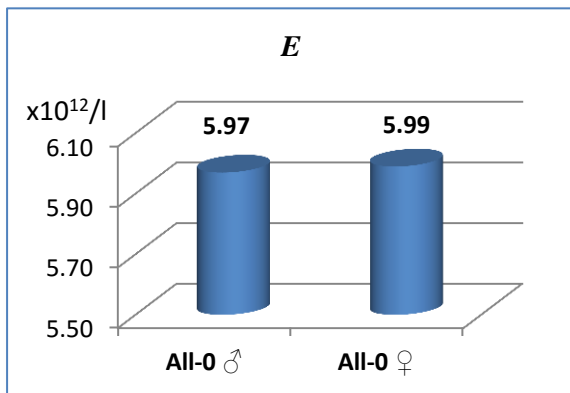
**Grafikon br. 253** Komparacija vrijednosti MCH između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



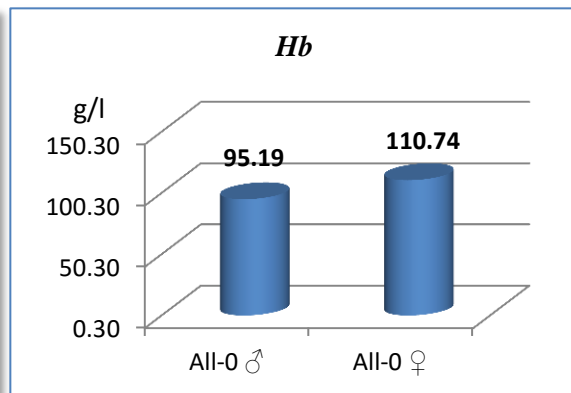
**Grafikon br. 254** Komparacija vrijednosti MCHC između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

## 4.2.5.2. Eritrogram i pol

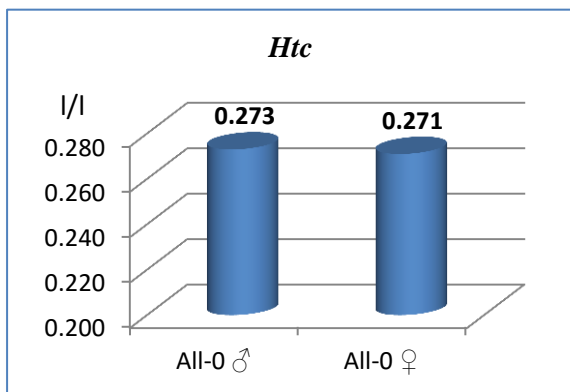
Upoređivanjem vrijednosti nezavisnim T testom za jedinke različitog pola tretirane aloksanom, statistički značajna razlika ( $p > 0.050$ ) nije uočena ni za jedan praćeni parametar (grafikoni 255-260).



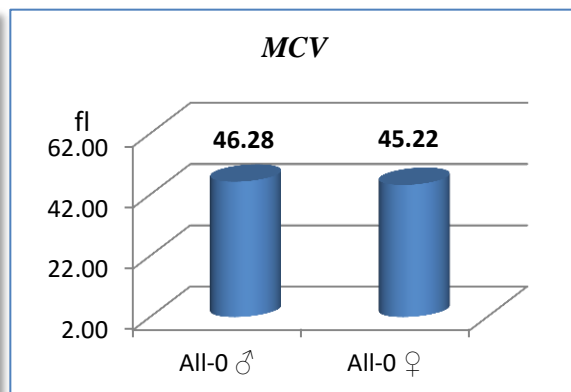
Grafikon br. 255 Komparacija vrijednosti broja eritrocita između mužjaka i ženki



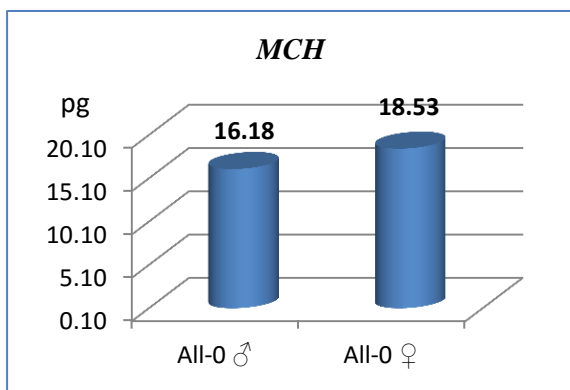
Grafikon br. 256 Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između mužjaka i ženki



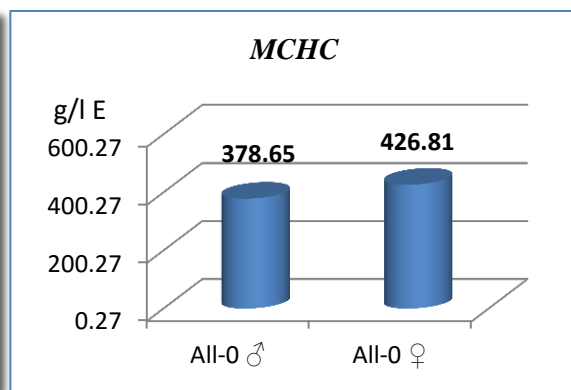
Grafikon br. 257 Komparacija vrijednosti hematokrita između mužjaka i ženki



Grafikon br. 258 Komparacija vrijednosti MCV između mužjaka i ženki



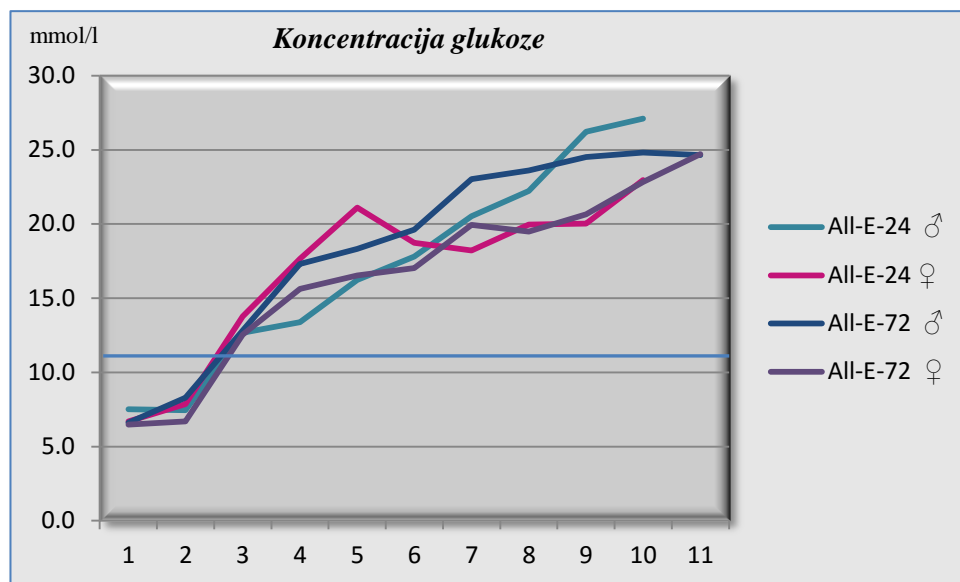
Grafikon br. 259 Komparacija vrijednosti MCH između mužjaka i ženki



Grafikon br. 260 Komparacija vrijednosti MCHC između mužjaka i ženki

### 4.2.6. Infekcija ešerihijom jediniki tretiranih aloksanom (All-E)

Četrnaest dana po postizanju stabilne hiperglikemije, jedinice sa aloksanskim dijabetesom (grafikon 261) su inficirane intraperitonealnom administracijom bakterijske suspenzije *Escherichia coli* i žrtvovane 24, odnosno 72 časa kasnije. Dobijene vrijednosti eritrograma su predstavljene u tabeli 26.



Grafikon br. 261 Koncentracija glukoze u krvi pacova tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom

Ukupan broj eritrocita pacova sa izraženom hiperglikemijom i bakterijskom infekcijom, se kretao od  $3.94$  do  $6.03 \times 10^{12}/l$  krvi, odnosno prosječne vrijednosti  $4.95 \times 10^{12}/l$  krvi, i bio smanjen u odnosu na kontrolnu grupu jediniki ( $7.04$ - $8.84 \times 10^{12}/l$ , prosječno  $7.71 \times 10^{12}/l$ ), kao i većinu literaturnih podataka (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Oyeyemi *et al.*, 2009; Prichet i Corning, 2004; Moore, 2000; Charles River Laboratories, 1999; Hiellyer i Quesenberry, 1997).

**Koncentracija hemoglobina** je takođe imala snižene vrijednosti kod tretiranih (51.85 - 122.22g/l,  $\bar{x} = 104.44g/l$ ) u odnosu na kontrolne jedinice (111.11 - 155.56,  $\bar{x} = 131.48g/l$ ) i referentne vrijednosti za zdrave, netretirane jedinice (Sharp i Villano, 2013, Lewicka *et al.* 2012, Kampfmann *et al.* 2012, Thrall *et al.*, 2012, Antai *et al.*, 2009, Moore, 2000, Brkić *et al.*, 2011, Davidović *et al.*, 2007, 2010, Gikins i Clifford, 2008, Charles River Laboratories, 1998 i Hiellyer i Quesenberry, 1997).

**Hematokrit** je kod tretiranih jediniki takođe bio snižen i kretao se u rasponu od 0.160 - 0.379 l/l krvi, prosječno 0.286 l/l krvi, što je dosta niže od vrijednosti



uobičajenih za zdrave jedinke (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Antai *et al.*, 2009; Oyeyemi *et al.*, 2009; Gikins i Clifford, 2008; Prichet i Corning, 2004; Charles River Laboratories, 1998, Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)), kao i za jedinke kontrolne grupe obuhvaćene ovim eksperimentom (0.259-0.381, prosječno 0.328).

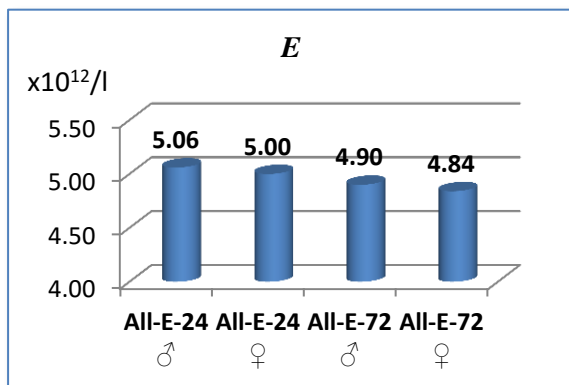
**Tabela br. 26 Parametri crvene loze inficiranih jedinki tretiranih aloksanom (All-E)**

		<b>E</b> (x10 <sup>12</sup> /l)	<b>Hb</b> (g/l)	<b>Hct</b> (l/l)	<b>MCV</b> (fl)	<b>MCH</b> (pg)	<b>MCHC</b> (g/l E)
<b>All-E-24</b> ♂	1	4.11	118.52	0.259	63.08	25.23	400.00
	2	5.23	114.81	0.286	54.63	21.95	401.85
	3	5.32	118.52	0.333	62.66	22.28	355.56
	4	4.67	107.41	0.379	81.22	20.62	253.87
	5	5.97	111.11	0.286	47.86	18.61	388.89
<b>All-E-24</b> ♀	1	6.03	103.70	0.291	48.26	17.20	356.37
	2	5.29	111.11	0.357	67.51	24.50	362.96
	3	5.60	114.81	0.250	44.64	20.50	459.26
	4	4.12	107.41	0.304	73.87	27.87	377.25
	5	3.94	122.22	0.313	79.31	31.02	391.11
<b>All-E-72</b> ♂	1	5.63	103.70	0.250	44.40	18.42	414.81
	2	5.10	85.19	0.278	54.47	16.70	306.67
	3	5.30	92.59	0.333	62.89	17.47	277.78
	4	4.37	111.11	0.318	72.81	25.43	349.21
	5	4.10	103.70	0.227	55.43	25.29	456.30
<b>All-E-72</b> ♀	1	5.53	51.85	0.160	28.93	9.38	324.07
	2	5.29	103.70	0.267	50.41	19.60	388.89
	3	5.30	88.89	0.314	59.30	16.77	282.83
	4	4.12	107.41	0.286	69.35	26.07	375.93
	5	3.94	111.11	0.238	60.43	28.20	466.67
<b>All-E</b>	<b>AVG</b>	<b>4.95</b>	<b>104.44</b>	<b>0.286</b>	<b>59.07</b>	<b>21.66</b>	<b>369.51</b>
	<b>MIN</b>	<b>3.94</b>	<b>51.85</b>	<b>0.160</b>	<b>28.93</b>	<b>9.38</b>	<b>253.87</b>
	<b>MAX</b>	<b>6.03</b>	<b>122.22</b>	<b>0.379</b>	<b>81.22</b>	<b>31.02</b>	<b>466.67</b>
	<b>STDEV</b>	<b>0.70</b>	<b>15.65</b>	<b>0.049</b>	<b>13.05</b>	<b>5.13</b>	<b>59.17</b>
	<b>COV</b>	<b>14.22</b>	<b>14.98</b>	<b>17.251</b>	<b>22.09</b>	<b>23.70</b>	<b>16.01</b>

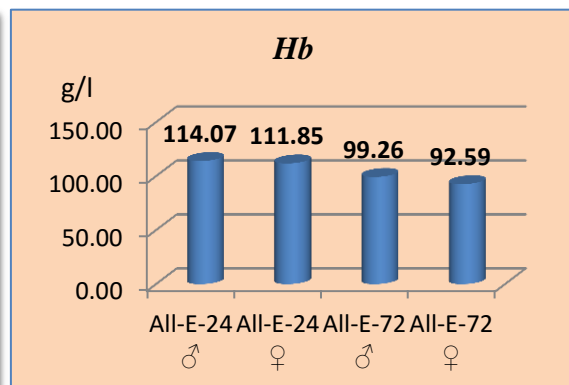
Hematološki indeksi **MCV** i **MCH** su imali više vrijednosti od onih dobijenih za jedinke kontrolne grupe, dok je u odnosu na iste **MCHC** imao niže vrijednosti. Sva tri parametra su prilično u saglasnosti sa literaturnim navodima (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012, Hiellyer i Quesenberry, 1997) bez većih odstupanja.

Višestrukom komparacijom srednjih vrijednosti pojedinih grupa pacova tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom, statistički značajna odstupanja se uočavaju

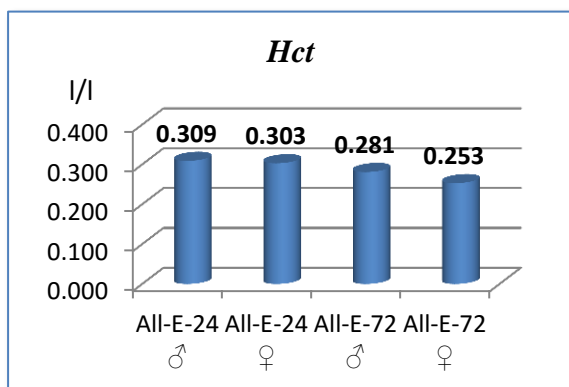
samo za vrijednosti koncentracije hemoglobina u krvi, dok drugi parametri ne pokazuju signifikantne razlike ( $p > 0.050$ ). Najniže vrijednosti koncentracije hemoglobina su izmjerene kod ženki grupe All-E-72 u odnosu na ženke ( $p = 0.043$ ) i mužjake ( $p = 0.026$ ) grupe All-E-24.



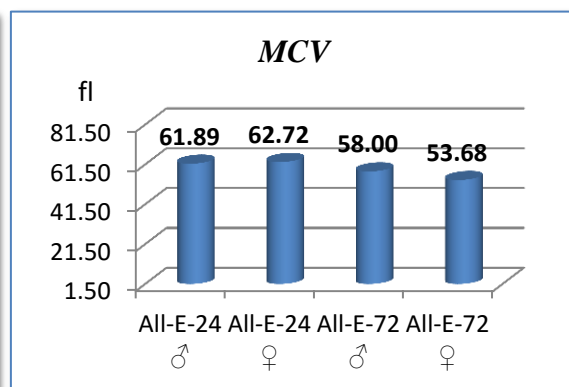
**Grafikon br. 262 Broj eritrocita po litri krvi jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom**



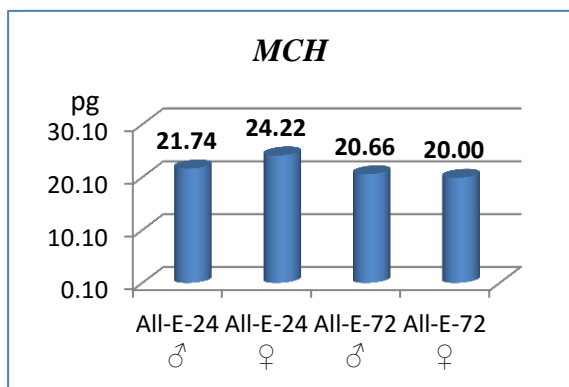
**Grafikon br. 263 Koncentracija hemoglobina u litri krvi jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom**



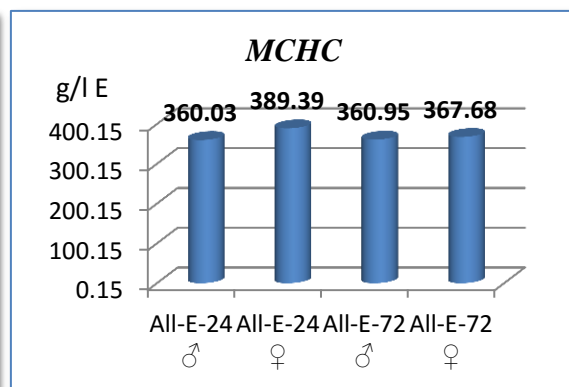
**Grafikon br. 264 Hematokrit jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom**



**Grafikon br. 265 MCV jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom**



**Grafikon br. 266 MCH jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom**



**Grafikon br. 267 MCHC jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom**

Ajiboye i Ojo (2014) su u hematološkom statusu hiperglikemičnih jedinki (intoksikovanih aloksanom u dozi od 150 mg/kg tjelesne mase) uočili brojne abnormalnosti, prvenstveno značajno sniženje broja eritrocita, koncentracije hemoglobina, snižene vrijednosti hematokrita i hematoloških indeksa MCV, MCH i MCHC. Autori navode razvoj anemije usljed destrukcije zrelih eritrocita, zbog reakcije glukoze sa hemoglobinom i nastanka glikoziliranog hemoglobina.

Onwuli i saradnici (2014) su uočili značajno smanjenje koncentracije hemoglobina u krvi pacova sa dijabetesom indukovanim injekcijom aloksana (80mg/kg) u odnosu na nedijabetogene jedinke.

Dallatu i saradnici (2010) su nakon mjesec dana u krvi pacova tretiranih aloksanom u dozi 150mg/kg konstatovali izuzetno značajno ( $p < 0.010$ ) smanjenje koncentracije hemoglobina i vrijednosti hematokrita u odnosu na jedinke kontrolne grupe. Za smanjen broj eritrocita, smanjene MCV i MCH vrijednosti i povećane MCHC vrijednosti nisu konstatovali statistički signifikantna odstupanja u odnosu na praćene parametre jedinki kontrolne grupe.

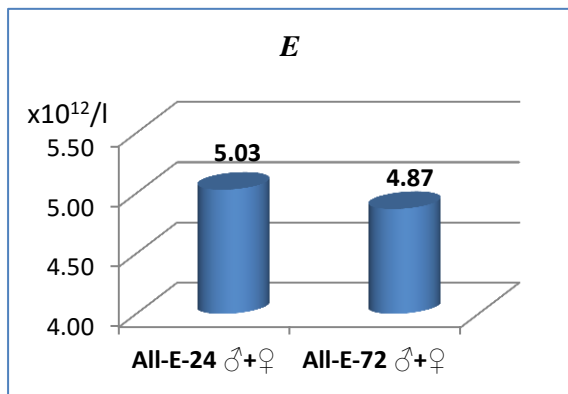
Pri četveronedeljnom aloksanski indukovanom dijabetesu (100mg/kg, i.p.) u krvi Wistar pacova, Saba i saradnici (2010) su uočili izuzetno značajno smanjenje koncentracije hemoglobina, broja eritrocita, vrijednosti hematokrita, kao i hematoloških indeksa MCV, MCH i MCHC.

Nakon eksperimentalnog perioda od 21 dan kod pacova tretiranih sa 40mg/kg aloksana, i.p., Nude *et al.* (2012) su zapazili značajno smanjenje broja eritrocita, kao i koncentracije hemoglobina u odnosu na netretirane jedinke.

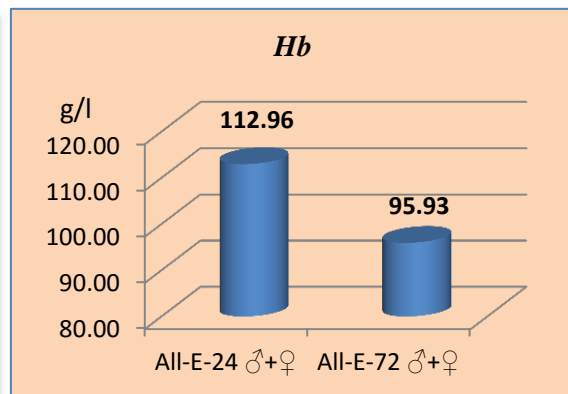
### 4.2.6.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

Primjenom nezavisnog T testa na vrijednosti dobijene za jedinke žrtvovane 24 u odnosu na one žrtvovane 72 časa od aplikacije bakterijske suspenzije, statistički značajna razlika konstatovana je samo za koncentraciju hemoglobina u krvi tretiranih jedinki. Pri tome, znatno niže vrijednosti tog parametra ( $p = 0.016$ ) su uočene kod jedinki duže izloženih infekciji.

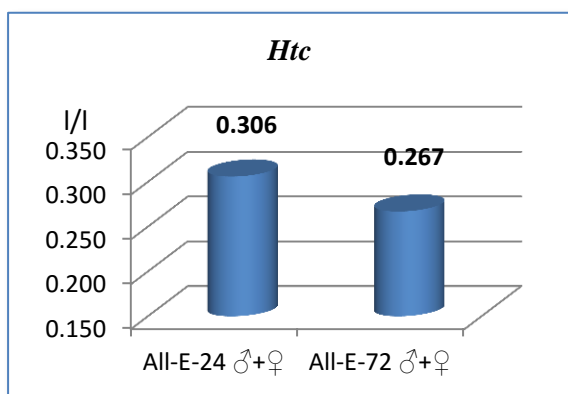
Za ostale parametre konstatovane razlike nisu u opsegu statističke signifikantnosti ( $p > 0.050$ ).



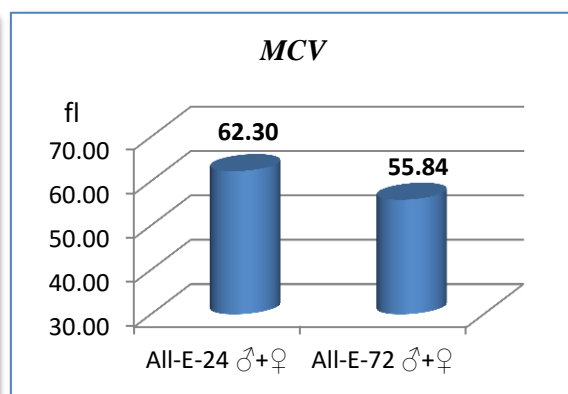
Grafikon br. 268 Komparacija vrijednosti broja eritrocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



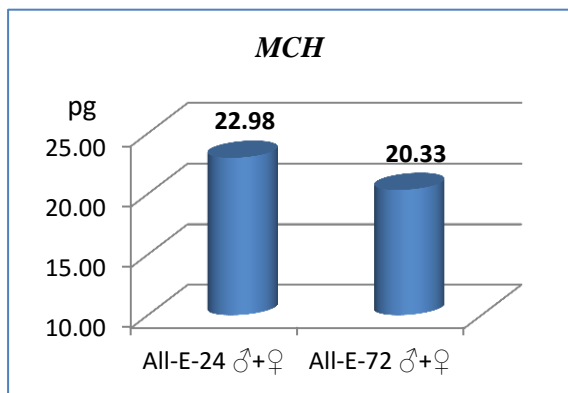
Grafikon br. 269 Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



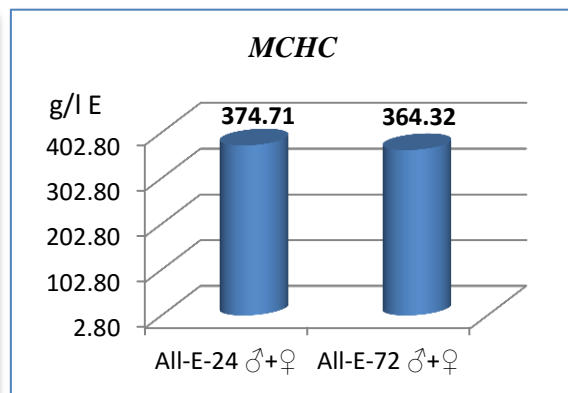
Grafikon br. 270 Komparacija vrijednosti hematokrita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



Grafikon br. 271 Komparacija vrijednosti MCV između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



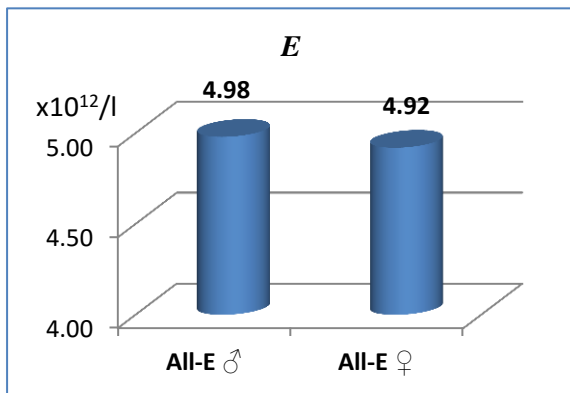
Grafikon br. 272 Komparacija vrijednosti MCH između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



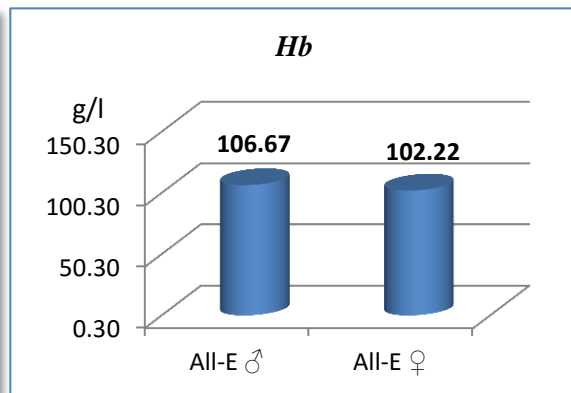
Grafikon br. 273 Komparacija vrijednosti MCHC između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

## 4.2.6.2. Eritrogram i pol

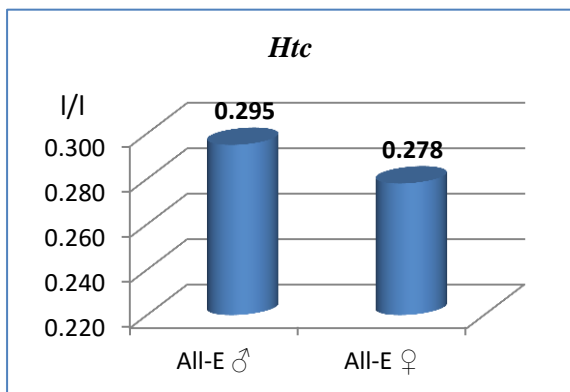
Dobijene vrijednosti parametara crvene loze jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom ne pokazuju statistički značajne razlike u odnosu na pol ( $p > 0.050$ ).



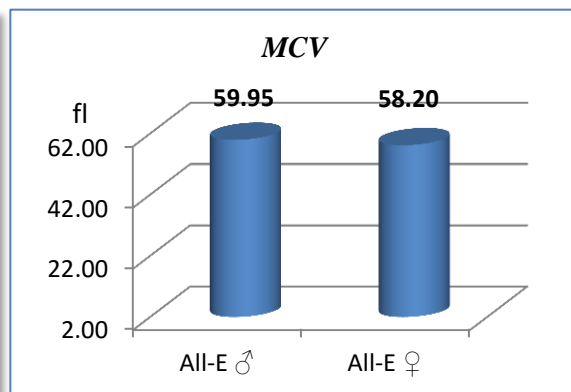
Grafikon br. 274 Komparacija vrijednosti broja eritrocita između mužjaka i ženki



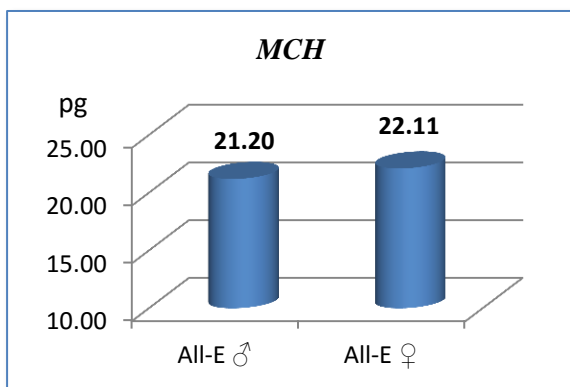
Grafikon br. 275 Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između mužjaka i ženki



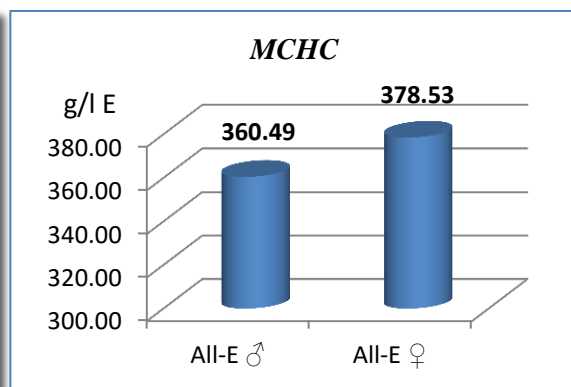
Grafikon br. 276 Komparacija vrijednosti hematokrita između mužjaka i ženki



Grafikon br. 277 Komparacija vrijednosti MCV između mužjaka i ženki



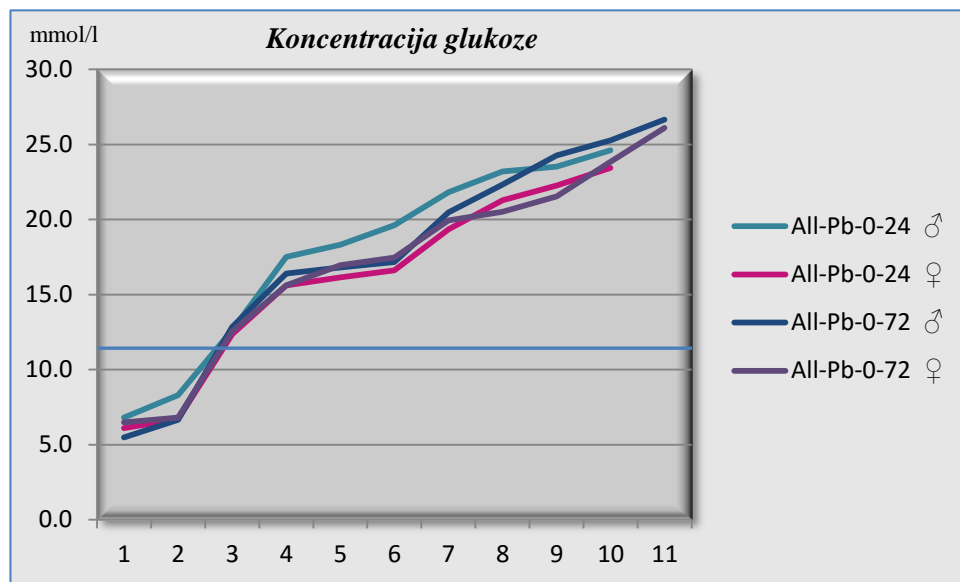
Grafikon br. 278 Komparacija vrijednosti MCH između mužjaka i ženki



Grafikon br. 279 Komparacija vrijednosti MCHC između mužjaka i ženki

### 4.2.7. Tretman aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-0)

Jedinke podvrgnute dvojnog tretmanu - intoksikaciji olovo-acetatom i aloksanom su četrnaest dana nakon dostizanja stabilne hiperglikemije (grafikon 280) dodatno podvrgnute stresu. Ubrizgano im je 0.2 ml fiziološkog rastvora intraperitonealno i 24, odnosno 72 časa kasnije su žrtvovane. Krv je prikupljena kardijalnom punkcijom i parametri crvene loze su izloženi u tabeli 27.



Grafikon br.280 Koncentracija glukoze u krvi pacova tretiranih aloksanom

**Broj eritrocita** u krvi pacova podvrgnutih sinergističkom dejstvu aloksana i olovo-acetata se kretao od  $4.10 - 5.77 \times 10^{12}/l$  krvi, sa prosječnom vrijednošću cijele grupe od  $4.83 \times 10^{12}/l$  krvi. Navedene vrijednosti su smanjene u odnosu na vrijednosti za zdrave jedinke izložene u literaturi (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Oyeyemi *et al.*, 2009; Prichet i Corning, 2004; Moore, 2000; Charles River Laboratories, 1999; Hiellyer i Quesenberry, 1997). Samo Antai i saradnici (2009) navode niže vrijednosti broja eritrocita ( $4.44 \pm 0.15 \times 10^{12}/l$ ) kao uobičajene za netretirane jedinke. Vrijednosti broja eritrocita jedinki kontrolne grupe ( $7.04 - 8.84 \times 10^{12}/l$ , prosječno  $7.71 \times 10^{12}/l$ ) su bile više nego kod jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom.

Dobijeni podaci za **koncentraciju hemoglobina** su se kretali u rasponu od 66.67 do 103.70 g/l krvi, sa srednjom vrijednošću od 95.00 g/l krvi, što je niže i od citiranih podataka drugih autora (Sharp i Villano, 2013, Lewicka *et al.* 2012, Kampfmann *et al.* 2012, Thrall *et al.*, 2012, Antai *et al.*, 2009, Moore, 2000, Brkić *et al.*, 2011, Davidović

*et al.*, 2007, 2010, Gikins i Clifford, 2008, Charles River Laboratories, 1998 i Hiellyer i Quesenberry, 1997) i od vrijednosti uočenih kod jedinki kontrolne grupe (od 111.11 do 155.56,  $\bar{x}$  =131.48g/l).

**Tabela br. 27 Parametri crvene loze jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-0)**

		<b>E</b> (x10 <sup>12</sup> /l)	<b>Hb</b> (g/l)	<b>Hct</b> (l/l)	<b>MCV</b> (fl)	<b>MCH</b> (pg)	<b>MCHC</b> (g/l E)
<b>All-Pb-0-24</b> ♂	1	4.56	103.70	0.250	54.82	22.74	414.81
	2	5.33	96.30	0.276	51.76	18.07	349.07
	3	5.67	100.00	0.286	50.39	17.64	350.00
	4	4.87	92.59	0.257	52.80	19.01	360.08
	5	5.77	103.70	0.286	49.52	17.97	362.96
<b>All-Pb-0-24</b> ♀	1	5.13	100.00	0.222	43.32	19.49	450.00
	2	5.29	92.59	0.263	49.75	17.50	351.85
	3	4.80	96.30	0.238	49.60	20.06	404.44
	4	4.52	100.00	0.280	61.95	22.94	370.37
	5	4.34	103.70	0.263	60.64	24.75	408.15
<b>All-Pb-0-72</b> ♂	1	4.93	92.59	0.240	48.68	18.78	385.80
	2	4.82	85.19	0.263	54.60	17.67	323.70
	3	4.87	92.59	0.250	51.33	19.01	370.37
	4	4.37	100.00	0.240	54.92	22.88	416.67
	5	4.10	103.70	0.227	55.43	25.29	456.30
<b>All-Pb-0-72</b> ♀	1	4.43	66.67	0.167	37.62	15.05	400.00
	2	4.79	92.59	0.214	44.74	19.33	432.10
	3	5.10	88.89	0.250	49.02	17.43	355.56
	4	4.52	96.30	0.240	53.10	21.30	401.23
	5	4.34	92.59	0.227	52.37	21.33	407.41
<b>All-Pb-0</b>	<b>AVG</b>	<b>4.83</b>	<b>95.00</b>	<b>0.247</b>	<b>51.32</b>	<b>19.91</b>	<b>388.54</b>
	<b>MIN</b>	<b>4.10</b>	<b>66.67</b>	<b>0.167</b>	<b>37.62</b>	<b>15.05</b>	<b>323.70</b>
	<b>MAX</b>	<b>5.77</b>	<b>103.70</b>	<b>0.286</b>	<b>61.95</b>	<b>25.29</b>	<b>456.30</b>
	<b>STDEV</b>	<b>0.45</b>	<b>8.52</b>	<b>0.028</b>	<b>5.51</b>	<b>2.70</b>	<b>36.16</b>
	<b>COV</b>	<b>9.36</b>	<b>8.97</b>	<b>11.381</b>	<b>10.73</b>	<b>13.57</b>	<b>9.31</b>

**Odnos uobličjenih elemenata i krvne plazme** je takođe imao niže vrijednosti od uobičajenih za netretirane jedinke (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Antai *et al.*, 2009; Oyeyemi *et al.*, 2009; Gikins i Clifford, 2008; Prichet i Corning, 2004; Charles River Laboratories, 1998, Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)), kao i od jedinki kontrolne grupe (0.259 - 0.381, prosječno 0.328) i kretao se od 0.167 - 0.286, prosječno 0.247 l/l krvi.

Hematološki indeks **MCV** je imao vrijednosti od 37.62 - 61.95 fl, prosječno 51.32fl, što je niže od vrijednosti navedenih kod Antai *et al.* (2009) i više od podataka publikovanih od strane Lewicka *et al.* (2012) za zdrave, netretirane jedinke i onih konstatovanih kod kontrolnih jedinki (32.21 - 49.60 fl, sa prosječnom vrijednosti ukupnog uzorka 42.56 fl), dok je u saglasnosti sa ostalim navedenim podacima različitih autora (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Charles River Laboratories, 1998; Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)).

Minimalne vrijednosti **MCH** su iznosile 15.05 pg, a maksimalne 25.29 pg, dok je prosjek uzorka iznosio 19.91 pg. Ove vrijednosti ne odstupaju mnogo od referentnih vrijednosti, približne su onim navedenim kod Sharp i Villano (2013), Thrall *et al.* (2012), Charles River Laboratories (1998), Hiellyer i Quesenberry (1997), niže od publikovanih kod Antai *et al.* (2009) i više od onih istaknutih od strane Lewicka *et al.* (2012), Kampfmann *et al.* (2012), kao i vrijednosti dobijenih za jedinke kontrolne grupe (prosječno 17.07 pg, od 13.65 - 20.49 pg).

Hematološki indeks **MCHC** je imao prosječnu vrijednost 388.54g/l eritrocita, dobijenu na osnovu opsega od 323.70-456.30 g hemoglobina na litru eritrocita, što je u saglasnosti sa Sharp i Villano (2013), kao i Antai *et al.* (2009) i iznad ostalih referentnih vrijednosti (Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Charles River Laboratories, 1998; Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)), a niže od vrijednosti uočenih kod kontrolnih jedinki (331.38 - 548.89 g/l, prosječno 405.75 g/l eritrocita).

Pri osmonedeljnoj intoksikaciji pacova olovo-acetatom koncentracije 100 mg/kg tjelesne mase, p.o., Abd El-Ghany *et al.* (2009) su uočili značajno smanjenje ukupnog broja eritrocita, koncentracije hemoglobina u krvi i odnosa uobličjenih elemenata i krvne plazme.

Mhammad *et al.* (2015) su primjetili kod pacova sa aloksanski indukovanim dijabetesom (150 mg/kg tjelesne mase, s.c.) signifikantne promjene hematoloških vrijednosti u odnosu na jedinke kontrolne grupe. Konstatovali su snižen broj eritrocita, smanjenu koncentraciju hemoglobina u krvi, kao i sniženu vrijednost hematokrita, dok su hematološki indeksi, MCV, MCH i MCHC imali nešto veće vrijednosti u odnosu na netretirane jedinke.



Smanjen ukupan broj eritrocita, sniženu koncentraciju hemoglobina, pad vrijednosti hematokrita i hematoloških indeksa MCV, MCH i MCHC u krvi Wistar pacova sa aloksanom (80 mg/kg, i.v.) izazvanom hiperglikemijom konstatovali su i Chigozie i Chidinma (2012).

Slične promjene u broju eritrocita i koncentraciji hemoglobina (smanjene vrijednosti) su pretrpili i miševi sa aloksanskim dijabetesom (120 mg/kg, i.p.), kako su zabilježili Sengupta *et al.* (2012), dok su smanjenje broja eritrocita i koncentracije hemoglobina u krvi pacova sa indukovanim dijabetesom (aloksan u dozi 40 mg/kg) publikovali i Mude *et al.* (2012).

Akah i saradnici (2009) su takođe uočili promjene u hematološkim vrijednostima dijabetičnih pacova (administracija aloksana u dozi od 70 mg/kg, i.v.). Međutim, oni su konstatovali povećanje vrijednosti hematokrita kao i koncentracije hemoglobina u krvi i vrijednosti MCHC pacova, dvadeset i osam dana od potvrde stabilne hiperglikemije.

Pri intoksikaciji pacova olovo-acetatom tokom 30 dana u različitim dozama (1/4, 1/8 i 1/16 olovo-acetat LD<sub>50</sub>, odnosno 61.94, 30.97 i 15.49 mg/kg tjelesne mase dnevno, p.o.) dolazi do značajnog smanjenja ukupnog broja eritrocita u krvi, snižavanja koncentracije hemoglobina i vrijednosti hematokrita u odnosu na zdrave, netretirane jedinke (El-Nahal, 2010).

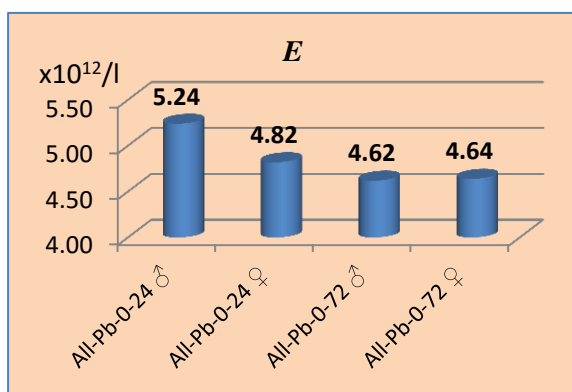
Abdou i Hassan (2014) su uočili da administracija olovo-acetata ženkama rezultuje signifikantnim padom vrijednosti koncentracije hemoglobina, hematokrita, kao i broja eritrocita. Olovo može izazvati oštećenja membrane eritrocita, što dovodi do hemolize i smanjenje nivoa željeza u krvi, što dalje dovodi do smanjene koncentracije hemoglobina u krvi intoksikovanih pacova. Ove hematološke promjene mogu nastati i zbog uticaja olova na aktivnost dehidrogenaze delta-aminolevulinske kiseline, koja djeluje kao ključni enzim u sintezi hema, što dovodi do smanjene produkcije Hb i kraćeg životnog vijeka eritrocita.

Pri intoksikaciji pacova olovo-acetatom u dozama 60 i 30 mg/kg tjelesne mase tokom dvanaest nedelja, Karamala *et al.* (2011) su konstatovali takođe značajno smanjenje broja eritrocita, koncentracije hemoglobina i vrijednosti hematokrita, usljed skraćenog životnog vijeka eritrocita i povećane fragilnosti njihove membrane, kao i inhibitornog efekta olova na enzime odgovorne za sintezu hema.

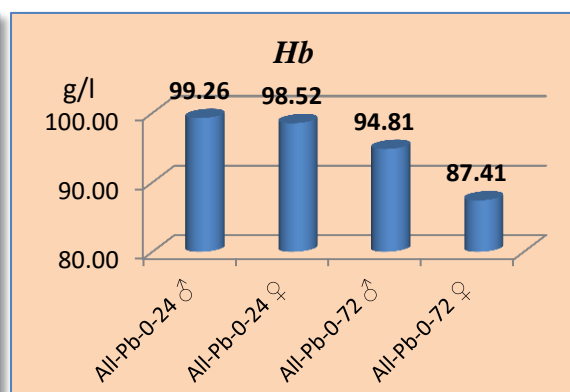
Akinloye i saradnici (2010) su vršili istraživanja koncentracije teških metala (Pb, Cd i As), kao i Se, poznatog antioksidanta, u krvi ljudi u zapadnoj Nigeriji, radi

utvrđivanja postojanja veze između eventualnog razvoja dijabetesa i zagađenja životne sredine teškim metalima. Utvrdili su da je u krvi dijabetičara, u odnosu na nedijabetičare, signifikantno veća koncentracija olova i kadmijuma, praćena nedostatkom selena, što upućuje na zaključak da ovi toksični metali predstavljaju jedan od faktora patogeneze dijabetesa kod ljudi.

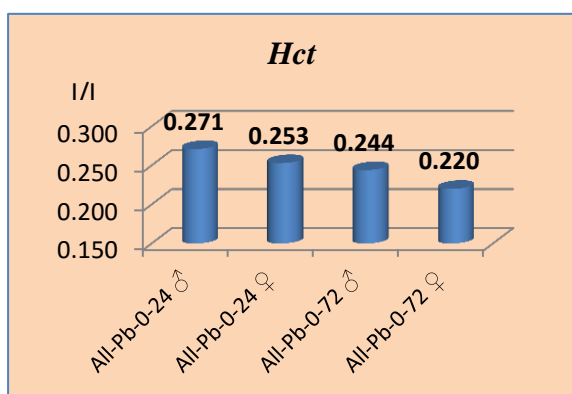
Upoređivanjem dobijenih vrijednosti jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom statistički značajna razlika ( $p < 0.050$ ) se uočava za broj eritrocita, koncentraciju hemoglobina i vrijednosti hematokrita, dok su srednje vrijednosti ostalih parametara bile ujednačene između različitih grupa (grafikoni 281-286).



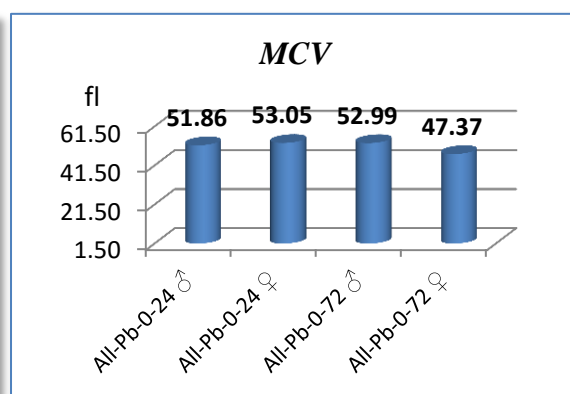
Grafikon br. 281 Broj eritrocita po litri krvi jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom



Grafikon br. 282 Koncentracija hemoglobina u litri krvi jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom



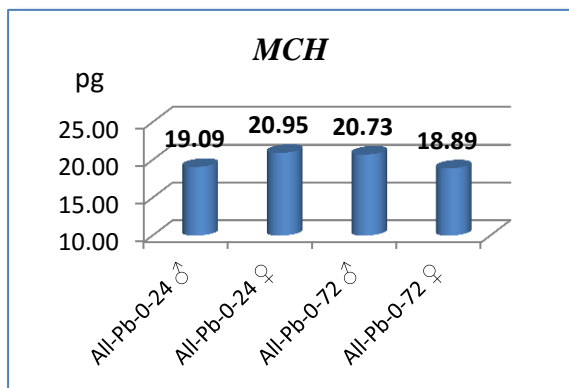
Grafikon br. 283 Hematokrit jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom



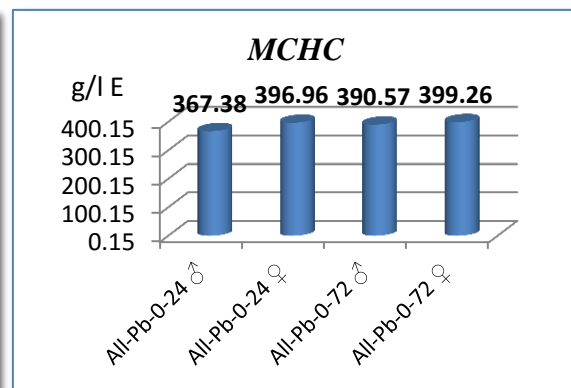
Grafikon br. 284 MCV jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom

Ukupan broj eritrocita u krvi jedinki grupa All-Pb-0-72 ♂ i All-Pb-0-72 ♀ je bio snižen u odnosu na jedinke izložene dejstvu aloksana i olovo-acetata 48 časova kraće, pri čemu se signifikantnost uočava u odnosu na mužjake grupe All-Pb-0-24 (All-Pb-0-24 ♂ : All-Pb-0-72 ♂,  $p=0.027$  i All-Pb-0-72 ♀ : All-Pb-0-24 ♂,  $p=0.031$ ).

Najniža vrijednost koncentracije hemoglobina je konstatovana kod ženki grupe All-Pb-0-72, značajno veća u odnosu na mužjake ( $p=0.026$ ) i ženke ( $p=0.036$ ) grupe All-Pb-0-24. Isti trend je uočen i za vrijednosti hematokrita, značajno snižene kod jedinki grupe All-Pb-0-72 ♀ u odnosu na jedinke grupe All-Pb-0-24 ♂ ( $p=0.002$ ) i All-Pb-0-24 ♀ ( $p=0.032$ ).



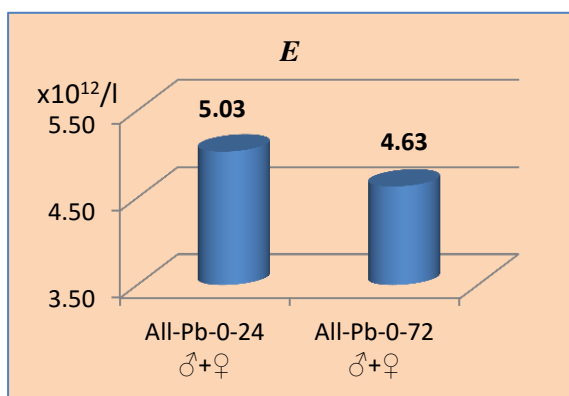
**Grafikon br. 285 MCH jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**



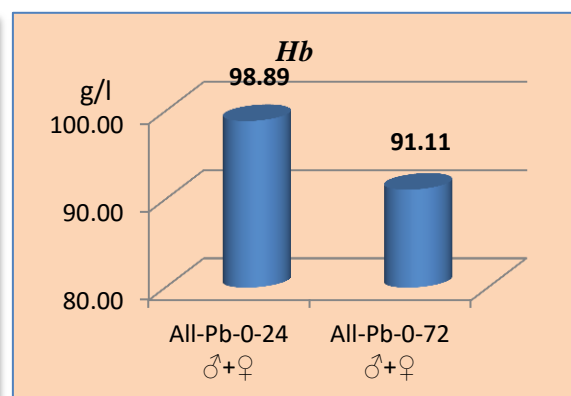
**Grafikon br. 286 MCHC jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**

### 4.2.7.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

Upoređivanjem dobijenih vrijednosti praćenih hematoloških parametara crvene loze pacova tretiranih aloksanom i olovo-acetatom, u odnosu na vrijeme žrtvovanja nakon 24 i 72 sata po i.p. aplikaciji 0,2 ml sterilnog fiziološkog rastvora, statistička signifikantost se uočava za broj crvenih ćelija, koncentraciju hemoglobina i udio uobličenih krvnih elemenata u plazmi (grafikoni 287-289).



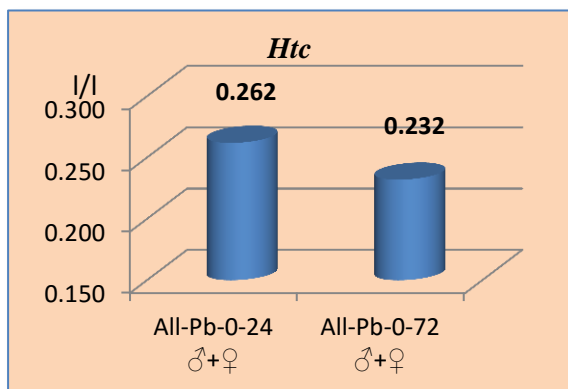
**Grafikon br. 287 Komparacija vrijednosti broja eritrocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata**



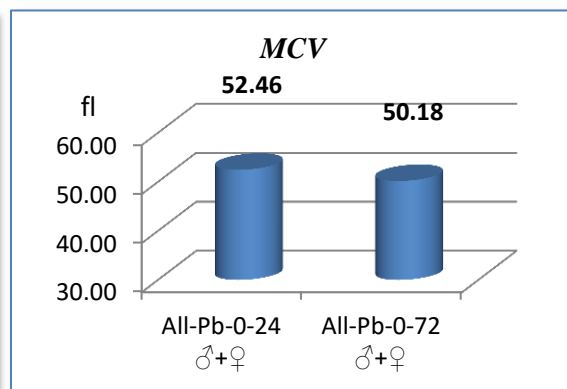
**Grafikon br. 288 Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata**

Navedeni parametri su bili značajno smanjeni kod jedinki žrtvovanih 48 časova kasnije (za E  $p=0.044$ , za Hb  $p=0.037$  i za Hct  $p=0.011$ ). <

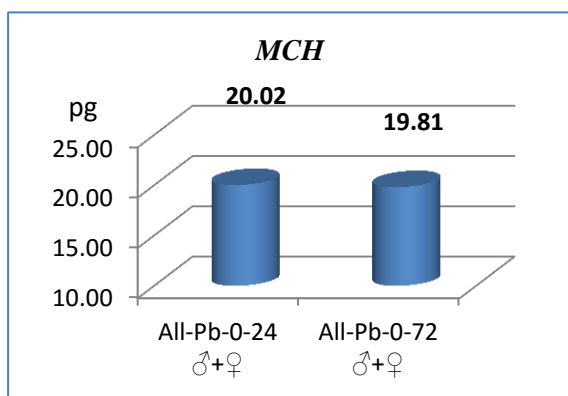
Nezavisni T test nije ukazao na statistički bitna odstupanja ( $p > 0.050$ ) vrijednosti ostalih paratetara dobijenih kardijalnom punkcijom jedinki žrtvovanih u različito vrijeme od injekcije fiziološkog rastvora (grafikoni 290-292).



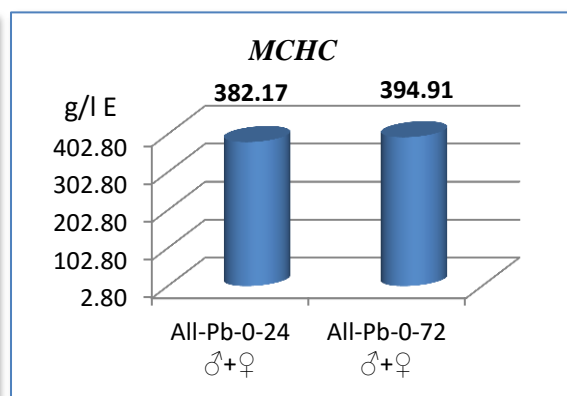
**Grafikon br. 289** Komparacija vrijednosti hematokrita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 290** Komparacija vrijednosti MCV između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



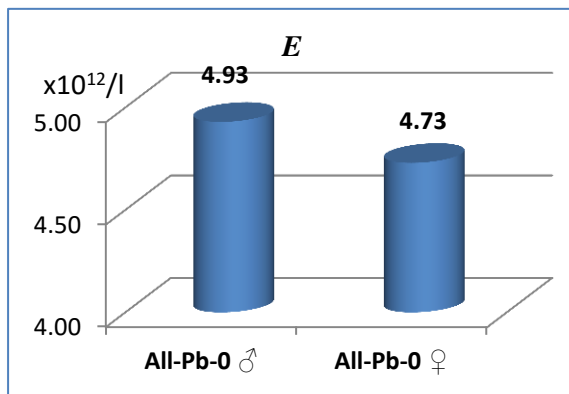
**Grafikon br. 291** Komparacija vrijednosti MCH između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



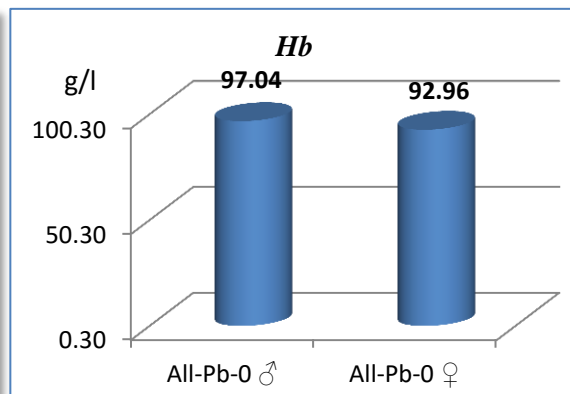
**Grafikon br. 292** Komparacija vrijednosti MCHC između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

### 4.2.7.2. Eritrogram i pol

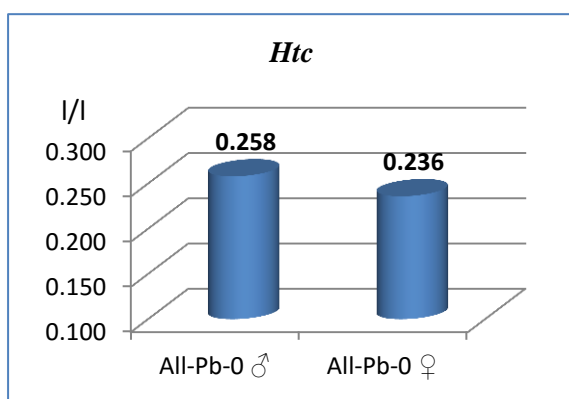
Primjenom istog testa na podatke dobijene za jedinke različitog pola intoksikovane olovo-acetatom i aloksanom ne uočavaju se statistički značajne razlike ( $p > 0.050$ ) praćenih hematoloških parametara: broj eritrocita u litri krvi, koncentracija hemoglobina u litri krvi, odnos uobličjenih elemenata i krvne plazme u l/l, srednjoj vrijednosti zapremine eritrocita, srednjoj vrijednosti količine hemoglobina u eritrocitu i srednjoj vrijednosti hemoglobina u litri eritrocita (grafikoni 293-298).



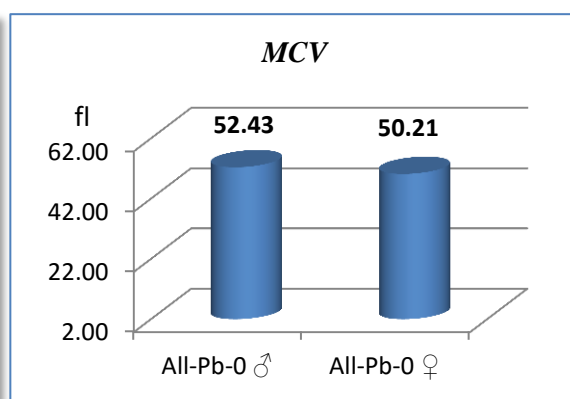
Grafikon br. 293 Komparacija vrijednosti broja eritrocita između mužjaka i ženki



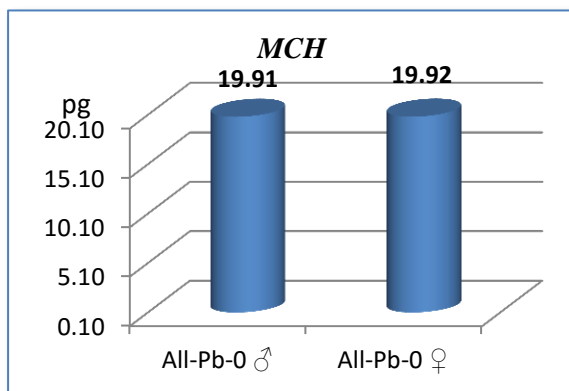
Grafikon br. 294 Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između mužjaka i ženki



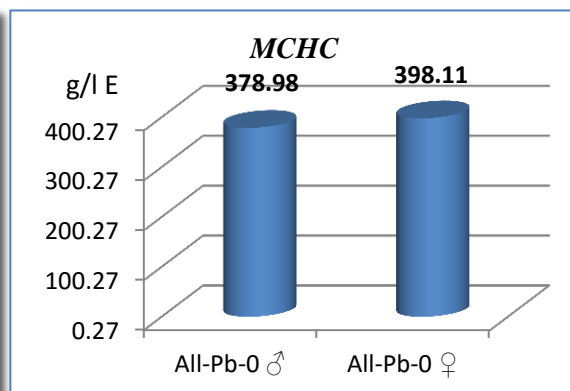
Grafikon br. 295 Komparacija vrijednosti hematokrita između mužjaka i ženki



Grafikon br. 296 Komparacija vrijednosti MCV između mužjaka i ženki



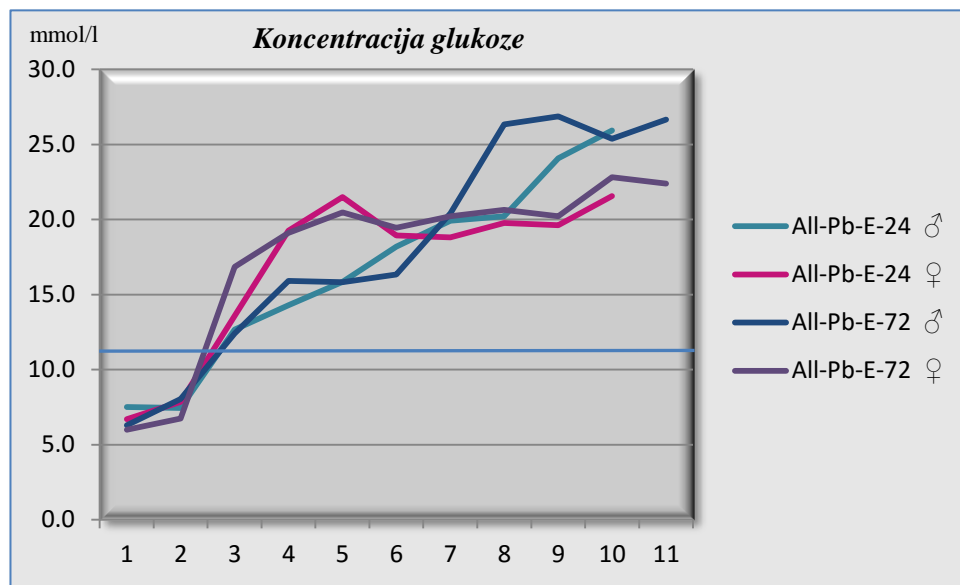
Grafikon br. 297 Komparacija vrijednosti MCH između mužjaka i ženki



Grafikon br. 298 Komparacija vrijednosti MCHC između mužjaka i ženki

### 4.2.8. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-E)

Četrnaest dana po postizanju stabilne hiperglikemije (grafikon 299), uz svakodnevnu intoksikaciju olovo-acetatom u koncentraciji od 1500 ppm putem vode *ad libitum*, jedinke sa aloksanskim dijabetesom su inficirane intraperitonealnom administracijom bakterijske suspenzije *Escherichia coli* i žrtvovane 24, odnosno 72 časa kasnije. Dobijene vrijednosti eritrograma su predstavljene u tabeli 28.



**Grafikon br. 299 Koncentracija glukoze u krvi pacova tretiranih aloksanom i olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom**

Vrijednosti **broja eritrocita** pacova intoksikovanih aloksanom i olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom su se kretale od 3.69 - 5.18, prosječno  $4.61 \times 10^{12}$ / krvi, što je niže od vrijednosti dobijenih za jedinke kontrolne grupe i većine uobičajenih vrijednosti za Wistar pacove (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Oyeyemi *et al.*, 2009; Prichet i Corning, 2004; Moore, 2000; Charles River Laboratories, 1999; Hiellyer i Quesenberry, 1997) i više od vrijednosti navedenih kod Antai i saradnika (2009).

Najniža izmjerena vrijednost **koncentracije hemoglobina** kod jedinki ove grupe je iznosila 59.26, a najviša 111.11 g/l. Srednja vrijednost ovog parametra je 87.04 g/l krvi, niže nego kod netretiranih jedinki kontrolnih grupa različitih eksperimenata (Sharp i Villano, 2013, Lewicka *et al.* 2012, Kampfmann *et al.* 2012, Thrall *et al.*, 2012, Antai *et al.*, 2009, Moore, 2000, Brkić *et al.*, 2011, Davidović *et al.*, 2007, 2010, Gikins i

Clifford, 2008, Charles River Laboratories, 1998 i Hiellyer i Quesenberry, 1997), kao i od vrijednosti uočenih kod jedinki kontrolne grupe ovog eksperimenta.

**Tabela br.28 Parametri crvene loze inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-E)**

		<b>E</b> (x10 <sup>12</sup> /l)	<b>Hb</b> (g/l)	<b>Hct</b> (l/l)	<b>MCV</b> (fl)	<b>MCH</b> (pg)	<b>MCHC</b> (g/l E)
<b>All-Pb-E-24</b> ♂	1	4.48	103.70	0.222	49.60	23.15	466.67
	2	4.80	100.00	0.200	41.67	20.83	500.00
	3	5.18	77.78	0.222	42.90	15.02	350.00
	4	4.78	111.11	0.273	57.06	23.24	407.41
	5	5.14	77.78	0.300	58.37	15.13	259.26
<b>All-Pb-E-24</b> ♀	1	5.07	92.59	0.286	56.35	18.26	324.07
	2	5.01	92.59	0.310	61.95	18.48	298.35
	3	4.78	96.30	0.267	55.79	20.15	361.11
	4	4.67	77.78	0.211	45.08	16.65	369.44
	5	4.52	81.48	0.222	49.16	18.03	366.67
<b>All-Pb-E-72</b> ♂	1	4.73	74.07	0.238	50.34	15.66	311.11
	2	4.72	96.30	0.160	33.90	20.40	601.85
	3	4.29	88.89	0.273	63.57	20.72	325.93
	4	4.43	100.00	0.306	68.97	22.57	327.27
	5	4.65	100.00	0.238	51.20	21.51	420.00
<b>All-Pb-E-72</b> ♀	1	4.57	81.48	0.174	38.06	17.83	468.52
	2	4.57	77.78	0.200	43.76	17.02	388.89
	3	3.80	74.07	0.267	70.18	19.49	277.78
	4	4.32	59.26	0.231	53.42	13.72	256.79
	5	3.69	77.78	0.238	64.52	21.08	326.67
<b>All-Pb-E</b>	<b>AVG</b>	<b>4.61</b>	<b>87.04</b>	<b>0.242</b>	<b>52.79</b>	<b>18.95</b>	<b>370.39</b>
	<b>MIN</b>	<b>3.69</b>	<b>59.26</b>	<b>0.160</b>	<b>33.90</b>	<b>13.72</b>	<b>256.79</b>
	<b>MAX</b>	<b>5.18</b>	<b>111.11</b>	<b>0.310</b>	<b>70.18</b>	<b>23.24</b>	<b>601.85</b>
	<b>STDEV</b>	<b>0.39</b>	<b>12.97</b>	<b>0.043</b>	<b>10.11</b>	<b>2.82</b>	<b>87.18</b>
	<b>COV</b>	<b>8.41</b>	<b>14.90</b>	<b>17.589</b>	<b>19.15</b>	<b>14.87</b>	<b>23.54</b>

**Hematokrit** je imao vrijednosti u rasponu od 0.160 - 0.310 l/l, prosječno 0.242 l/l, niže od konstatovanih kod netretiranih jedinki grupa K-0 i K-E, kao i referentnih literaturnih podataka (Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Davidović *et al.*, 2010, 2007; Antai *et al.*, 2009; Oyeyemi *et al.*, 2009; Gikins i Clifford, 2008; Prichet i Corning, 2004; Charles River Laboratories, 1998, Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Recources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)).

Hematološki indeks **MCV** se kretao od 33.90 - 70.18 fl, sa srednjom vrijednošću od 52.79 fl. Većina autora navodi slične vrijednosti ovog parametra (Sharp i Villano, 2013; Kampfmann *et al.*, 2012; Thrall *et al.*, 2012; Gikins i Clifford, 2008; Charles River Laboratories, 1998;), mada su navede i niže vrijednosti kod Hiellyer i Quesenberry (1997) i Antai *et al.* (2009) i više kod Lewicka *et al.* (2012). Jedinke kontrolne grupe obuhvaćene ovim eksperimentom su pokazale niže vrijednosti MCV.

**MCH**, 13.72-23.24, prosječno 18.95 pg se nalazi u saglasnosti sa mnogim literaturnim podacima navedenim kod Sharp i Villano (2013), Thrall *et al.* (2012), Charles River Laboratories (1998), Hiellyer i Quesenberry (1997). Dobijene vrijednosti niže su od publikovanih kod Antai *et al.* (2009) i više od onih istaknutih od strane Lewicka *et al.* (2012), Kampfmann *et al.* (2012), kao i vrijednosti dobijenih za jedinke kontrolne grupe.

Minimalnu vrijednost **MCHC** je imala ženka grupe All-Pb-E-72, 256.79 g/l E, a na višu mužjak iste grupe, 601.85 g/l E. Prosječna vrijednost MCHC ukupnog uzorka je iznosila 370.39 g/l eritrocita, što je više od vrijednosti navedenih kod većine autora (Thrall *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Lewicka *et al.*, 2012; Brkić *et al.*, 2011; Charles River Laboratories, 1998; Hiellyer i Quesenberry, 1997 i Research Animal Resources, [www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html](http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html)), približno vrijednostima publikovanim od strane Sharp i Villano (2013) i Gikins i Clifford (2008) i niže od izloženih kod Antai *et al.* (2009) i jedinki oba pola kontrolne grupe K-0.

Ekanem i saradnici (2015) su uočili da pri nižim dozama intoksikacije olovo-acetatom (25 mg/kg tjelesne mase dnevno, tokom 28 dana) dolazi do značajnog smanjenja vrijednosti hematokrita i značajnog povećanja istog parametra pri većem dnevnom unosu olovo-acetata (50 mg/kg tjelesne mase). Zabilježili su i minimalno smanjenje koncentracije hemoglobina obe grupe intoksikovanih jedinki.

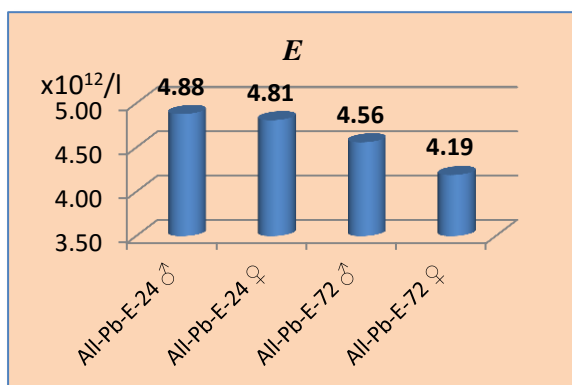
Ghosh i saradnici (2014) su uočili da pri intraperitonealnoj administraciji olovo-acetata u dozi od 15 mg/kg tjelesne mase tokom sedam dana dolazi do značajnih promjena u hematološkom statusu Wistar pacova. Značajno su smanjene vrijednosti ukupnog broja eritrocita, koncentracije hemoglobina i hematološkog indeksa MCH. Olovo može izazvati anemiju s jedne strane oštećujući eritrocite i na taj način smanjujući njihovu sposobnost prenosa kiseonika organima i tkivima kojima je potreban. Takođe, najveća količina olova dospjelog u organizam se deponuje u koštanoj



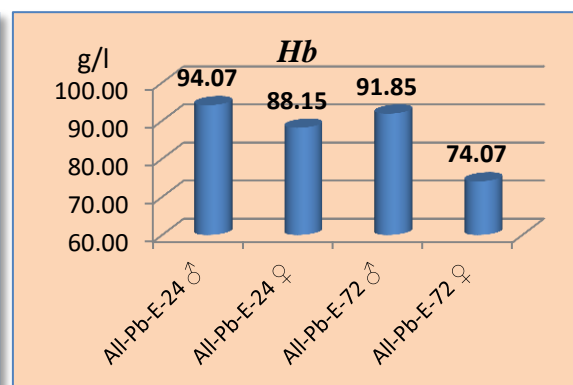
srži, gdje može interferirati sa proizvodnjom krvnih ćelija, remeteći put sinteze hema i na taj način izazvati anemiju.

Aba i Asuzu (2015) su pri intraperitonealnoj administraciji aloksana pacovima u dozi 160 mg/kg tjelesne mase uočili kod dijabetičnih jedinki značajno smanjenje ukupnog broja eritrocita, vrijednosti hematokrita i koncentracije hemoglobina, kao i hematoloških indeksa MCV i MCH, nakon 28, 56 i 84 dana trajanja eksperimenta. Anemija je uobičajena patofiziološka pojava vezana za dijabetes. Smatra se da dijabetična anemija nastaje usljed povećanja neenzimatske glikozilacije proteina membrane eritrocita usljed hiperglikemije. Proteini i hiperglikemija pri *diabetes mellitus* uzrokuju povećanu proizvodnju lipidne peroksidaze koja dovodi do hemolize eritrocita.

Donekle slične rezultate su zabilježili i Udenze i saradnici (2014) pri izazivanju hiperglikemije pacovima intraperitonealnom aplikacijom aloksana u dozi 150 mg/kg t.m. i 21-dnevnog perioda posmatranja. Jedinke sa aloksanskim dijabetesom su imale snižene vrijednosti broja eritrocita, koncentracije hemoglobina i hematokrita, dok su hematološki indeksi MCV, MCH i MCHC bili značajno povećani u odnosu na jedinke kontrolne grupe.



**Grafikon br. 300 Broj eritrocita po litri krvi inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**

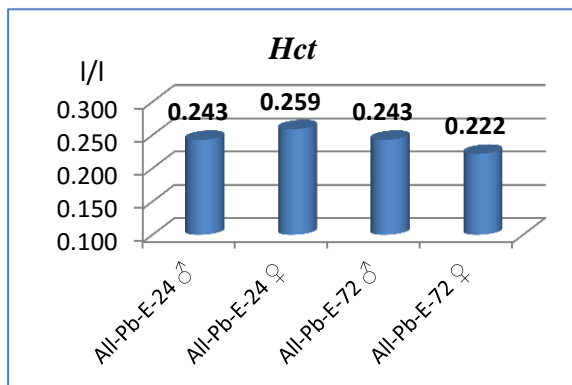


**Grafikon br. 301 Koncentracija hemoglobina u litri krvi inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**

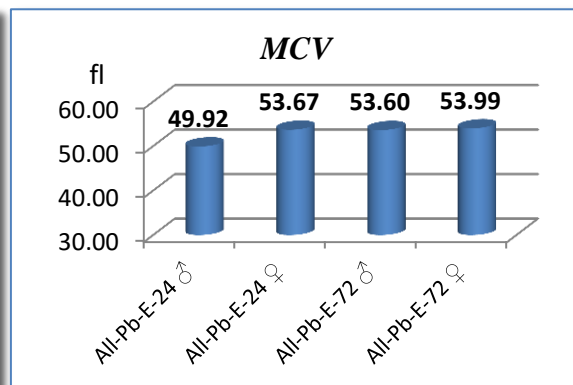
Poređenjem dobijenih vrijednosti eritrograma pacova tretiranih aloksanom i olovo-acetatom, a potom inficiranih ešerihijom, statistički značajno odstupanje uočeno je za vrijednosti broja eritrocita i koncentraciju hemoglobina, dok se ostale srednje vrijednosti posmatranih grupa nalaze u granicama statističke sličnosti ( $p > 0.050$ ).

Signifikantno niži broj eritrocita je izbrojan kod ženki grupe All-Pb-E-72 u odnosu na mužjake ( $p = 0.002$ ) i ženke ( $p = 0.004$ ) grupe All-Pb-E-24. Vrijednosti koncentracije hemoglobina su također dostigle svoj minimum kod jedinki iste grupe (All-

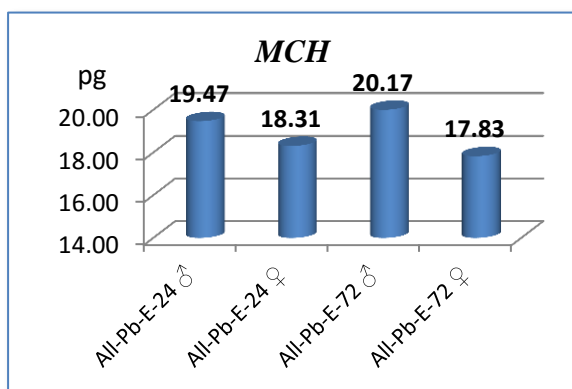
Pb-E-72 ♀), značajno niži od mužjaka grupa All-Pb-E-24 ( $p=0.012$ ) i All-Pb-E-72 ( $p=0.023$ ).



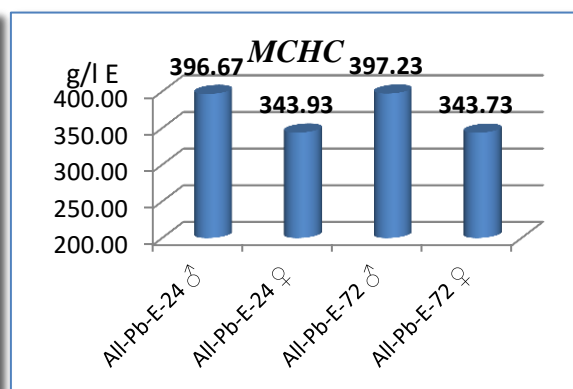
**Grafikon br. 302 Hematokrit inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**



**Grafikon br. 303 MCV inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**

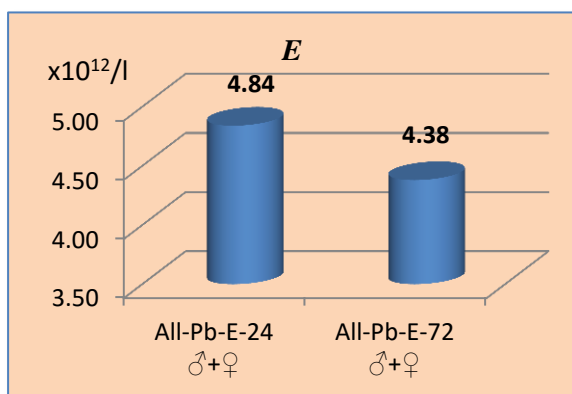


**Grafikon br. 304 MCH inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**

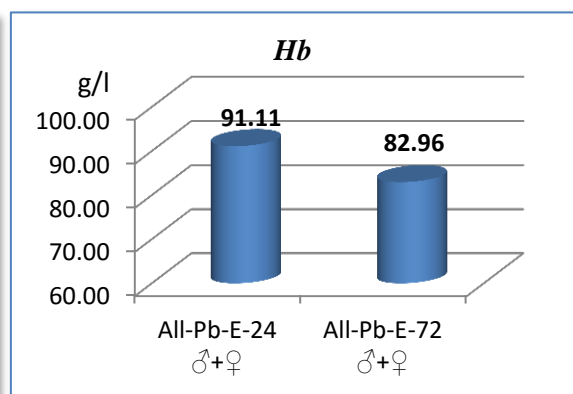


**Grafikon br. 305 MCHC inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**

### 4.2.8.1 Eritrogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

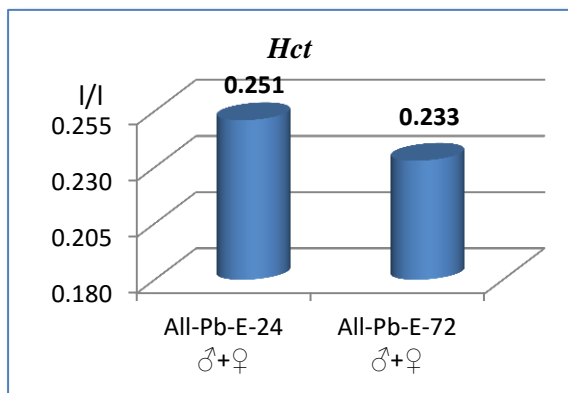


**Grafikon br. 306 Komparacija vrijednosti broja eritrocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata**

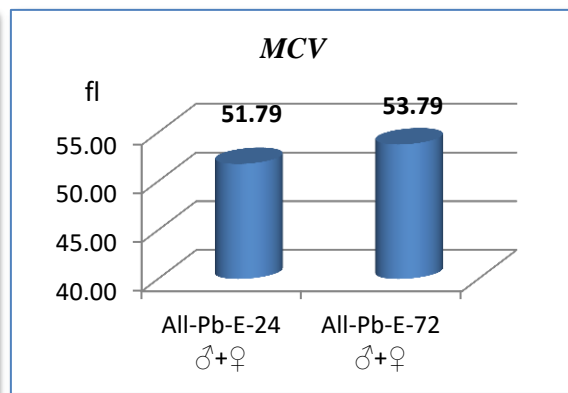


**Grafikon br. 307 Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata**

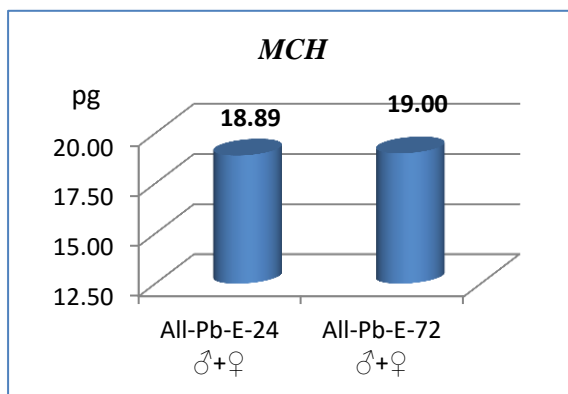
Primjenom nezavisnog T testa na vrijednosti crvene loze inficiranih jedinki tretiranih olovo-acetatom i aloksanom u odnosu na vrijeme žrtvovanja, statistički značajna razlika se uočava samo za ukupan broj eritocita u krvi posmatranih pacova, pri čemu su signifikantno niže vrijednosti uočene kod jedinki žrtvovanih kasnije, 72 sata po iniciranju infekcije, u odnosu na one žrtvovane 48 sati ranije ( $p=0.004$ ).



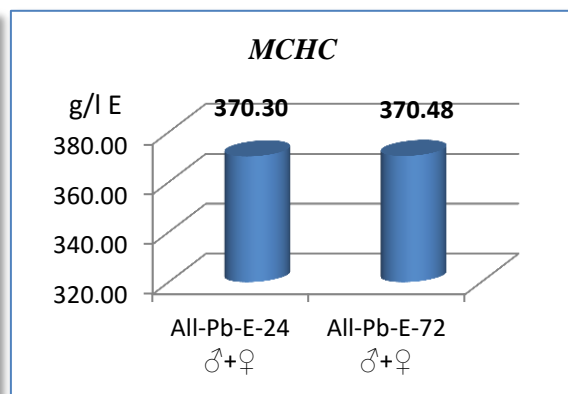
**Grafikon br. 308** Komparacija vrijednosti hematokrita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 309** Komparacija vrijednosti MCV između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



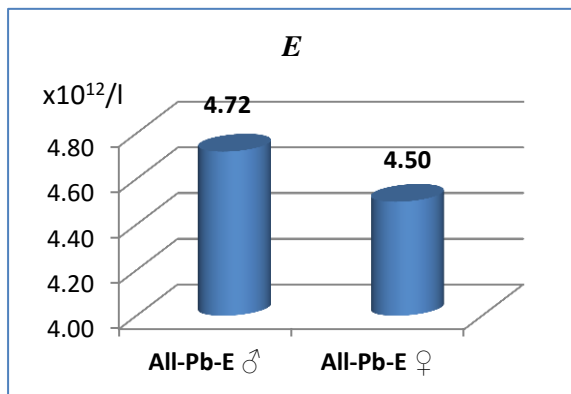
**Grafikon br. 310** Komparacija vrijednosti MCH između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



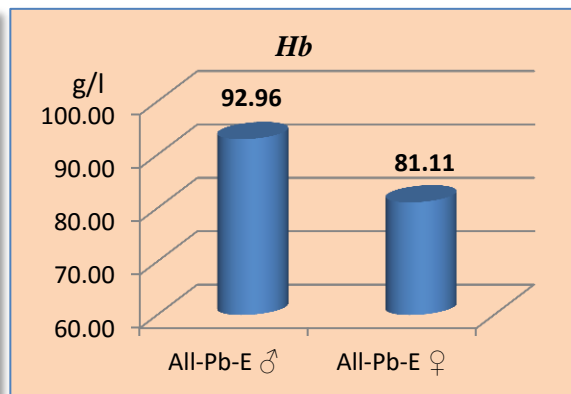
**Grafikon br. 311** Komparacija vrijednosti MCHC između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

#### 4.2.8.2. Eritrogram i pol

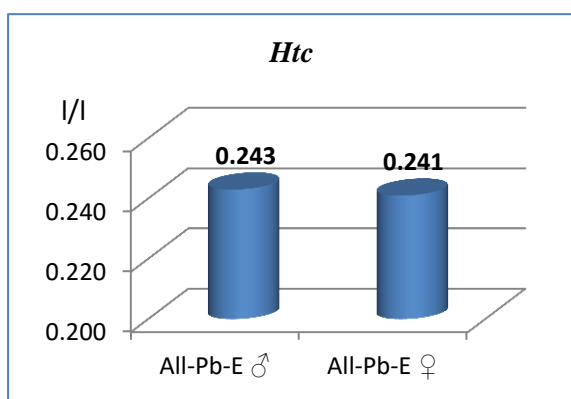
Razlike između dobijenih vrijednosti praćenih parametara crvene loze u odnosu na pol se uočavaju samo kod koncentracije hemoglobina. Značajno nižu koncentraciju hemoglobina su zabilježile ženke u odnosu na mužjake podvrgnute istom tretmanu ( $p=0.037$ ).



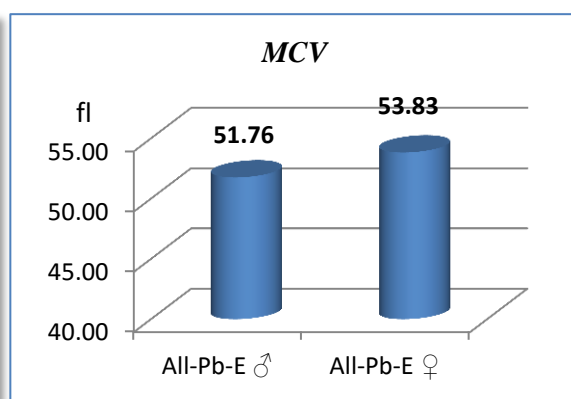
Grafikon br. 312 Komparacija vrijednosti broja eritrocita između mušjaka i ženki



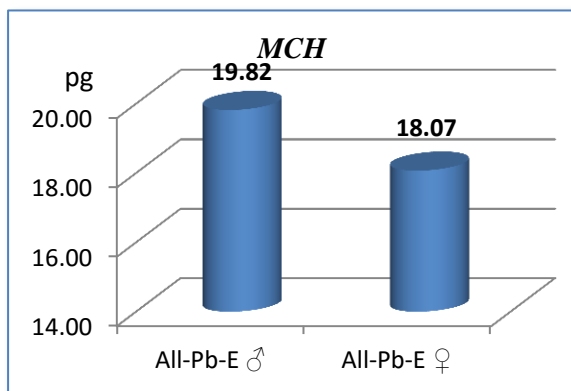
Grafikon br. 313 Komparacija vrijednosti konc. hemoglobina između mušjaka i ženki



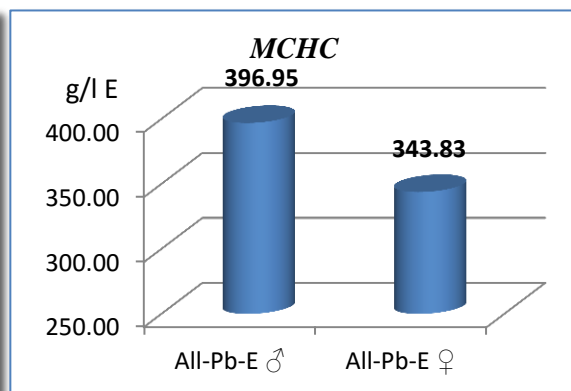
Grafikon br. 314 Komparacija vrijednosti hematokrita između mušjaka i ženki



Grafikon br. 315 Komparacija vrijednosti MCV između mušjaka i ženki



Grafikon br. 316 Komparacija vrijednosti MCH između mušjaka i ženki



Grafikon br. 317 Komparacija vrijednosti MCHC između mušjaka i ženki

### 4.2.9. Komparacija vrijednosti eritrograma tretiranih i kontrolnih jedinki

Rezultati komparacije dobijenih podataka parametara crvene loze tretiranih jedinki u odnosu na jedinke kontrolne grupe (negativna K-0 i pozitivna K-E kontrola), kao i poređenje dejstva višestrukog tretmana na vrijednosti eritrocitnog profila u odnosu na dvojni i pojedinačni tretman su predstavljeni u tabeli 29, gdje su različitim bojama označene statistički značajne i nesignifikantne razlike između posmatranih grupa.

**Tabela br. 29 Vrijednosti statističkog značaja u komparaciji rezultata crvene loze tretiranih i kontrolnih jedinki**

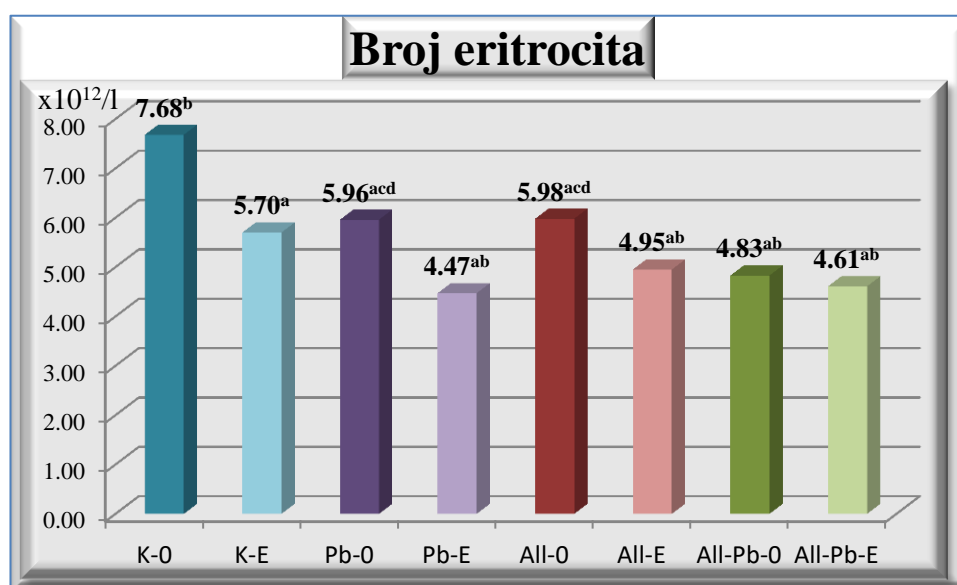
tretman	ERITROGRAM <sup>6</sup>						negativna i pozitivna kontrola
	E	Hb	Hct	MCV	MCH	MCHC	
<i>Tretiranih u odnosu na kontrolne jedinke</i>							
<b>K-E</b>	0.000	0.000	0.000	0.930	0.981	0.716	K-0
<b>Pb-0</b>	0.000	0.000	0.011	0.006	0.536	0.025	K-0
	0.294	0.854	0.001	0.004	0.552	0.009	K-0
<b>Pb-E</b>	0.000	0.000	0.014	0.000	0.017	0.000	K-E
	0.000	0.174	0.001	0.000	0.018	0.000	K-0
<b>All-0</b>	0.000	0.000	0.000	0.444	0.842	0.907	K-E
	0.257	0.174	0.032	0.393	0.861	0.631	K-0
<b>All-E</b>	0.000	0.000	0.007	0.000	0.001	0.167	K-E
	0.003	0.099	0.002	0.000	0.002	0.081	K-0
<b>All-Pb-0</b>	0.000	0.000	0.000	0.036	0.048	0.504	K-E
	0.001	0.883	0.597	0.029	0.051	0.303	K-0
<b>All-Pb-E</b>	0.000	0.000	0.000	0.015	0.190	0.171	K-E
	0.000	0.073	0.842	0.012	0.198	0.084	K-0
<i>Sinergistički efekat višestrukih tretmana u odnosu na dvojne i pojedinačne intoksikacije</i>							
<b>All-Pb-0</b>	0.000	0.740	0.007	0.488	0.172	0.112	<b>Pb-0</b>
	0.000	0.133	0.104	0.181	0.075	0.582	<b>All-0</b>
<b>All-Pb-E</b>	0.000	0.048	0.003	0.735	0.488	0.373	<b>Pb-0</b>
	0.578	0.659	0.002	0.002	0.271	0.029	<b>Pb-E</b>
	0.000	0.002	0.051	0.091	0.266	0.210	<b>All-0</b>
	0.174	0.001	0.004	0.132	0.056	0.989	<b>All-E</b>
	0.381	0.099	0.741	0.723	0.499	0.481	<b>All-Pb-0</b>

Najviše statistički značajnih odsupanja pokazuju broj eritrocita ( $\times 10^{12}/l$ ), vrijednosti hematokrita (l/l) i hematološki indeks MCV (fl), dok su kod vrijednosti

<sup>6</sup> Statistički značajne razike su označene roza bojom, dok plava polja označavaju vrijednosti iznad statističke signifikantnosti.

koncentracije hemoglobina (g/l) i indeksa MCH (pg) i MCHC (g/l E) manje prisutna signifikantna odstupanja.

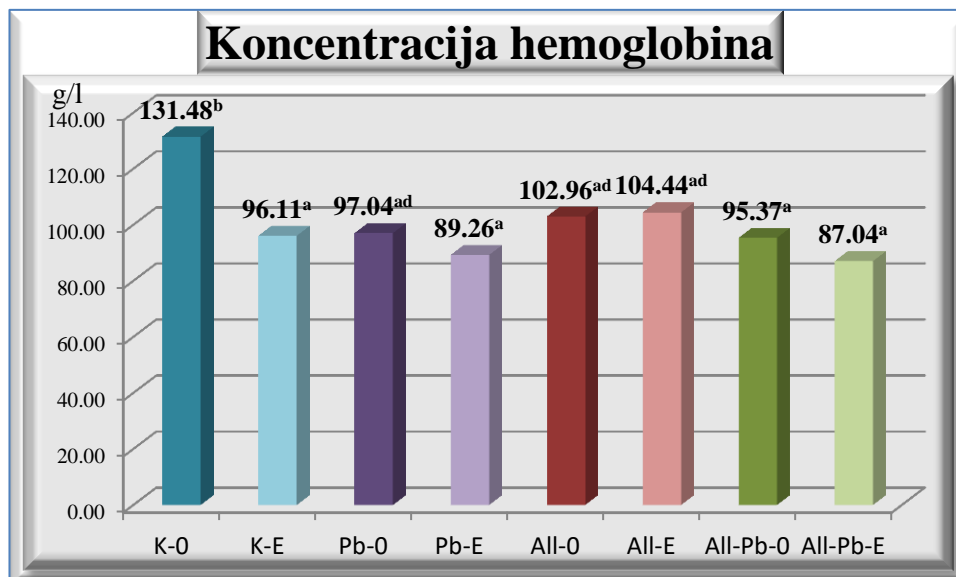
U odnosu na neinficirane jedinke kontrolne grupe (K-0; negativna kontrola), sve jedinke podvrgnute tretmanu ili infekciji ili sinergističkom efektu više tretmana pokazale su značajno niži **broj eritrocita** po litri krvi (grafikon 318). Takođe, međusobnim poređenjem vrijednosti dobijenih za jedinke izložene sinergističkom efektu olovo-acetata i aloksana sa jedinkama izloženim pojedinačnim intoksikantima, uočava se statistički značajno smanjenje ukupnog broja eritrocita u grupama All-Pb-0 i All-Pb-E u poređenju sa jedinkama grupa Pb-0 i All-0 (tabela 29).



**Grafikon br. 318 Srednje vrijednosti ukupnog broja eritrocita kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\***

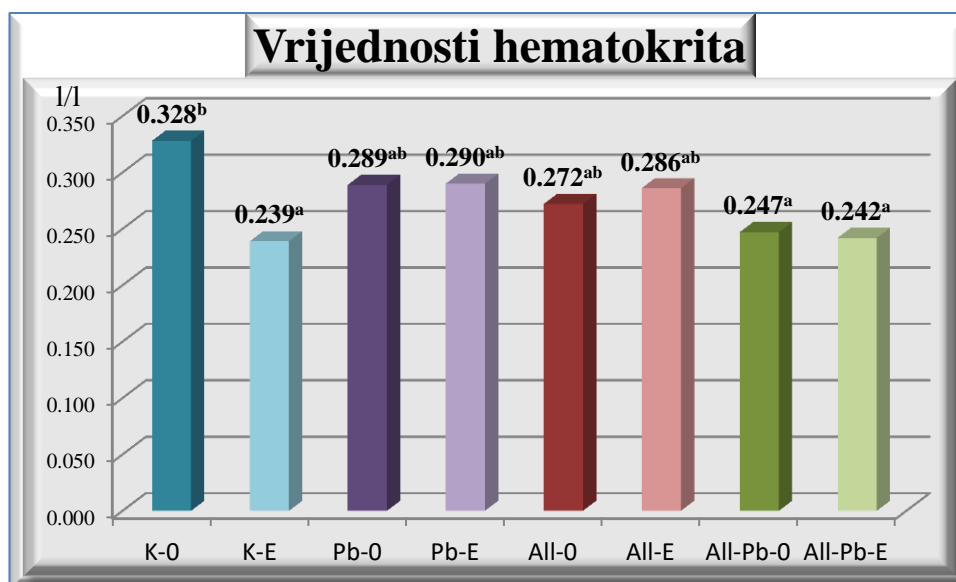
**Koncentracija hemoglobina** (grafikon 319) je bila značajno snižena kod svih tretiranih jedinki u odnosu na jedinke kontrolne grupe (K-0), dok se razlike dobijene za intoksikovane jedinke u odnosu na pozitivnu kontrolu udaljavaju od statističkog značaja ( $p > 0.050$ ). S druge strane, sinergističko dejstvo bakterijske infekcije i intoksikacije olovo-acetatom i aloksanom kod jedinki grupe All-Pb-E je izazvalo značajne promjene ovog parametra u odnosu na jedinke tretirane olovom (Pb-0), aloksanom (All-0), kao i inficirane jedinke tretirane aloksanom (All-E). Sam dvojni tretman, bez bakterijske infekcije, nije izazvao statistički signifikantna odstupanja koncentracije hemoglobina kod jedinki grupe All-Pb-0 u odnosu na jedinke grupa Pb-0 i All-0 (tabela 29).

\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-0, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E



Grafikon br.320 Srednje vrijednosti koncentracije hemoglobina kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\*

Najviša vrijednost **hematokrita** je zabilježena kod neinficiranih jedinki kontrolne grupe, što je niže od referentnih vrijednosti navedenih od strane većine autora, ali značajno više od jedinki podvrgnutih tretmanu (grafikon 321).



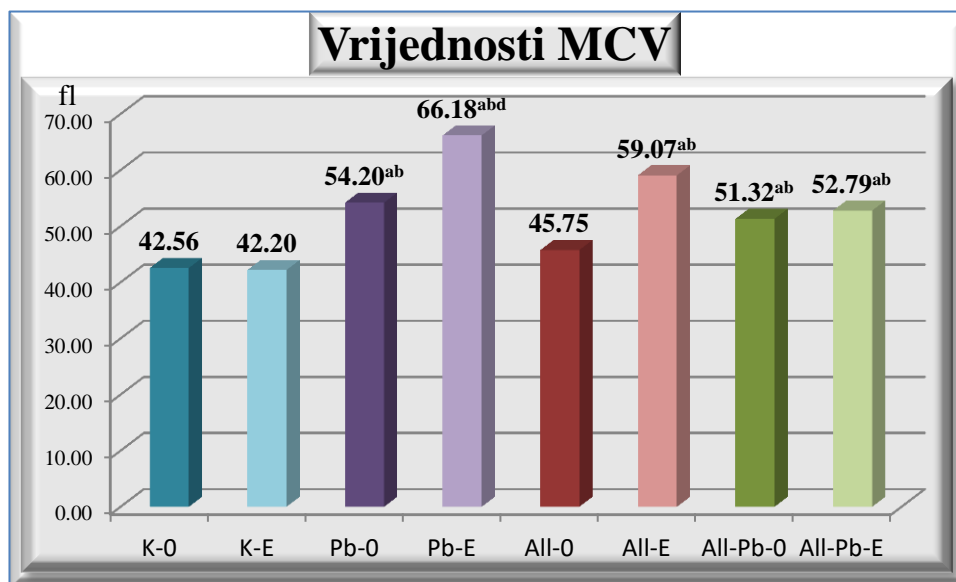
Grafikon br. 321 Srednje vrijednosti hematokrita kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\*

Samo kod jedinki grupa All-Pb-0 i All-Pb-E dvojni tretman aloksanom i olovoacetatom nije izazvao statistički značajno smanjenje vrijednosti ovog parametra u

\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-0, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E

odnosu na jedinke pozitivne kontrole. U odnosu na jedinke tretirane pojedinačnim tretmanima, jedinke grupe All-Pb-0 značajno odstupaju u komparaciji sa jedinkama grupe Pb-0. Značajne razlike se uočavaju i pri upoređivanju vrijednosti hematokrita inficiranih jedinki dvojne intoksikacije (All-Pb-E) u odnosu na jedinke grupa Pb-0, Pb-E i All-E (tabela 29).

Hematološki indeks **MCV** je imao najniže vrijednosti kod jedinki kontrolnih grupa. Značajno povećanje ovog indeksa je uočeno kod svih tretiranih jedinki, osim iz grupe All-0 u odnosu na jedinke negativne i pozitivne kontrole.



**Grafikon br. 322 Srednje vrijednosti MCV kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\***

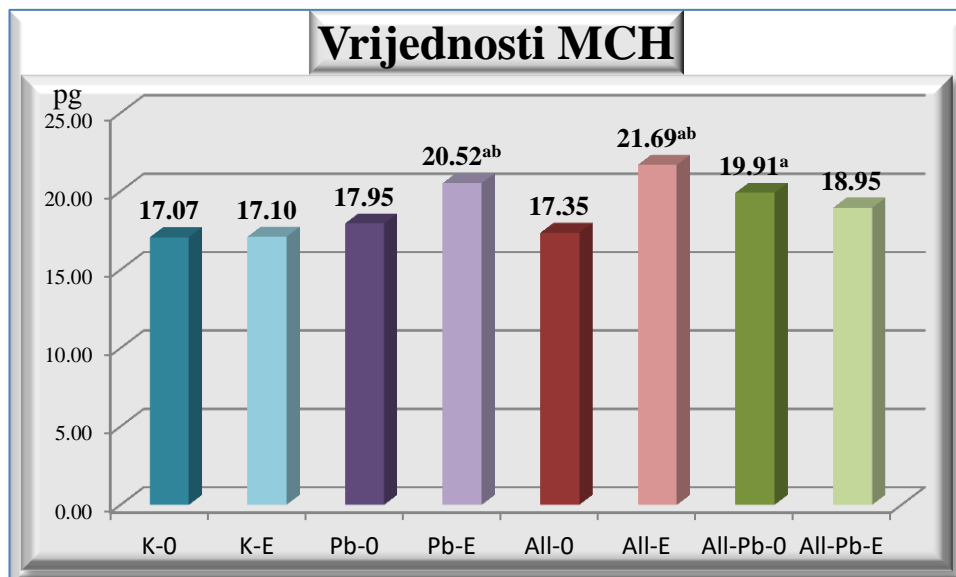
Sinergističko dejstvo intoksikacije olovo-acetatom i aloksanom nije dovelo do značajnih promjena ovog hematološkog indeksa u odnosu na jedinke tretirane isključivo aloksanom ili isključivo olovo-acetatom, dok je pri bakterijskoj infekciji jedinki dvojnog tretmana nastalo značajno smanjenje vrijednosti MCV u odnosu na jedinke grupe Pb-E.

Signifikantna povećanja indeksa **MCH** u odnosu na jedinke kontrolnih grupa su uočena samo kod jedinki grupa Pb-E, All-E i All-Pb-0 (grafikon 323).

Takođe, ni analiza dobijenih vrijednosti ovog indeksa crvene loze jedinki dvojnog tretmana, kao ni inficiranih jedinki dvojnog tretmana u odnosu na jedinke grupa sa pojedinačnim intoksikacijama, nisu pokazali značajna odstupanja (tabela 29).

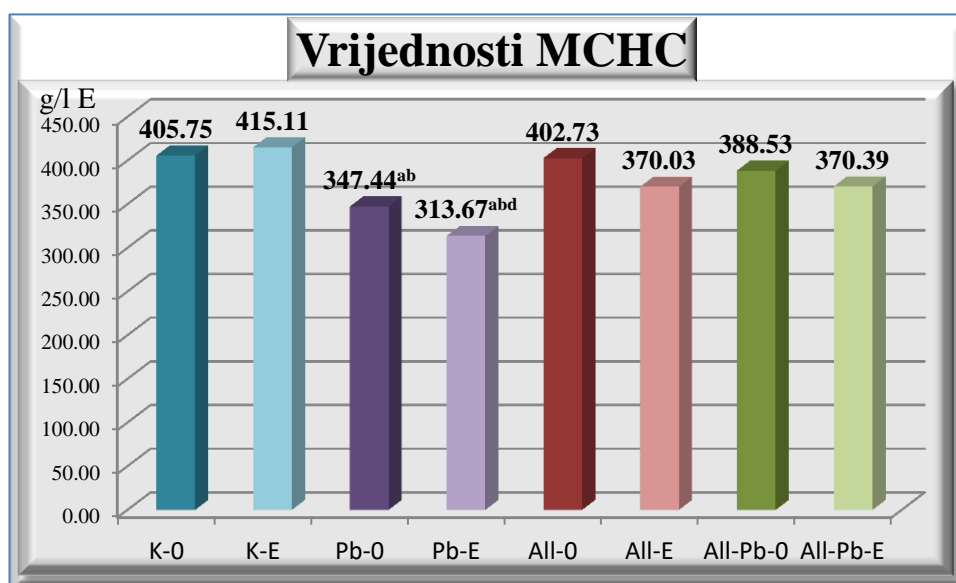
\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-0, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E





Grafikon br. 323 Srednje vrijednosti MCH kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\*

Još manje značajnih razlika se može konstatovati pri komparaciji vrijednosti MCHC između tretiranih i kontrolnih jedinki (grafikon 324). Signifikantost se uočava samo pri smanjenju ovog parametra kod jedinki grupa Pb-0 i Pb-E u odnosu na negativnu i pozitivnu kontrolu, kao i Pb-0 u odnosu na povećane vrijednosti ovog parametra kod jedinki grupe All-Pb-E.



Grafikon br. 324 Srednje vrijednosti MCHC kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\*

\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-0, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E

### 4.3. Leukocitni profil

Po okončanju eksperimenta uzeta je krv kardijalnom punkcijom, nakon čega je pristupljeno žrtvovanju kontrolnih i tretiranih jedinki. Uzorci su analizirani standardnim metodama u cilju određivanja ukupnog broja leukocita i diferencijalne krvne slike svih jedinki obuhvaćenih eksperimentom.

#### 4.3.1. Kontrolne jedinke (K-0)

Vrijednosti leukograma dvadeset zdravih jedinki kontrolne grupe, žrtvovanih 24, odnosno 72 časa od intraperitonealne aplikacije 0.2 ml sterilnog fiziološkog rastvora, su predstavljene u tabeli 30.

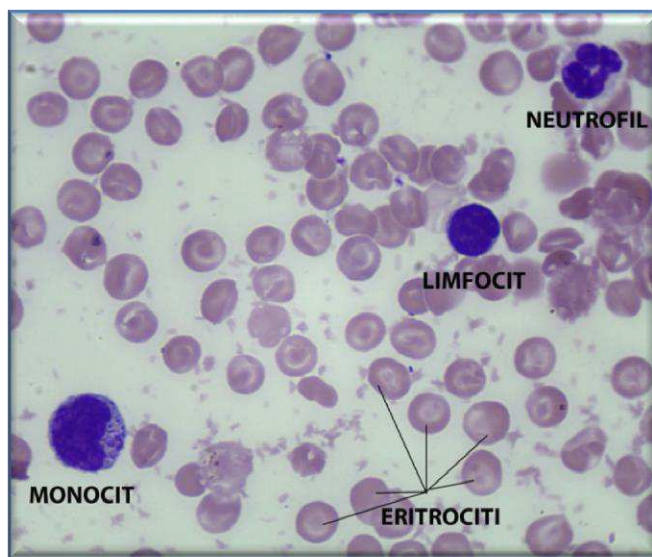
**Tabela br. 30 Parametri bijele loze kontrolne grupe jedinki (K-0)**

		Broj leukocita $\times 10^9/l$ krvi	PROPORCIJE POJEDINIH FORMI LEUKOCITA				
			Neutrofili	Eozinofili	Bazofili	Limfociti	Monociti
K-0-24 ♂	1	5.70	0.350	0.030	0.010	0.610	0.000
	2	6.20	0.190	0.010	0.000	0.790	0.010
	3	5.70	0.250	0.010	0.010	0.700	0.030
	4	5.70	0.320	0.010	0.010	0.650	0.010
	5	6.10	0.260	0.040	0.000	0.680	0.020
K-0-24 ♀	1	6.10	0.170	0.030	0.010	0.780	0.010
	2	6.00	0.120	0.010	0.010	0.850	0.010
	3	5.60	0.210	0.040	0.000	0.740	0.010
	4	5.80	0.210	0.040	0.010	0.730	0.020
	5	5.40	0.190	0.030	0.010	0.760	0.010
K-0-72 ♂	1	5.10	0.100	0.030	0.000	0.860	0.010
	2	6.00	0.030	0.040	0.010	0.910	0.010
	3	5.60	0.100	0.040	0.000	0.830	0.030
	4	5.60	0.290	0.040	0.010	0.660	0.000
	5	6.10	0.200	0.030	0.010	0.750	0.010
K-0-72 ♀	1	5.80	0.110	0.010	0.010	0.870	0.000
	2	6.20	0.110	0.020	0.010	0.840	0.020
	3	5.30	0.240	0.010	0.000	0.740	0.010
	4	6.00	0.230	0.030	0.010	0.720	0.010
	5	5.40	0.070	0.040	0.010	0.860	0.020
K-0	AVG	<b>5.77</b>	<b>0.188</b>	<b>0.027</b>	<b>0.007</b>	<b>0.767</b>	<b>0.013</b>
	MIN	<b>5.10</b>	<b>0.030</b>	<b>0.010</b>	<b>0.000</b>	<b>0.610</b>	<b>0.000</b>
	MAX	<b>6.20</b>	<b>0.350</b>	<b>0.040</b>	<b>0.010</b>	<b>0.910</b>	<b>0.030</b>
	STDEV	<b>0.32</b>	<b>0.086</b>	<b>0.013</b>	<b>0.005</b>	<b>0.083</b>	<b>0.009</b>
	COV	<b>5.48</b>	<b>45.810</b>	<b>46.694</b>	<b>67.166</b>	<b>10.893</b>	<b>68.056</b>

Vrijednosti ukupnog broja leukocita su se kretale od 5.10 - 6.20, prosječno  $5.77 \times 10^9/l$  krvi, što je u saglasnosti sa referentnim vrijednostima navedenim kod

Sharp i Villano (2013), Liberati *et al.* (2004), Prichet i Corning (2004) i Charles River Laboratories (1998). Međutim, u literaturi se pojavljuju raznovrsne vrijednosti ukupnog broja leukocita u krvi zdravih netretiranih pacova. Kampfmann i saradnici (2012) su zabilježili srednju vrijednost broja leukocita u krvi netretiranih jedinki nabavljenih od jednog odgajivača od  $3.6 \pm 0.1 \times 10^9/l$  krvi, dok su vrijednosti dobijene za jedinke nabavljene od drugog uzgajivača bile znatno više i iznosile  $10.4 \pm 0.1 \times 10^9/l$  krvi. Najviše prosječne vrijednosti broja leukocita kod netretiranih jedinki su naveli Oyeyemi *et al.* (2009), dok se ostale referentne vrijednosti (prilog, tabela 42) nalaze u opsegu navedenom od strane Sharp i Villano ( $3 - 17 \times 10^9/l$  krvi).

U diferencijalnoj krvnoj slici pacova od ukupnog broja leukocita najveći udio pripada limfocitima, zatim neutrofilima, dok se ostale leukocitne forme sreću u znatno manjem omjeru.



Slika br. 12 Diferencijalna krvna slika mušjaka K-0-24 (Manojlović, 2015)

**Proporcija neutrofila** jedinki kontrolne grupe je iznosila od 0.030 - 0.350, prosječno 0.188, što je u saglasnosti sa većinom literaturnih navoda (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Moore, 2000; Charles River Laboratories, 1998; Jain, 1993 i Rusov, 1984). Davidović (2013), Uduak *et al.* (2013), Lewicka *et al.* (2012), Oyeyemi *et al.* (2009), Antai *et al.* (2009), Charles River Laboratories (2008) i Prichet i Corning (2004) navode znatno veću proporciju ove leukocitne forme u krvi zdravih jedinki (od  $23.20 \pm 1.28\%$  navedenih kod Antai i saradnika do  $61.4 \pm 6.78\%$  publikovanih od strane Oyeyemi i saradnika).

Vrijednosti **udjela eozinofila** jedinki kontrolne grupe su se kretale od 0.010 - 0.040, prosječno 0.027. Mnogi autori ih nisu zabilježili u diferencijalnoj krvnoj slici

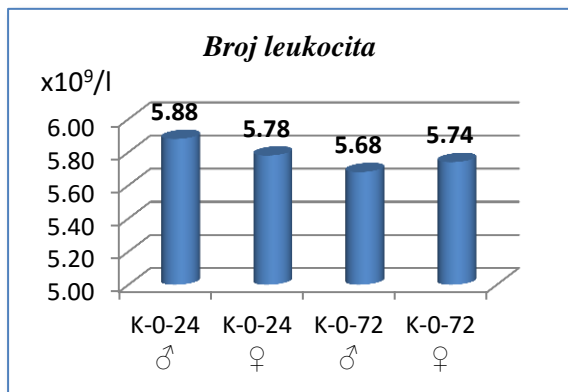
netretiranih jedinki, a raspon vrijednosti naveden od strane drugih se kreće od 0 - 6% (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i villano, 2013; Uduak *et al.*, 2013, Lewicka *et al.*, 2012; Kampfmann *et al.*, 2012; Thrall *et al.*, 2012; Antai *et al.*, 2009; Moriyama *et al.*, 2008; Charles River Laboratories, 2008 i 1998; Rusov, 1984), što je u skladu sa vrijednostima kontrolne grupe pacova obuhvaćenih ovim eksperimentom.

**Proporcija bazofila** u krvnom razmazu netretiranih jedinki je izuzetno niska, od nezabilježenih do 0.010, sa prosječnom vrijednošću prosječno 0.007 i neevidentirana od strane većine autora. Lindstrom i saradnici (2015), Sharp i Villano (2013), Thrall i saradnici (2012), Antai i saradnici (2009), Moriyama i saradnici (2008), Charles River Laboratories (2008 i 1998), kao i Rusov (1984) navode podatke za bazofile od *rijetko prisutni* (Rusov) do 2% (Charles River Laboratories).

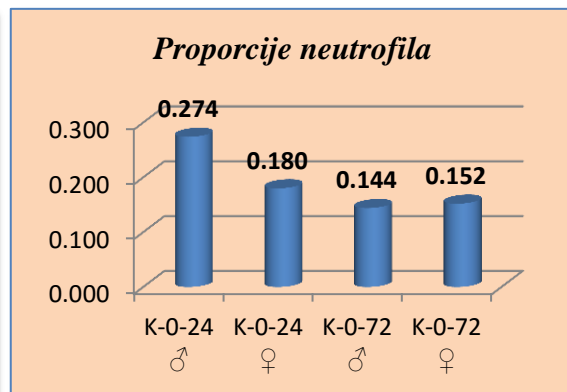
Udio **limfocita** u diferencijalnoj krvnoj slici jedinki kontrolne grupe je iznosio od 0.610 - 0.910, sa srednjom vrijednošću od 0.767, odnosno 76.7%. Dobijene vrijednosti su u saglasnosti sa publikovanim referentnim vrijednostima za Wistar pacove mnogih autora (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i Villano, 2013; Kampfmann *et al.*, 2012; Prichet i Corning, 2004; Charles River Laboratories, 1998 i Rusov, 1984). Moriyama i saradnici (2008), kao i Liberati i saradnici (2004) navode veći udio limfocita u ukupnom broju leukocita, dok Davidović (2013), Uduak i saradnici (2013), Lewicka i saradnici (2012), Thrall *et al.* (2012), Oyeyemi *et al.* (2009), Antai *et al.* (2009), Charles River Laboratories (2008) i Jain (1993) navode manju proporciju limfocita u ukupnom broju leukocita.

**Monociti** su slabo zastupljeni u diferencijalnoj krvi pacova. Uobičajeno učešće se po Sharp i Villano (2013) kreće do 4%. Ostali autori navode slične, ali i znatno veće vrijednosti proporcije ovih leukocitarnih formi u krvnom razmazu, od maksimalnih 0.65% za mužjake, odnosno 1.81% za ženke (Lindstrom *et al.*, 2015) do  $8.40 \pm 0.93\%$  (Antai *et al.*, 2009). Kontrolne jedinice podvrgnute i.p. administraciji 0.2 ml sterilnog fiziološkog rastvora su ostvarile proporciju monocita do maksimalnih 0.030, prosječno 0.013.

Komparacija dobijenih vrijednosti leukograma pokazuje statistički značajna odstupanja samo za proporciju neutrofila i eozinofila u diferencijalnoj krvnoj slici kontrolnih pacova.

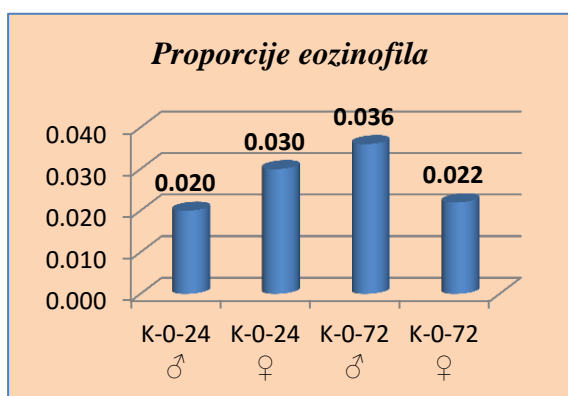


Grafikon br. 325 Broj leukocita po litri krvi kontrolnih jedinki

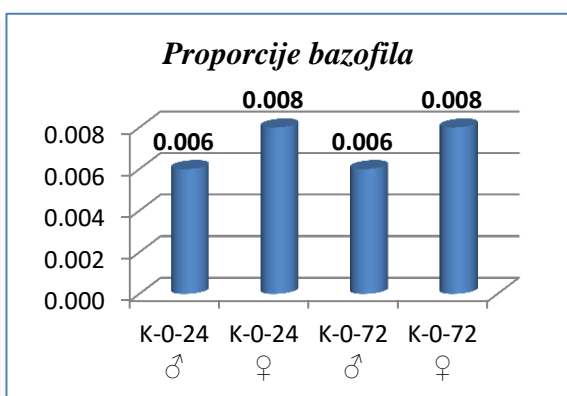


Grafikon br. 326 Srednje vrijednosti proporcija neutrofila kontrolnih jedinki

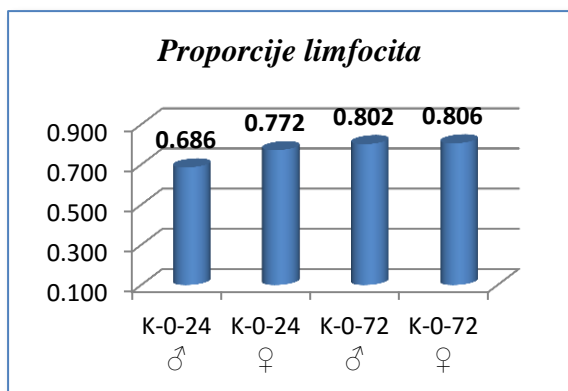
Najveći udio neutrofilnih granulocita su imali mušjaci kontrolne grupe, žrtvovani 24 časa po i.p. ubrizgavanju fiziološkog rastvora (K-0-24 ♂) u odnosu na mužjake ( $p=0.013$ ) i ženke ( $p=0.019$ ) žrtvovane 48 časova kasnije (grafikon 326).



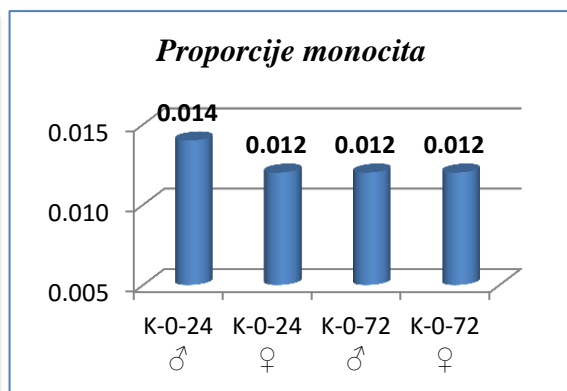
Grafikon br. 327 Srednje vrijednosti proporcija eozinofila kontrolnih jedinki



Grafikon br. 328 Srednje vrijednosti proporcija bazofila kontrolnih jedinki



Grafikon br. 329 Srednje vrijednosti proporcija limfocita kontrolnih jedinki



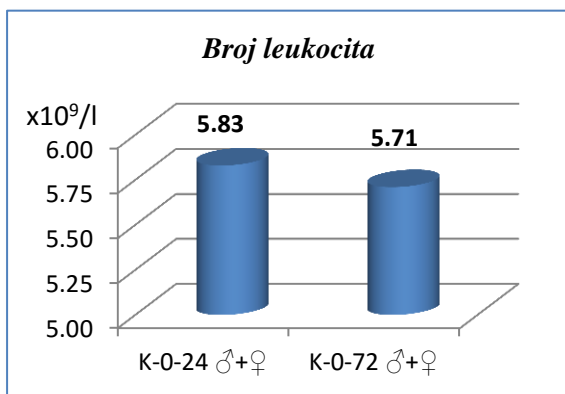
Grafikon br. 330 Srednje vrijednosti proporcija monocita kontrolnih jedinki

Udio eozinofila (grafikon 327) je značajno povećan kod mužjaka iz grupe K-0-72 u odnosu na mužjake grupe K-0-24 ( $p=0.047$ ), dok između ostalih jedinki nema

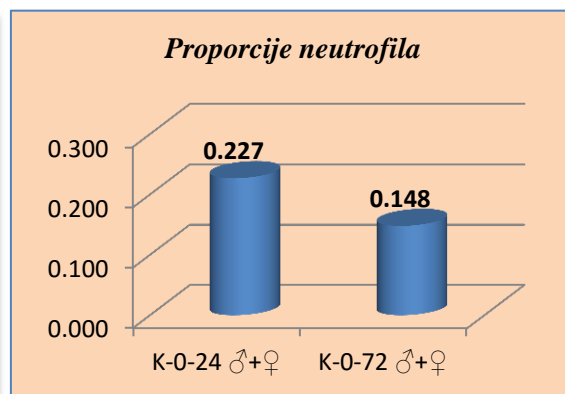
statistički značajnih razlika, kako za ovaj, tako ni za ostale parametre bijele loze ( $p>0.050$ ).

### 4.3.1.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

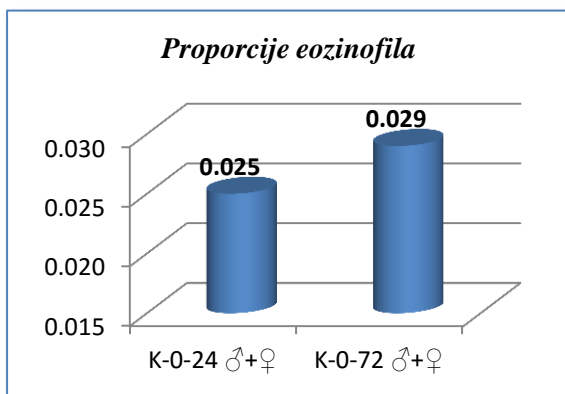
Poređenjem dobijenih vrijednosti leukograma u odnosu na vrijeme žrtvovanja – 24 i 72 sata po i.p. administraciji sterilnog fiziološkog rastvora statistička signifikantnost se uočava za proporciju neutrofila i limfocita u diferencijalnoj krvnoj slici pacova kontrolne grupe.



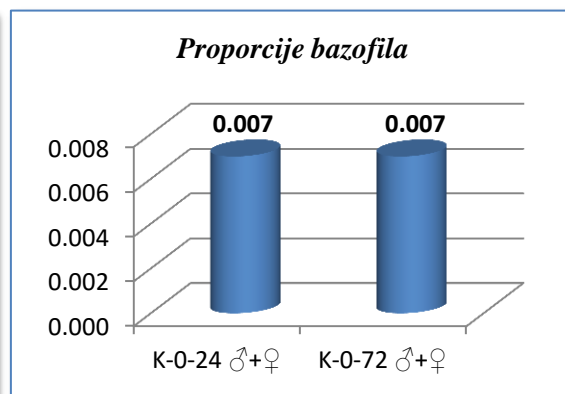
**Grafikon br. 331** Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 332** Komparacija proporcije neutrofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

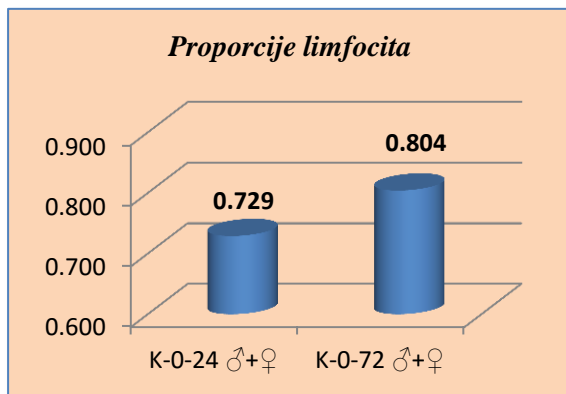


**Grafikon br. 333** Komparacija proporcije eozinofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

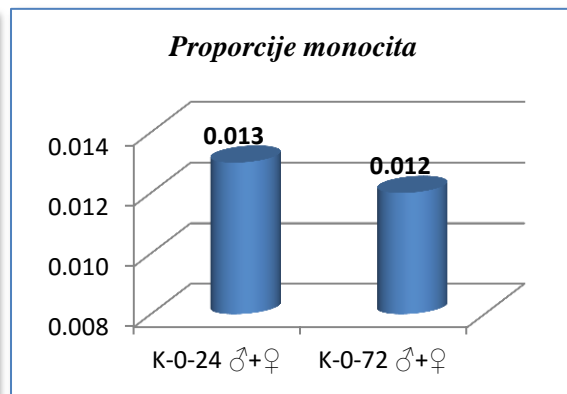


**Grafikon br. 334** Komparacija proporcije bazofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Proporcija neutrofila je značajno smanjena ( $p=0.036$ ), a limfocita uvećana ( $p=0.041$ ) kod jedinki žrtvovanih 72 sata po administraciji fiziološkog rastvora u odnosu na one žrtvovane 48 časova ranije.

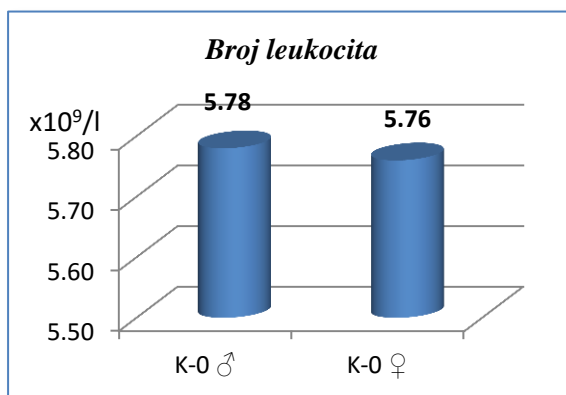


Grafikon br. 335 Komparacija proporcije limfocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

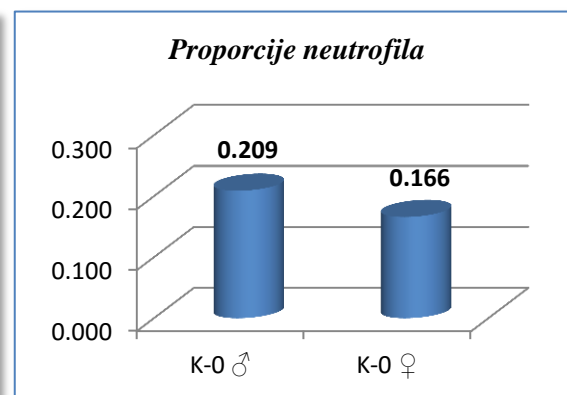


Grafikon br. 336 Komparacija proporcije monocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

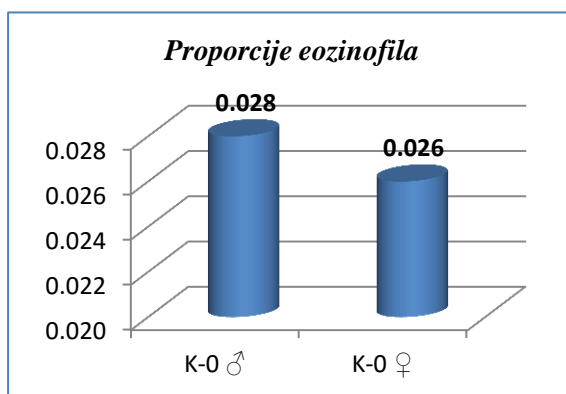
4.3.1.2. Leukogram i pol



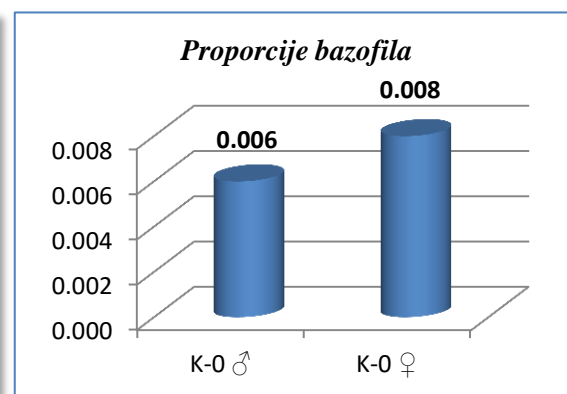
Grafikon br. 337 Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između mužjaka i ženki



Grafikon br. 338 Komparacija proporcije neutrofila između mužjaka i ženki

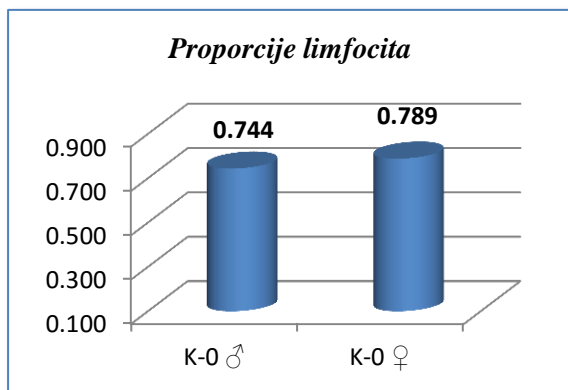


Grafikon br. 339 Komparacija proporcije eozinofila između mužjaka i ženki

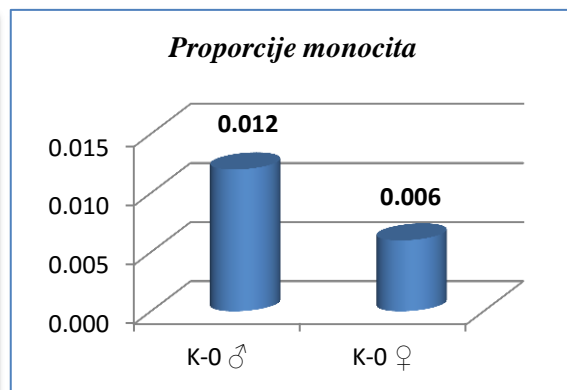


Grafikon br. 340 Komparacija proporcije bazofila između mužjaka i ženki

Poređenjem dobijenih vrijednosti hematoloških parametara bijele loze između jedinki muškog i ženskog pola, uočavaju se neznatne razlike sa većim vrijednostim zabilježenim kod mužjaka za gotovo sve parametre, osim proporcije limfocita u krvnom razmazu kontrolnih jedinki. Međutim, uočene razlike praćenih parametara između jedinki različitog pola se ne nalaze u opsegu statističke značajnosti ( $p > 0.050$ ).



*Grafikon br. 341 Komparacija proporcije limfocita između mužjaka i ženki*



*Grafikon br. 342 Komparacija proporcije monocita između mužjaka i ženki*



### 4.3.2. Kontrolne jedinice inficirane ešerihijom (K-E)

Vrijednosti dobijene diferenciranjem krvnih razmaza pomoću imerzionog objektiva i imerzionog ulja jedinice pozitivne kontrolne grupe K-E, inficiranih ešerihijom i.p. administracijom  $3 \times 10^7$  CFU *Escherichia coli*/ ml su predstavljene u tabeli 31.

**Tabela br. 31 Parametri bijele loze kontrolnih jedinki inficiranih ešerihijom (K-E)**

		Broj leukocita $\times 10^9/l$ krvi	PROPORCIJE POJEDINIH FORMI LEUKOCITA				
			Neutrofili	Eozinofili	Bazofili	Limfociti	Monociti
K-E-24 ♂	1	6.20	0.210	0.000	0.010	0.780	0.000
	2	7.00	0.230	0.000	0.000	0.770	0.000
	3	7.00	0.180	0.000	0.000	0.820	0.000
	4	6.60	0.170	0.010	0.000	0.810	0.010
	5	6.80	0.250	0.000	0.000	0.740	0.010
K-E-24 ♀	1	6.40	0.170	0.000	0.000	0.830	0.000
	2	6.00	0.200	0.000	0.010	0.790	0.000
	3	7.60	0.160	0.000	0.010	0.830	0.000
	4	6.60	0.130	0.000	0.000	0.870	0.000
	5	7.20	0.120	0.000	0.000	0.880	0.000
K-E-72 ♂	1	7.20	0.200	0.010	0.000	0.790	0.000
	2	7.40	0.230	0.000	0.000	0.760	0.010
	3	6.60	0.150	0.010	0.000	0.840	0.000
	4	7.00	0.210	0.000	0.000	0.790	0.000
	5	7.60	0.170	0.000	0.000	0.830	0.000
K-E-72 ♀	1	7.80	0.240	0.010	0.000	0.750	0.000
	2	7.40	0.190	0.020	0.000	0.790	0.000
	3	7.00	0.140	0.000	0.000	0.860	0.000
	4	7.40	0.220	0.000	0.000	0.780	0.000
	5	7.00	0.130	0.000	0.020	0.840	0.010
K-E	AVG	<b>6.99</b>	<b>0.185</b>	<b>0.003</b>	<b>0.003</b>	<b>0.808</b>	<b>0.002</b>
	MIN	<b>6.00</b>	<b>0.120</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.740</b>	<b>0.000</b>
	MAX	<b>7.80</b>	<b>0.250</b>	<b>0.020</b>	<b>0.020</b>	<b>0.880</b>	<b>0.010</b>
	STDEV	<b>0.48</b>	<b>0.039</b>	<b>0.006</b>	<b>0.006</b>	<b>0.040</b>	<b>0.004</b>
	COV	<b>6.91</b>	<b>21.154</b>	<b>190.414</b>	<b>220.048</b>	<b>4.919</b>	<b>205.196</b>

Ukupan broj leukocita u krvi kontrolnih jedinki inficiranih ešerihijom se uvećao u odnosu na neinficirane jedinice kontrolne grupe (K-0) i kretao se od  $6.00 - 7.80 \times 10^9/l$  krvi, sa prosječnom vrijednošću od  $6.99 \times 10^9/l$  krvi, što je i dalje u skladu sa mnogim referentnim vrijednostima (Sharp i Villano, 2013; Davidović, 2013; Uduak *et al.*, 2013; Liberati *et al.*, 2004; Prichet i Corning, 2004; Stojić, 2004; Rusov, 1984; Charles Rivr Laboratories, 1998). Pojedini autori navode veće (Lindstrom *et al.*, 2015; Lewicka *et al.*, 2012; Thrall *et al.*, 2012; Oyeyemi *et al.*, 2009; Moriyama *et al.*, 2008; Charles River

Laboratories, 2008; Moore, 2000 i Jain, 1993), a drugi pak niže vrijednosti (Antai *et al.*, 2009) ovog parametra, kao uobičajene za zdrave pacove Wistar soja.

**Proporcija neutrofila** u krvi jedinki inficiranih ešerihijom se nije promijenila značajno u odnosu na neinficirane jedinke kontrolne grupe i iznosila je 0.120 - 0.250, prosječno 0.185. Kako je već navedeno, dobijene vrijednosti su u skladu sa mnogim literaturnim navodima.

**Proporcija eozinofila** je bila smanjena kod jedinki podvrgnutih infekciji u odnosu na jedinke kontrolne grupe, krećući se do maksimalnih 0.20, prosječne vrijednosti grupe 0.003. Ove snižene vrijednosti posmatranog parametra su u saglasnosti sa referentnim vrijednostima navedenim od Lindstrom *et al.* (2015), Sharp i Villano (2013), Charles River Laboratories (1998) i Rusov (1984).

**Bazofili** su takođe bili slabo zastupljeni u diferencijalnoj krvnoj slici inficiranih jedinki grupe K-E i imali su istu proporciju kao i eozinofili (maksimalno 0.020,  $\bar{x}$  = 0.003), što je u skladu sa literaturnim podacima (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Antai *et al.*, 2009; Moriyama *et al.*, 2008; Charles River Laboratories, 2008 i 1998 i Rusov, 1984.)

Vrijednosti **proporcije limfocita** su se kretale u rasponu od 0.740 - 0.880, prosječno 0.808, što predstavlja povećanje u odnosu na neinficirane jedinke kontrolne grupe. Uvećane vrijednosti proporcije limfocita inficiranih jedinki se i dalje nalaze u referentnim opsezima za ovaj parametar (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i Villano, 2013; Prichet i Corning, 2004; Moore, 2000; Charles River Laboratories, 1998 i Rusov, 1984). Pojedini autori su naveli manje vrijednosti udjela limfocita, kao uobičajene (Davidović, 2013; Uduak *et al.*, 2013; Lewicka *et al.*, 2012; Thrall *et al.*, 2012, Oyeyemi *et al.*, 2009, Antai *et al.*, 2009; Charles River Laboratories, 2008 i Jain, 1993), dok su drugi pak publikovali nešto veće vrijednosti ove proporcije (Moriyama *et al.*, 2008 i Liberati *et al.*, 2004).

Vrijednosti **proporcije monocita** su kod inficiranih jedinki takođe smanjene u odnosu na neinficirane. Konstatovana je proporcija do 0.010, prosječno 0.002 monocita u krvi pacova inficiranih ešerihijom. Pojedini autori navode izuzetno slabu zastupljenost monocita u krvi zdravih pacova (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i Villano, 2013; Charles River Laboratories, 1998 i Rusov, 1984), dok su kod nekih navedene znatno veće vrijednosti (npr. Kampfmann *et al.*, 2012; Antai *et al.*, 2009; Moriyama *et al.*, 2008 i Charles River Laboratories, 2008).

Pri intraperitonealnoj bakterijskoj inokulaciji (operativnim putem) uočava se direktna veza između bakterijskog inokuluma i promjena u koncentraciji leukocita. Veliki broj vijabilnih bakterija u inokulumu rezultuje leukopenijom unutar prvih 12 časova. Leukopenija u akutnoj fazi bakteremije se javlja, vjerovatno, usljed marginalizacije neutrofila u cirkulaciji. Nasuprot tome, kod životinja sa manjom koncentracijom bakterija u inokulumu dolazi do laganog povećanja ukupnog broja leukocita, prvenstveno usljed dominantnosti neutrofila. Kod visokih doza bakterijske suspenzije, 12 časova, 72 časa i dalje nakon inokulacije, povećava se koncentracija neutrofila praćena povećanjem udjela limfocita, što ukazuje na inflamatorni odgovor organizma na infekciju (Wandall *et al.*, 1997).

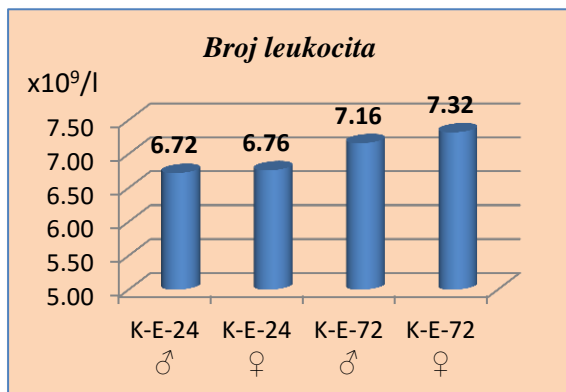
Komolafe i saradnici (2013) su uočili da ukupan broj leukocita kod inficiranih pacova dostiže svoj maksimum 72 časa od inokulacije, proporcija limfocita se postepeno smanjuje, a neutrofila povećava, dok monociti izostaju 24 časa po administraciji, a približavaju se normalnim vrijednostima 48 časova kasnije. Povećanje proporcije neutrofila 24 časa po unosu bakterijske suspenzije u organizam eksperimentalne životinje, ukazuje na stimulaciju imunog sistema na proliferaciju neutrofila usljed ozbiljnosti infekcije. Neutrofili su uglavnom odgovorni za fagocitozu patogenih mikroorganizama tokom prvih nekoliko sati od ulaska u inficirano tkivo. Kako digestija invazivnih mikroorganizama dovodi do smrti neutrofila, njihov broj postepeno opada u perifernoj cirkulaciji. Monociti, pored limfocita, imaju značajnu ulogu u imunom odgovoru pacova na infekciju, pa se vjerovatno transformišu u makrofage na mjestu infekcije i fagocitiraju patogene organizme, usljed čega je njihova proporcija u cirkulaciji svedena na minimum.

Ogundare i Onifade (2009) su uočili povećanje ukupnog broja leukocita u krvi pacova inficiranih ešerihijom, sa promjenjenom proporcijom pojedinih formi leukocita u korist neutrofila, što je potvrdilo uspostavljanje infekcije.

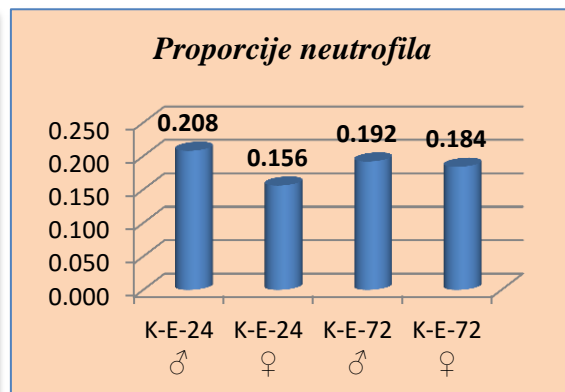
Post Hoc LSD testom višestruke komparacije statistički značajna odstupanja se uočavaju samo za ukupan broj leukocita i udio neutrofila, dok su proporcije ostalih formi leukocita relativno ujednačeno zastupljene kod jedinki oba pola žrtvovanih 24 i 72 časa od inokulacije bakterijske suspenzije (grafikoni 343-348).

Najvišu vrijednost ukupnog broja leukocita (grafikon 343) imale su ženke grupe K-E-72, značajno povećanu u odnosu na mužjake grupe K-E-24 ( $p=0.047$ ).

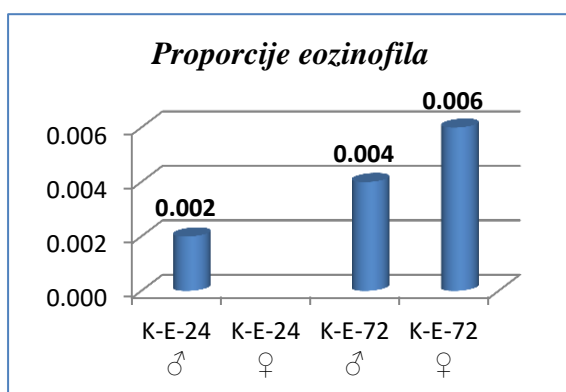
Ženke K-E-24 su imale značajno sniženu proporciju neutrofila (grafikon 344) u odnosu na mužjake iste grupe ( $p=0.041$ ).



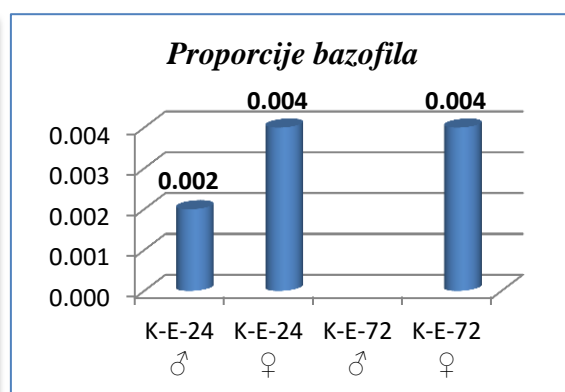
**Grafikon br. 343 Broj leukocita po litri krvi kontrolnih jedinki inficiranih ešerihijom**



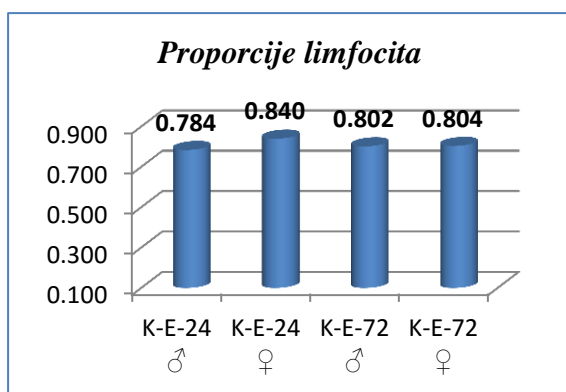
**Grafikon br. 344 Srednje vrijednosti proporcija neutrofila kontrolnih jedinki inficiranih ešerihijom**



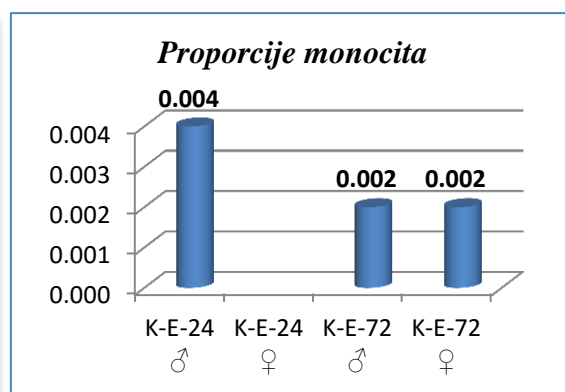
**Grafikon br. 345 Srednje vrijednosti proporcija eozinofila kontrolnih jedinki inficiranih ešerihijom**



**Grafikon br. 346 Srednje vrijednosti proporcija bazofila kontrolnih jedinki inficiranih ešerihijom**

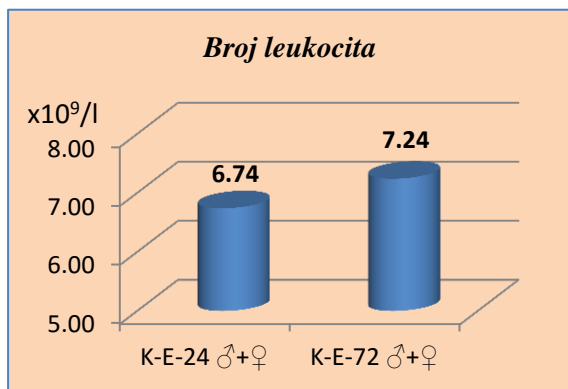


**Grafikon br. 347 Srednje vrijednosti proporcija limfocita kontrolnih jedinki inficiranih ešerihijom**

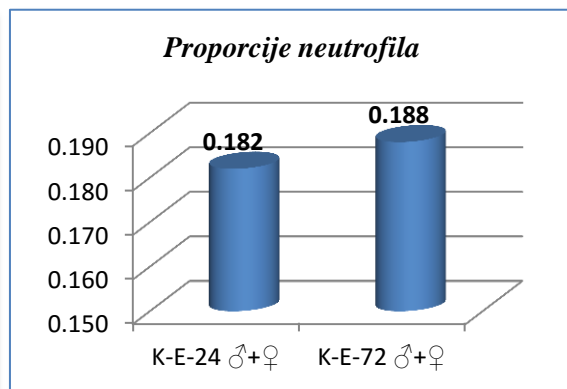


**Grafikon br. 348 Srednje vrijednosti proporcija monocita kontrolnih jedinki inficiranih ešerihijom**

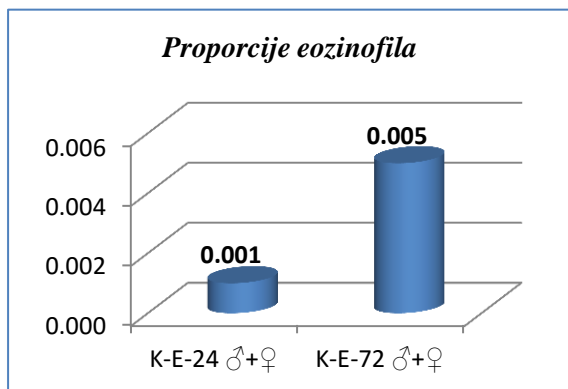
## 4.3.2.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)



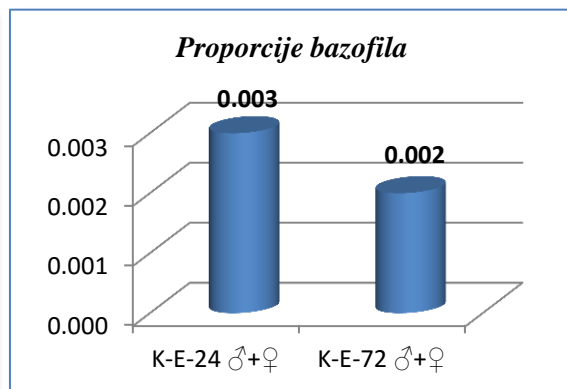
Grafikon br. 349 Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



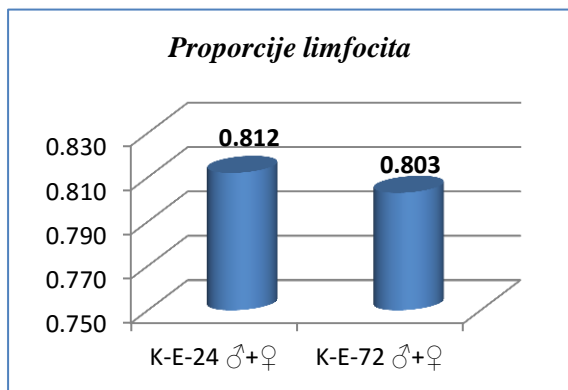
Grafikon br. 350 Komparacija proporcije neutrofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



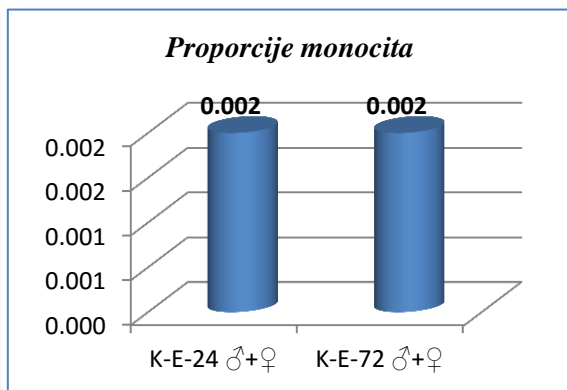
Grafikon br. 351 Komparacija proporcije eozinofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



Grafikon br. 352 Komparacija proporcije bazofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



Grafikon br. 353 Komparacija proporcije limfocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



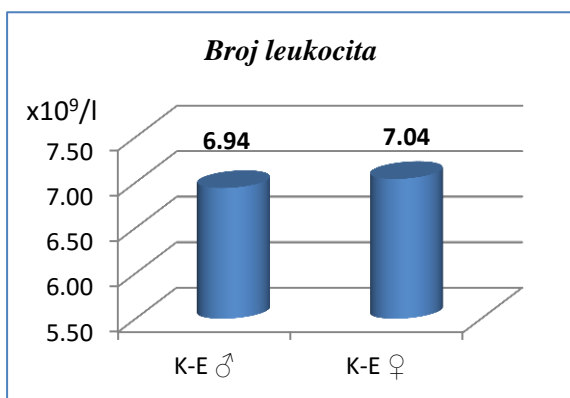
Grafikon br. 354 Komparacija proporcije monocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Statistički signifikantno odstupanje se uočava za vrijednosti ukupnog broja leukocita (grafikon 349), značajno povećanog kod jedinki žrtvovanih 72 u odnosu na one žrtvovane 24 časa od izazivanja infekcije ( $p=0.016$ ).

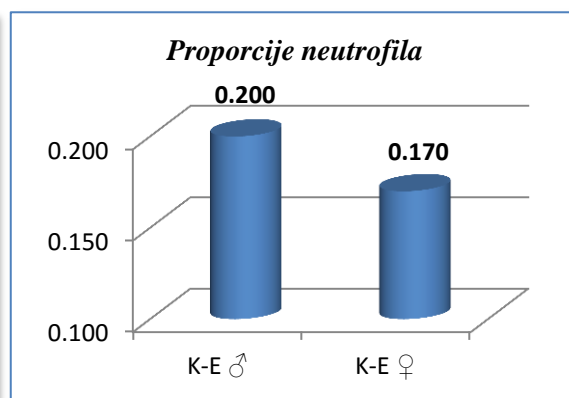
Srednje vrijednosti proporcija pojedinih leukocitnih formi, dobijene diferenciranjem krvnih razmaza, predstavljene grafikonima 350-354, nisu statistički bitno povećane/umanjene između jedinki žrtvovanih u različito vrijeme od administracije bakterijske suspenzije ( $p>0.050$ ).

### 4.3.2.2. Leukogram i pol

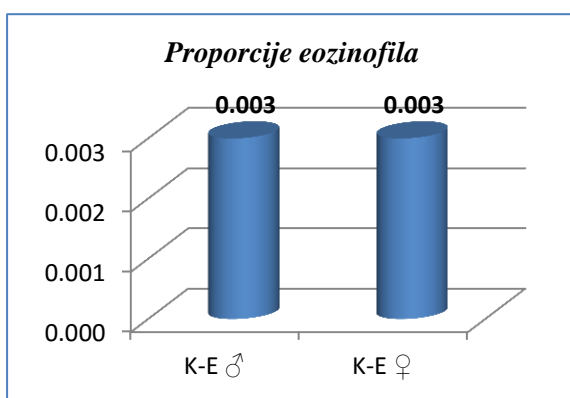
Parametri bijele loze jedinki inficiranih ešerihijom, komparirani u odnosu na polnu pripadnost (grafikoni 355-360), ne pokazuju signifikantna odstupanja ( $p>0.050$ ).



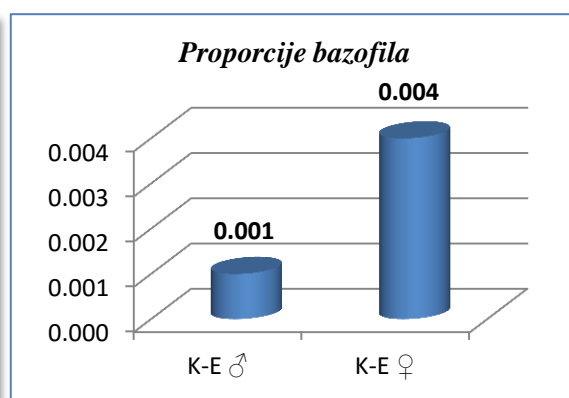
**Grafikon br. 355** Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između mužjaka i ženki



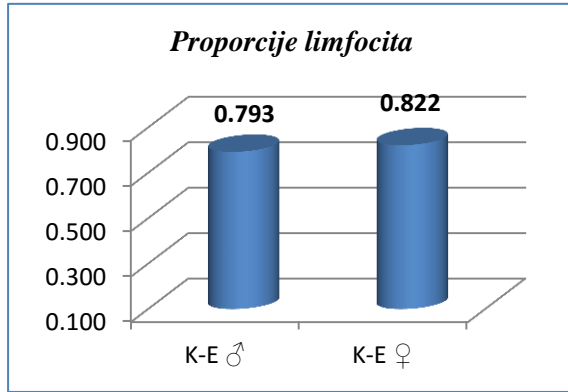
**Grafikon br. 356** Komparacija proporcije neutrofila između mužjaka i ženki



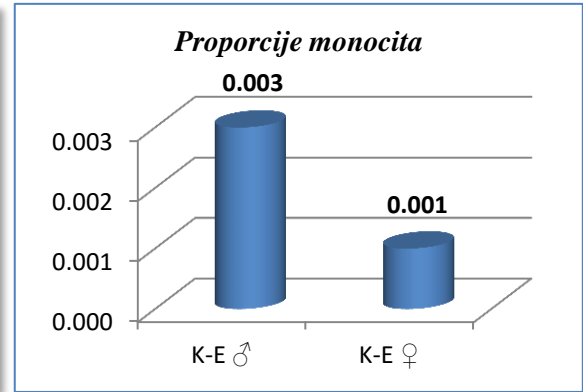
**Grafikon br. 357** Komparacija proporcije eozinofila između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 358** Komparacija proporcije bazofila između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 359** Komparacija proporcije limfocita između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 360** Komparacija proporcije monocita između mužjaka i ženki

4.3.3. Tretman olovo-acetatom (Pb-0)

Vrijednosti leukograma svih jedinki pojenih olovo-acetatom i podvrgnutih intraperitonealnom ubrizgavanju sterilnog fiziološkog rastvora su predstavljene u tabeli 32.

Tabela br. 32 Parametri bijele loze jedinki pojenih olovo-acetatom (Pb-0)

		Broj leukocita $\times 10^9/l$ krvi	PROPORCIJE POJEDINIH FORMI LEUKOCITA				
			Neutrofili	Eozinofili	Bazofili	Limfociti	Monociti
Pb-0-24 ♂	1	5.80	0.260	0.000	0.050	0.690	0.000
	2	5.80	0.050	0.000	0.050	0.900	0.000
	3	6.00	0.100	0.000	0.010	0.890	0.000
	4	5.00	0.110	0.000	0.010	0.880	0.000
	5	4.80	0.150	0.010	0.010	0.830	0.000
Pb-0-24 ♀	1	5.00	0.100	0.000	0.030	0.860	0.010
	2	5.20	0.110	0.010	0.020	0.860	0.000
	3	5.40	0.090	0.010	0.010	0.880	0.010
	4	6.20	0.100	0.010	0.030	0.850	0.010
	5	5.00	0.130	0.030	0.010	0.820	0.010
Pb-0-72 ♂	1	4.40	0.190	0.000	0.020	0.790	0.000
	2	6.00	0.200	0.020	0.010	0.770	0.000
	3	6.20	0.230	0.010	0.050	0.710	0.000
	4	4.80	0.170	0.000	0.010	0.820	0.000
	5	5.40	0.250	0.020	0.030	0.700	0.000
Pb-0-72 ♀	1	5.20	0.160	0.010	0.010	0.820	0.000
	2	5.60	0.140	0.000	0.000	0.860	0.000
	3	6.00	0.100	0.010	0.030	0.850	0.010
	4	5.60	0.140	0.000	0.010	0.850	0.000
	5	5.20	0.110	0.010	0.010	0.870	0.000
Pb-0	AVG	<b>5.43</b>	<b>0.145</b>	<b>0.008</b>	<b>0.021</b>	<b>0.825</b>	<b>0.003</b>
	MIN	<b>4.40</b>	<b>0.050</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.690</b>	<b>0.000</b>
	MAX	<b>6.20</b>	<b>0.260</b>	<b>0.030</b>	<b>0.050</b>	<b>0.900</b>	<b>0.010</b>
	STDEV	<b>0.52</b>	<b>0.057</b>	<b>0.009</b>	<b>0.015</b>	<b>0.063</b>	<b>0.004</b>
	COV	<b>9.51</b>	<b>39.371</b>	<b>113.426</b>	<b>75.030</b>	<b>7.610</b>	<b>177.705</b>

Srednja vrijednost ukupnog broja leukocita jedinki intoksikovanih olovo-acetatom je iznosila  $5.43 \times 10^9/l$ , minimum  $4.56 \times 10^9/l$  i maksimum  $6.16 \times 10^9/l$  krvi, što je malo niže od vrijednosti uočenih kod jedinki kontrolne grupe, a u saglasnosti sa referentnim vrijednostima (Sharp i Villano, 2013; Liberati *et al.*, 2004; Prichet i Corning, 2004 i Charles River Laboratories, 1998).

Proporcije pojedinih formi leukocita su bile donekle izmjenjene u odnosu na vrijednosti utvrđene kod jedinki kontrolne grupe. Udio neutrofila u diferencijalnoj



krvnoj slici intoksikovanih pacova je iznosio 0.145, u opsegu od 0.050 - 0.260, manji nego kod kontrolnih jedinki. Ovakva proporcija neutrofila odgovara vrijednostima zabilježenim kod netretiranih jedinki mnogih autora (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i Villano, 2013; Kampfmann *et al.*, 2012; Moriyama *et al.*, 2008; Moore, 2000; Charles River Laboratories, 1998 i Jain, 1984).

Vrijednosti **proporcije eozinofila** (do 0.030,  $\bar{x}$ =0.008) i **monocita** (do 0.010,  $\bar{x}$ =0.003) su takođe smanjene kod jedinki pojenih olovom, a **bazofila** (sa maksimalnih 0.050,  $\bar{x}$ =0.021) i **limfocita** (0.690 - 0.900,  $\bar{x}$ =0.825) povećane u odnosu na jedinke kontrolne grupe. U odnosu na dostupne literaturne navode referentnih vrijednosti zdravih, netretiranih Wistar pacova, proporcija bazofila je uvećana, dok se udjeli ostalih leukocitnih formi nalaze u normalnim granicama (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i Villano, 2013 itd.).

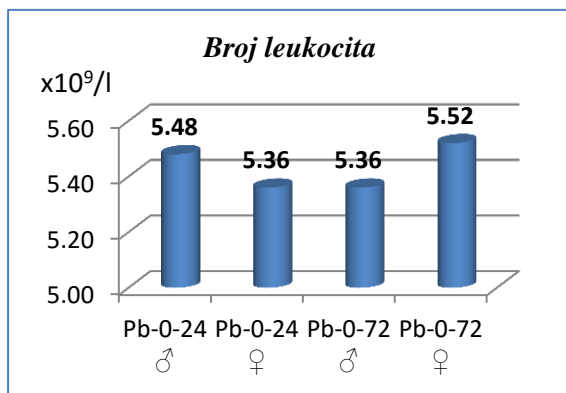
Obidike i saradnici (2010) su p.o. tretirali pacove tokom četrnaest dana olovo-acetatom u dozi od 0.25, 0.50 i 1.00 mg/kg tjelesne mase radi utvrđivanja leukocitnog odgovora na različite doze ovog polutanta. Uočili su limfocističnu leukocitozu kod jedinki podvrgnutih slaboj i visokoj dozi toksikanta, dok je ukupan broj leukocita jedinki sa srednjom dozom olovo-acetata ostao gotovo nepromijenjen u odnosu na kontrolnu grupu. Vrijednosti apsolutnog broja neutrofila jedinki sa srednjom dozom su bile značajno smanjene u odnosu na jedinke podvrgnute niskoj, odnosno visokoj dozi, kao i netretirane, kontrolne jedinke.

Pri akutnoj intoksikaciji olovo-acetatom (15 mg/kg tjelesne mase, i.p.) El Kader i saradnici (2012) su uočili smanjenje ukupnog broja leukocita. Dalja analiza broja leukocita i diferencijalne krvne slike intoksikovanih jedinki je pokazala leukopeniju i limfopeniju, nastale usljed toksičnog efekta olova na leukopoezu u limfnim organima. Povećana proporcija neutrofila i smanjen udio limfocita ukazuju na stimulaciju imunog odgovora i oksidativni stres kod intoksikovanih životinja.

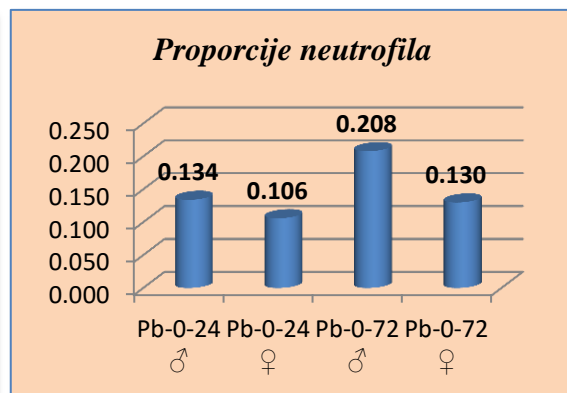
Tridesetodnevno izlaganje ženki Wistar pacova olovu putem vode (u koncentraciji 2g/l vode) dovodi do značajnih promjena hematološkog statusa. Pored promjena nastalih u parametrima crvene loze, značajno je smanjen ukupan broj leukocita u perifernoj cirkulaciji tretiranih jedinki, kao i proporcija limfocita (Simsek *et al.*, 2008).

Noori Mugahi i saradnici (2003), zatim Okediran i saradnici (2010) su zaključili da se ukupan broj leukocita kod jedinki tretiranih olovo-acetatom značajno povećava

(leukocitoza) uz izraženu neutrofiliju i monocitozu. S druge strane Suradkar i saradnici (2009), kao i Ibrahim i saradnici (2012) su zabilježili leukopeniju i limfopeniju pri većim dozama olovo-acetata, smatrajući da je takvo stanje posljedica direktne toksične aktivnosti olova na leukopoezu u limfoidnim organima. Brojna su mišljenja da imuni odgovor pacova na intoksikaciju olovo-acetatom zavisi od doze, starosti i pola jedinki.

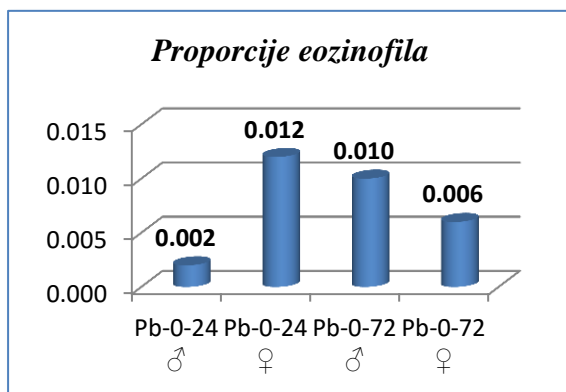


**Grafikon br. 361 Broj leukocita po litri krvi kontrolnih jedinki intoksikovanih olovo-acetatom**

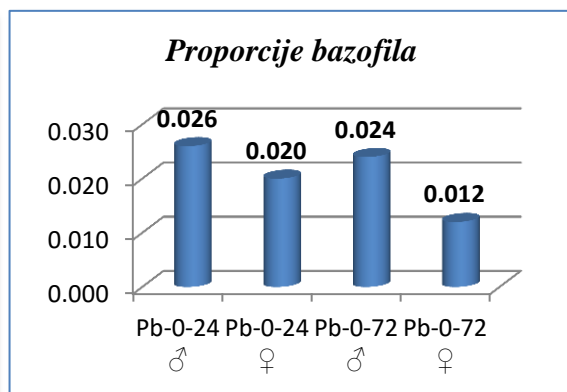


**Grafikon br. 362 Srednje vrijednosti proporcija neutrofila jedinki intoksikovanih olovo-acetatom**

Komparacijom dobijenih vrijednosti testom analize varijanse statistički značajne razlike u parametrima bijele loze jedinki pojenih olovo-acetatom se uočavaju za proporcije neutrofila, limfocita i monocita, dok se ukupan broj leukocita i udjeli eozinofila i bazofila ne razlikuju značajno između mužjaka i ženki žrtvovanih u različitom postaplikativnom periodu.

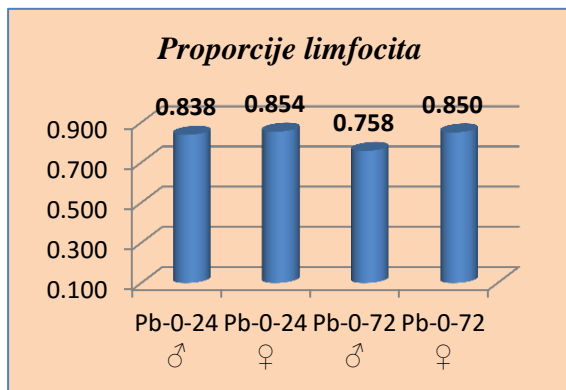


**Grafikon br. 363 Srednje vrijednosti proporcija eozinofila jedinki intoksikovanih olovo-acetatom**

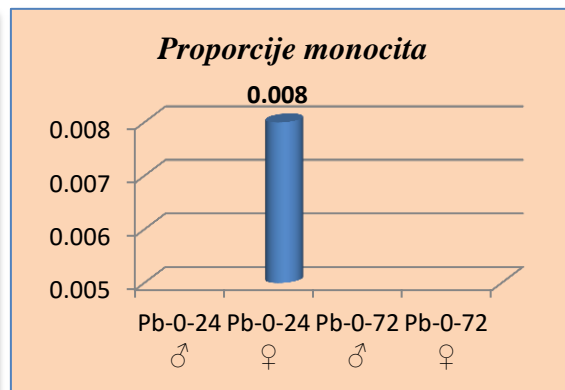


**Grafikon br. 364 Srednje vrijednosti proporcija bazofila jedinki intoksikovanih olovo-acetatom**

Značajno povećanje proporcije neutrofila je zabilježeno u diferencijalnoj krvnoj slici mužjaka grupe Pb-0-72 u odnosu na ženke iste grupe ( $p=0.014$ ), kao i mužjake ( $p=0.019$ ) i ženke ( $p=0.002$ ) grupe Pb-0-24 (grafikon 362).



**Grafikon br. 365 Srednje vrijednosti proporcija limfocita jedinki intoksikovanih olovo-acetatom**



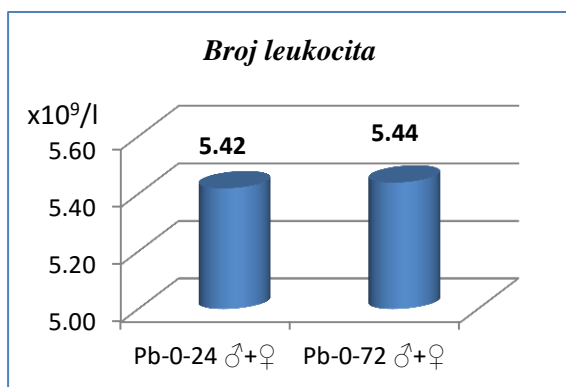
**Grafikon br. 366 Srednje vrijednosti proporcija monocita jedinki intoksikovanih olovo-acetatom**

Istovremeno, udio limfocita navedenih mužjaka (Pb-0-72) se značajno smanjio u odnosu na ženke iste grupe ( $p=0.014$ ), kao i mužjake ( $p=0.029$ ) i ženke grupe Pb-0-24 ( $p=0.011$ ).

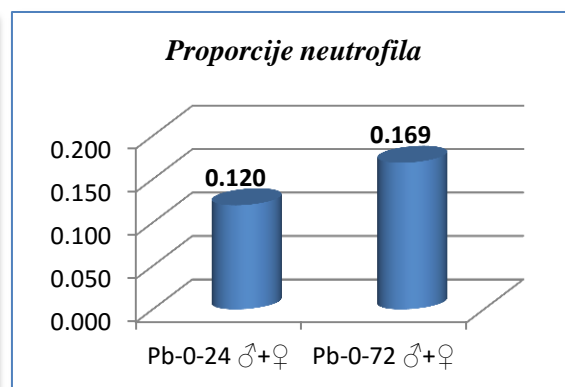
Monociti su uočeni jedino kod jedinki Pb-0-24 ♀, što ih značajno razdvaja od jedinki grupa Pb-0-24 ♂ i Pb-0-72 ♂ ( $p=0.001$ ), kao i Pb-0-72 ♀ ( $p=0.008$ ).

#### 4.3.3.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

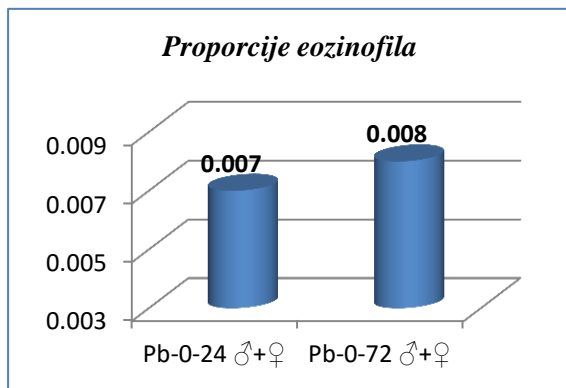
Nezavisnim T testom nisu uočene signifikantne razlike ( $p>0.050$ ) između jedinki žrtvovanih 24 i 72 časa od i.p. aplikacije fiziološkog rastvora (grafikoni 367-372).



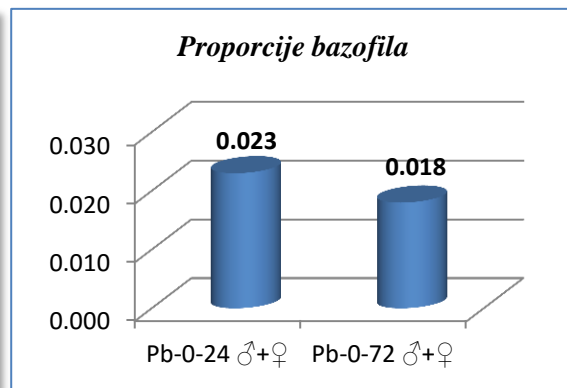
**Grafikon br. 367 Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata**



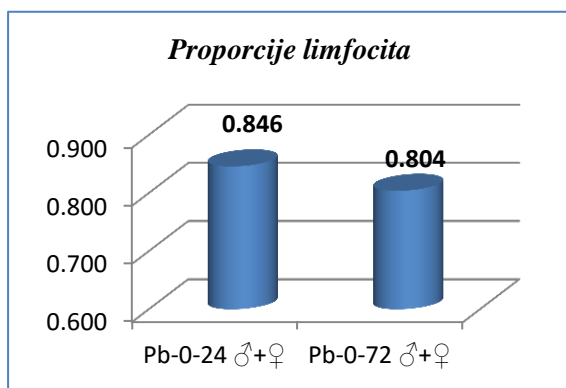
**Grafikon br. 368 Komparacija proporcije neutrofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata**



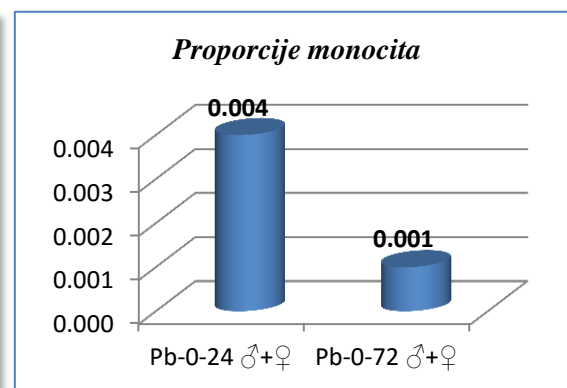
Grafikon br. 369 Komparacija proporcije eozinofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



Grafikon br. 370 Komparacija proporcije bazofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

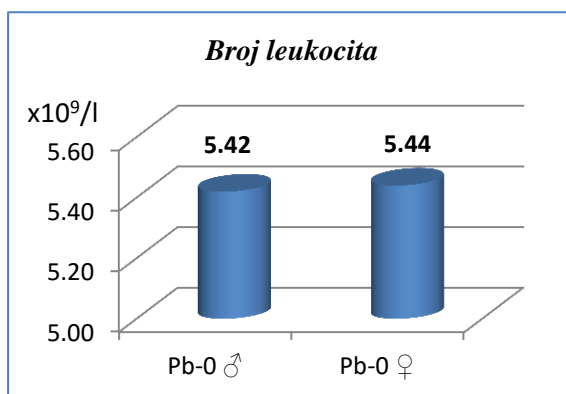


Grafikon br. 371 Komparacija proporcije limfocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

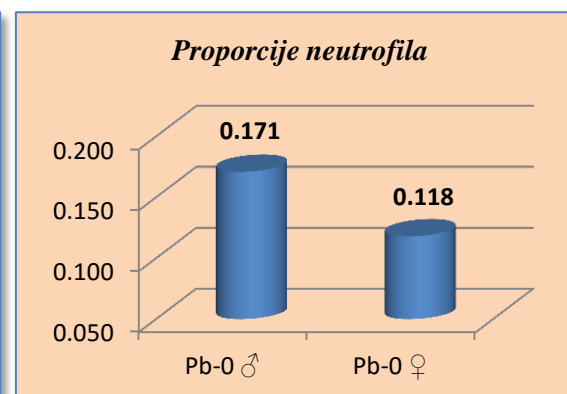


Grafikon br. 372 Komparacija proporcije monocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

4.3.3.2. Leukogram i pol

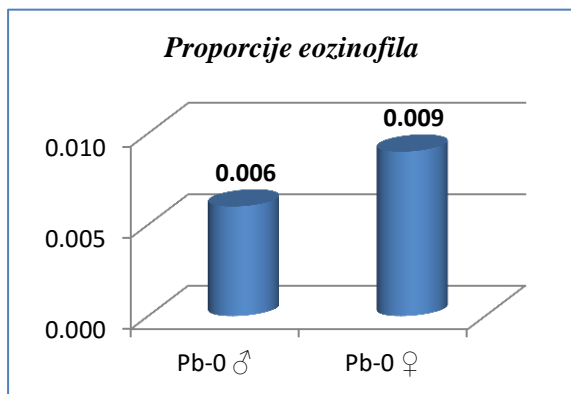


Grafikon br. 373 Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između mužjaka i ženki

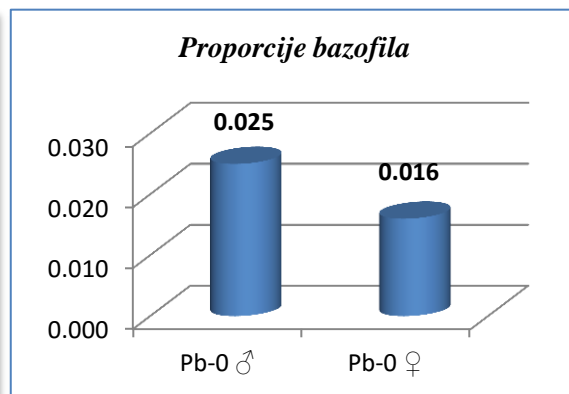


Grafikon br. 374 Komparacija proporcije neutrofila između mužjaka i ženki

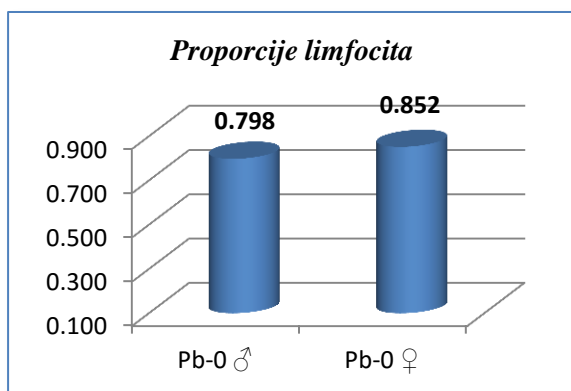
Proporcija neutrofila (grafikon 374) je značajno smanjena kod ženki u odnosu na mužjake ( $p=0.041$ ), dok je udio monocita (grafikon 378) značajno povećan samom činjenicom da monociti nisu konstatovani pri diferenciranju krvnih razmaza mužjaka pojenih olovo-acetatom ( $p=0.015$ ).



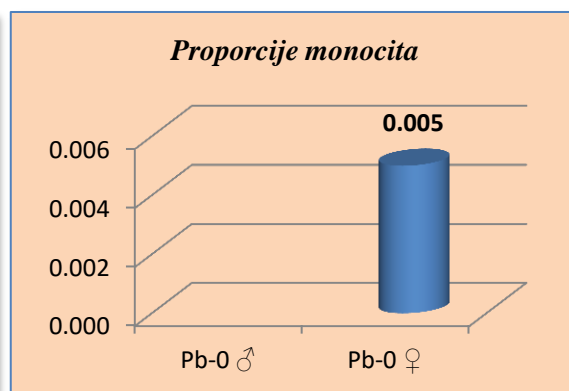
*Grafikon br. 375 Komparacija proporcije eozinofila između mužjaka i ženki*



*Grafikon br. 376 Komparacija proporcije bazofila između mužjaka i ženki*



*Grafikon br. 377 Komparacija proporcije limfocita između mužjaka i ženki*



*Grafikon br. 378 Komparacija proporcije monocita između mužjaka i ženki*

### 4.3.4. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih olovo-acetatom (Pb-E)

Diferenciranjem krvnih razmaza jedinki pojenih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom dobijeni su podaci predstavljeni u tabeli 33.

**Tabela.br. 33 Parametri bijele loze inficiranih jedinki pojenih olovo-acetatom (Pb-E)**

		Broj leukocita $\times 10^9/l$ krvi	PROPORCIJE POJEDINIH FORMI LEUKOCITA				
			Neutrofili	Eozinofili	Bazofili	Limfociti	Monociti
<b>Pb-E-24 ♂</b>	1	5.60	0.030	0.000	0.020	0.950	0.000
	2	6.20	0.330	0.000	0.020	0.650	0.000
	3	6.00	0.190	0.000	0.010	0.800	0.000
	4	6.20	0.260	0.000	0.020	0.720	0.000
	5	6.00	0.170	0.010	0.030	0.780	0.010
<b>Pb-E-24 ♀</b>	1	6.00	0.180	0.000	0.040	0.780	0.000
	2	5.80	0.090	0.010	0.030	0.870	0.000
	3	6.00	0.070	0.000	0.030	0.900	0.000
	4	6.40	0.160	0.010	0.040	0.790	0.000
	5	6.00	0.210	0.000	0.020	0.770	0.000
<b>Pb-E-72 ♂</b>	1	5.60	0.330	0.000	0.000	0.670	0.000
	2	5.80	0.270	0.010	0.040	0.680	0.000
	3	6.20	0.230	0.010	0.000	0.760	0.000
	4	6.20	0.320	0.000	0.000	0.680	0.000
	5	6.00	0.220	0.010	0.050	0.720	0.000
<b>Pb-E-72 ♀</b>	1	6.20	0.210	0.000	0.020	0.770	0.000
	2	6.60	0.230	0.000	0.010	0.750	0.010
	3	6.20	0.190	0.010	0.030	0.770	0.000
	4	5.60	0.220	0.000	0.010	0.770	0.000
	5	6.00	0.390	0.000	0.020	0.590	0.000
<b>Pb-E</b>	AVG	6.03	0.215	0.004	0.022	0.759	0.001
	MIN	5.60	0.030	0.000	0.000	0.590	0.000
	MAX	6.60	0.390	0.010	0.050	0.950	0.010
	STDEV	0.26	0.089	0.005	0.014	0.085	0.003
	COV	4.34	41.615	139.817	65.290	11.181	307.794

Dobijene vrijednosti ukupnog **broja leukocita** ovih jedinki su bile uvećane u odnosu na jedinke kontrolne grupe i imale su raspon od  $5.60 - 6.60 \times 10^9/l$  krvi, prosječno  $6.06 \times 10^9/l$  krvi za cijelu grupu inficiranih jedinki pojenih olovo-acetatom. Uvećane vrijednosti se i dalje nalaze u opsegu referentnih vrijednosti navedenih kod Sharp i Villano (2013), Liberati *et al.* (2004), Prichet i Corning (2004) i Charles River Laboratories (1998).

**Proporcija neutrofila** je iznosila od 0.030 - 0.390, prosječno 0.215, što je veoma slično podacima dobijenim za jedinke kontrolne grupe, kao i onim kod mnogih autora (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Moore, 2000; Charles River Laboratories, 1998; Jain, 1993 i Rusov, 1984).

Uočene su vrijednosti **proporcije eozinofila** intoksikovanih i inficiranih jedinki u rasponu do 0.010, prosječno 0.004. Kod jedinki kontrolne grupe je konstatovan veći udio eozinofila u krvi. Međutim, vrijednosti ovog parametra kod kontrolnih, ali i tretiranih jedinki se i dalje nalaze u okviru referentnih vrijednosti (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i Villano, 2013; Rusov, 1984).

Zabilježeno je povećanje **proporcije bazofila** kod jedinki pojenih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom u odnosu na jedinke kontrolne grupe. Srednja vrijednost ovog parametra tretiranih jedinki je iznosila 0.022, a maksimalna vrijednost 0.050, što je iznad normalnih granica navedenih u literaturi (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Antai *et al.*, 2009; Moriyama *et al.*, 2008; Charles River Laboratories, 2008 i 1998; kao i Rusov, 1984).

Najzastupljenija forma leukocita u krvi tretiranih pacova su bili **limfociti**, čija se proporcija kretala od 0.590 - 0.950, prosječno 0.759, nešto više nego kod jedinki kontrolne grupe. Dobijene vrijednosti su u saglasnosti sa onim publikovanim od strane Charles River Laboratories (1998) i Rusov (1984), dok su iznad ostalih, ranije navedenih, literaturnih vrijednosti.

**Proporcija monocita** je ostala smanjena u odnosu na referentne vrijednosti i kod tretiranih jedinki, kao i kod kontrolnih. Zabilježene su dobijene vrijednosti ovog parametra u rasponu do 0.010, sa prosjekom grupe od 0.001.

Othman i saradnici (2004) su uočili signifikantno smanjenje ukupnog broja leukocita, kao i proporcije limfocita, praćene povećanjem udjela neutrofila, u krvi pacova intoksikovanih i.m. olovo-acetatom tokom 7 dana u dnevnoj dozi od 10 mg/kg tjelesne mase.

S druge strane, Diefy i saradnici (2014) su primjetili da se, pri intoksikaciji olovo-acetatom koncentracije 100 ppm putem vode *ad libitum* tokom 12 sedmica, vrijednosti leukograma mijenjaju u odnosu na kontrolnu grupu na dva načina. Ukupan broj leukocita se značajno povećao u drugoj i četvrtoj sedmici eksperimenta, dok je u desetoj i dvanaestoj zabilježio značajan pad, u odnosu na vrijednosti kontrolne grupe. Limfociti, granulociti i monociti su pokazali iste promjene kao i leukociti, značajno

smanjene vrijednosti po okončanju eksperimenta, s tim da je pad proporcije granulocita uočen i u prvom dijelu eksperimenta. Autori smatraju da je smanjenje ukupnog broja leukocita direktno povezano sa smanjenom leukopoezom u limfoidnim organima, ili povećanim liziranjem bijelih krvnih ćelija usljed prisustva olova u organizmu, dok je prvobitno povećanje prisustva leukocita u perifernoj cirkulaciji uslovljeno imunim odgovorom organizma, leukocitozom, na toksični efekat olova na leukopoezu u limfoidnim organima.

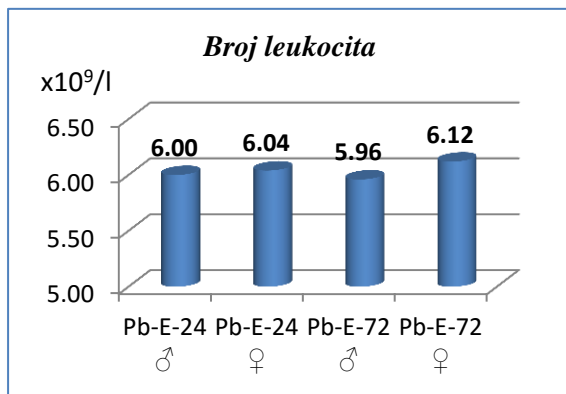
Pri izazivanju septičkog šoka laboratorijskim pacovima i.v. administracijom *Escherichia coli* ( $1 \times 10^9$  CFU/100g tjelesne mase) uočavaju se promjene leukograma već unutar prvih nekoliko sati. Tako se nakon 1.5 i 5 sati može konstatovati značajno smanjenje ukupnog broja leukocita, povećanje proporcije neutrofila i smanjenje proporcije limfocita u odnosu na nulta vrijeme – vrijeme administracije bakterijske suspenzije. Međutim, u komparaciji sa vrijednostima kontrolne grupe autori (Dembovska *et al.*, 2008) su uočili signifikantno smanjenje broja leukocita samo pri okončanju eksperimenta, 5 sati nakon izazivanja septičkog šoka, dok promjene u diferencijalnoj krvnoj slici nemaju statistički značaj.

S druge strane, El-Boshy i saradnici (2013) su konstatovali leukocitozu i neutrofiliju pri oralnoj infekciji ešerihijom Wistar pacova ( $3 \times 10^9$  CFU/ml). Krv uzeta kardijalnom punkcijom sedmicu dana po začetku infekcije je imala značajno veći broj leukocita, kao i povećanu proporciju neutrofila u odnosu na neinficirane jedinke. Tri sedmice po infekciji, leukogram inficiranih jedinki se vratio u normalne, fiziološke granice.

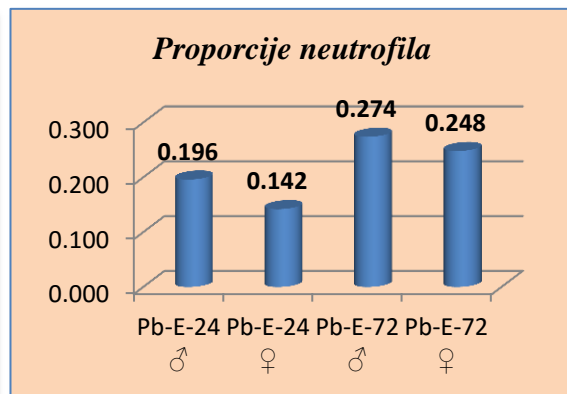
Analiza ukupnog broja leukocita pokazuje da bakterijska infuzija ( $3-5 \times 10^9$  CFU/ml) izaziva leukopeniju usljed smanjenog broja limfocita i monocita unutar prva tri sata od izazivanja bakteremije, potom značajnu leukocitozu i granulocitozu dvadeset i jedan čas kasnije (Guarda *et al.*, 2015).

Višestrukom komparacijom dobijenih vrijednosti leukograma između jedinki različitih grupa tretiranih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom (Pb-E-24 ♂, Pb-E-24 ♀, Pb-E-72 ♂ i Pb-E-72 ♀) uočavaju se značajne promjene samo za proporcije limfocita i neutrofila u diferencijalnim krvnim slikama žrtvovanih jedinki. Ostali parametri bijele loze se nalaze izvan statističke signifikantnosti (grafikoni 379-384).

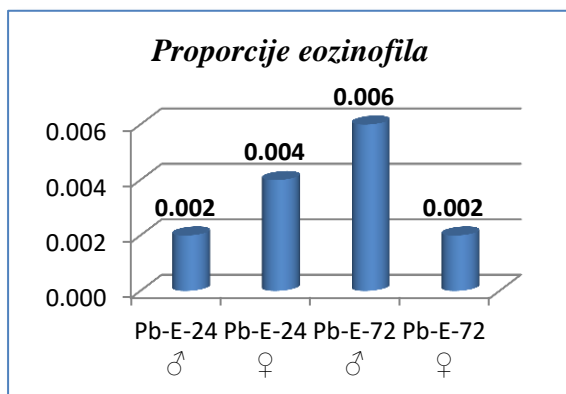




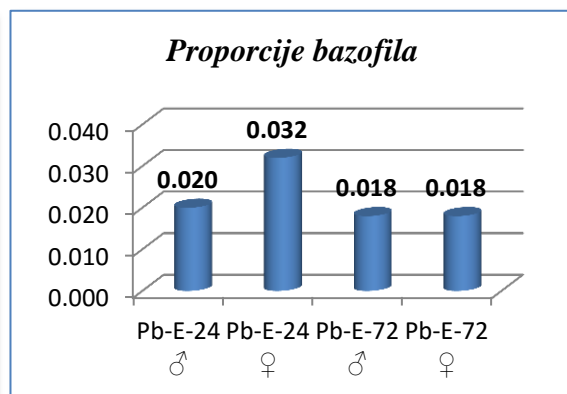
Grafikon br. 379 Broj leukocita po litri krvi jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom



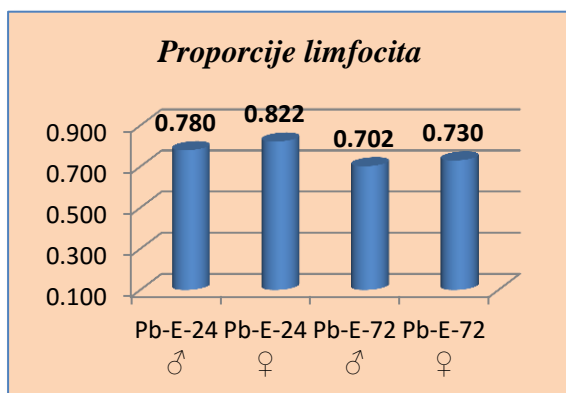
Grafikon br. 380 Srednje vrijednosti proporcija neutrofila jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom



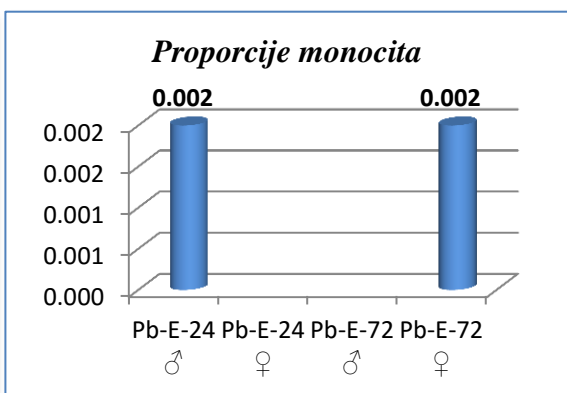
Grafikon br. 381 Srednje vrijednosti proporcija eozinofila jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom



Grafikon br. 382 Srednje vrijednosti proporcija bazofila jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom



Grafikon br. 383 Srednje vrijednosti proporcija limfocita jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom



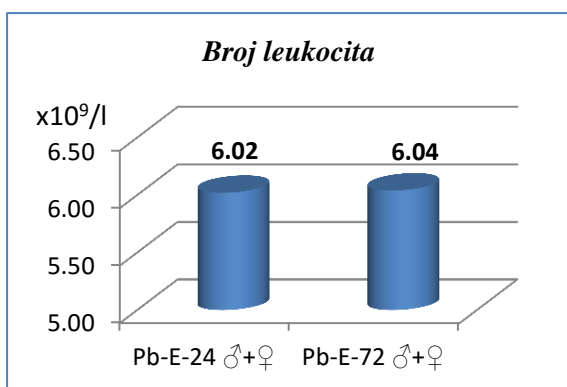
Grafikon br. 384 Srednje vrijednosti proporcija monocita jedinki intoksikovanih olovo-acetatom i inficiranih ešerihijom

Najmanja proporcija neutrofila (grafikon 380) je zabilježena kod ženki žrtvovanih 24 časa od injekcije bakterijske suspenzije, značajno niža od vrijednosti

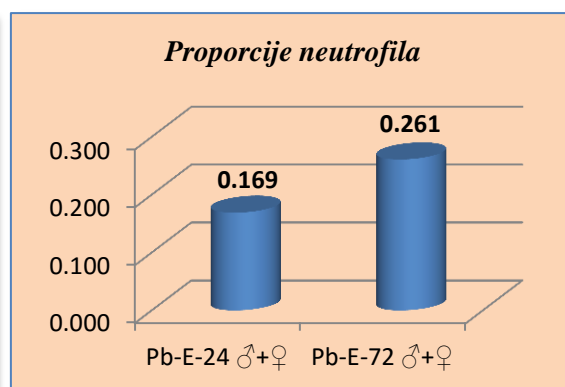
evidentiraanih za mužjake Pb-E-72 ( $p=0.018$ ) malo iznad granice značaja u odnosu na ženke Pb-E-72 ( $p=0.051$ ). Neutropenija zabilježena kod Pb-E-24 ♀ je bila praćena limfocitozom (grafikon 383), posebno u odnosu na jedinke grupe Pb-E-72 ♂ ( $p=0.025$ ).

### 4.3.4.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

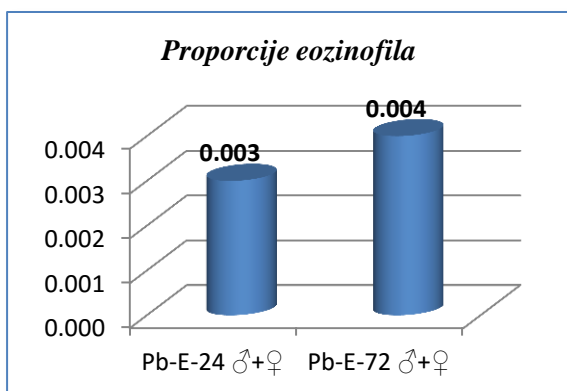
Poređenjem vrijednosti leukograma između jedinki žrtvovanih u različito postaplikativno vrijeme, statistički značajne razlike nisu uočene za ukupan broj leukocita, proporcije eozinofila, bazofila i monocita (grafikoni 385, 387, 388 i 390) dok se pri kasnijem žrtvovanju kod inficiranih jedinki pojenih olovo-acetatom uočava neutrofilija praćena limfopenijom (grafikoni 386 i 389).



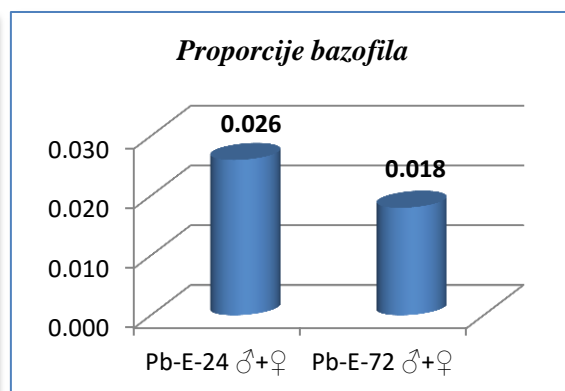
**Grafikon br. 385** Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 386** Komparacija proporcije neutrofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

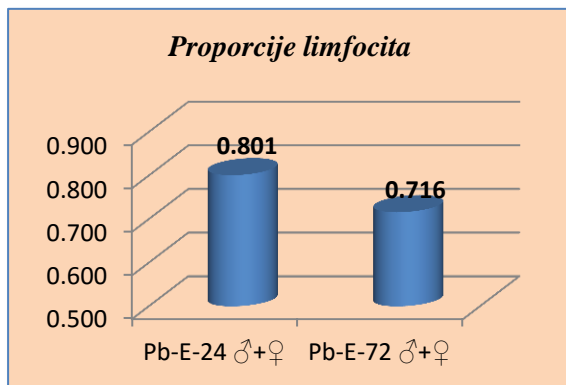


**Grafikon br. 387** Komparacija proporcije eozinofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

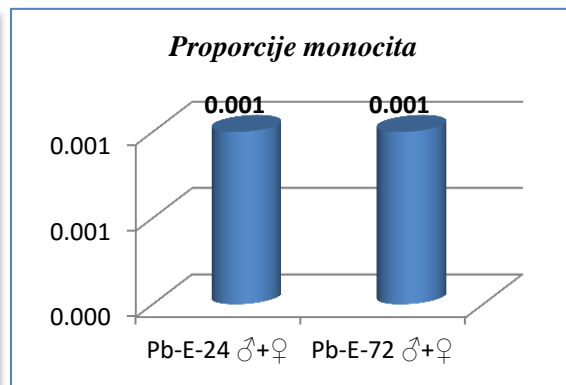


**Grafikon br. 388** Komparacija proporcije bazofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Značajno veći broj neutrofila je zabilježen kod jedinki žrtvovanih 72 časa po izazivanju bakterijske infekcije ( $p=0.017$ ), kao i signifikantno niži broj limfocita ( $p=0.020$ ) u odnosu na jedinke žrtvovane 48 časova ranije.

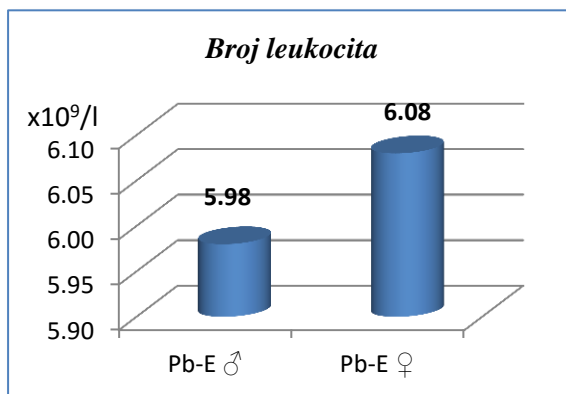


Grafikon br. 389 Komparacija proporcije limfocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

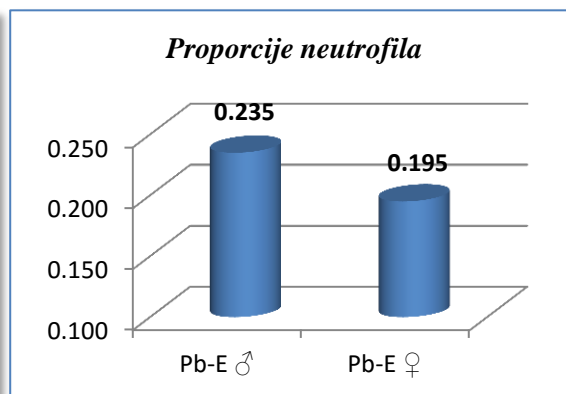


Grafikon br. 390 Komparacija proporcije monocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

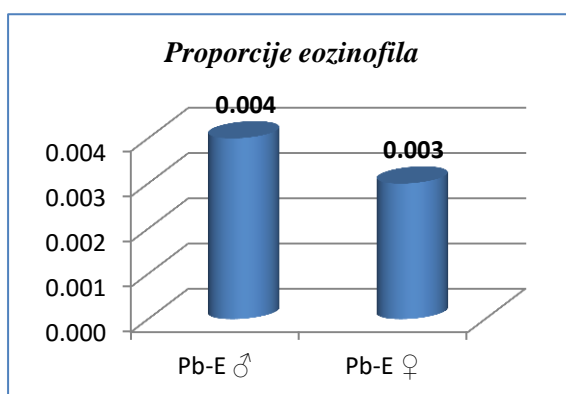
4.3.4.2. Leukogram i pol



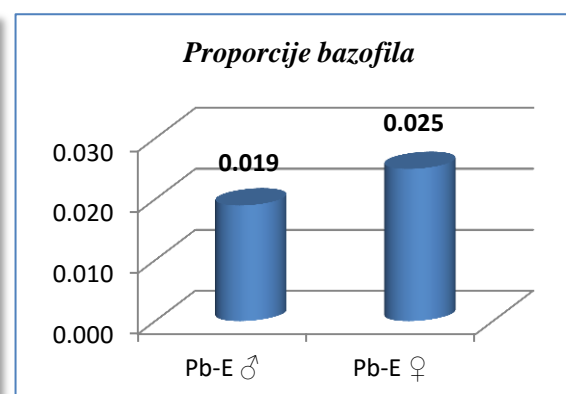
Grafikon br. 391 Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između mužjaka i ženki



Grafikon br. 392 Komparacija proporcije neutrofila između mužjaka i ženki

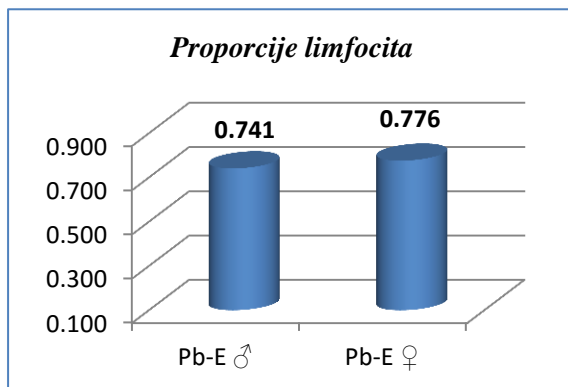


Grafikon br. 393 Komparacija proporcije eozinofila između mužjaka i ženki

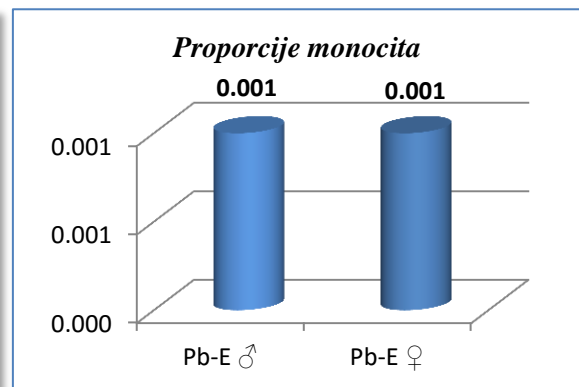


Grafikon br. 394 Komparacija proporcije bazofila između mužjaka i ženki

Analiza leukograma jedinki različitog pola nije pokazala statistički značajne razlike nijednog posmatranog parametra ( $p > 0.050$ ).



**Grafikon br. 395** Komparacija proporcije limfocita između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 396** Komparacija proporcije monocita između mužjaka i ženki

4.3.5. Tretman aloksanom (All-0)

Jedinke sa vještački izazvanom hiperglikemijom su imale veći broj leukocita po litri krvi od kontrolnih jedinki (tabela 34), koji se kretao od  $6.20 - 7.00 \times 10^9/l$ , prosječno  $6.54 \times 10^9/l$  krvi. Dobijene vrijednosti ovog parametra se i dalje nalaze u opsegu referentnih vrijednosti (Sharp i Villano, 2013; Davidović, 2013; Uduak *et al.*, 2013; Liberati *et al.*, 2004; Prichet i Corning, 2004; Stojić, 2004; Rusov, 1984; Charles River Laboratories, 1998).

Tabela br. 34 Parametri bijele loze jedinki tretiranih aloksanom (All-0)

		Broj leukocita $\times 10^9/l$ krvi	PROPORCIJE POJEDINIH FORMI LEUKOCITA				
			Neutrofili	Eozinofili	Bazofili	Limfociti	Monociti
All-0-24 ♂	1	6.40	0.320	0.090	0.000	0.530	0.060
	2	6.20	0.100	0.000	0.000	0.890	0.010
	3	6.20	0.220	0.000	0.010	0.720	0.050
	4	6.60	0.060	0.000	0.000	0.940	0.000
	5	6.40	0.060	0.010	0.000	0.930	0.000
All-0-24 ♀	1	6.20	0.150	0.090	0.020	0.720	0.020
	2	6.20	0.190	0.020	0.000	0.740	0.050
	3	6.60	0.150	0.050	0.020	0.770	0.010
	4	6.80	0.210	0.030	0.000	0.760	0.000
	5	6.20	0.020	0.000	0.000	0.980	0.000
All-0-72 ♂	1	6.80	0.070	0.020	0.000	0.900	0.010
	2	6.20	0.250	0.010	0.040	0.680	0.020
	3	6.80	0.300	0.050	0.000	0.640	0.030
	4	7.00	0.170	0.010	0.000	0.820	0.000
	5	6.80	0.230	0.060	0.010	0.700	0.000
All-0-72 ♀	1	6.40	0.210	0.000	0.020	0.770	0.000
	2	6.60	0.230	0.000	0.010	0.750	0.010
	3	6.60	0.120	0.040	0.000	0.840	0.000
	4	7.00	0.160	0.040	0.010	0.770	0.020
	5	6.80	0.180	0.020	0.000	0.770	0.030
All-0	AVG	6.54	0.170	0.027	0.007	0.781	0.016
	MIN	6.20	0.020	0.000	0.000	0.530	0.000
	MAX	7.00	0.320	0.090	0.040	0.980	0.060
	STDEV	0.28	0.081	0.029	0.011	0.110	0.019
	COV	4.34	47.559	106.872	154.419	14.050	118.932

Proporcija neutrofilnih granulocita u diferencijalnoj krvnoj slici jedinki tretiranih aloksanom je imala vrijednosti od 0.020 - 0.320, prosječno 0.170, slično vrijednostima dobijenim za jedinke kontrolne grupe.

Vrijednosti **proporcije eozinofila** su takođe bile veoma slične onima kod kontrolne grupe sa maksimumom od 0.090 i prosječnom vrijednošću 0.027.

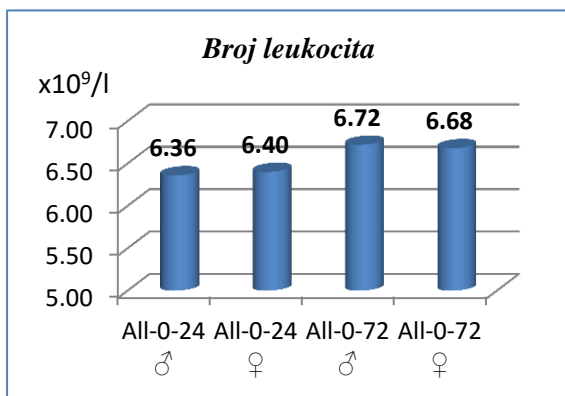
Raspon **proporcije bazofila** je smanjen kod tretiranih jedinki u odnosu na netretirane, sa najvećim udjelom od 0.040, dok su ostvarili istu srednju vrijednost uzorka, 0.007.

**Udio limfocita** u leukogramu tretiranih jedinki je iznosio od 0.530 - 0.980, prosječno 0.781, neznatno više nego kod kontrolnih jedinki, kao i **monocita**, do 0.060, prosječno 0.016.

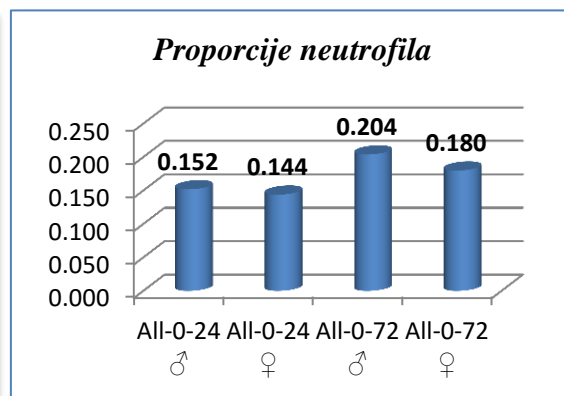
Pri indukciji dijabetesa aloksanom u dozi 70 mg/kg tjelesne mase, i.v., Akah i saradnici (2009) su primijetili u diferencijalnoj krvnoj slici pacova sa izraženom hiperglikemijom povećanje proporcije neutrofila, monocita i bazofila, snižen udio limfocita i eozinofila i povećan ukupan broj leukocita, u odnosu na kontrolne jedinke.

Povećanje ukupnog broja leukocita je uočeno i kod dijabetičnih miševa. Sengupta i saradnici (2012) su izazvali dijabetes miševima intraperitonealnom injekcijom aloksana u dozi od 120 mg/kg tjelesne mase, radi utvrđivanja antihiperglikemijskih efekata različitih rastvora ekstrakata lišća *Cajanus cajan* i pritom kod jedinki dijabetične kontrole konstatovali povećanje ukupnog broja leukocita, smanjenje broja eritrocita, smanjenje koncentracije hemoglobina i gubitak tjelesne mase.

Trideset dana od s.c. injekcije 150 mg/kg aloksana pacovi dijabetične kontrole su pokazali neznatno smanjenu vrijednost ukupnog broja leukocita, povećanje proporcije neutrofila i smanjenje proporcija limfocita, monocita i eozinofila u odnosu na jedinke kontrolne, netretirane grupe (Mhammad *et al.*, 2015).

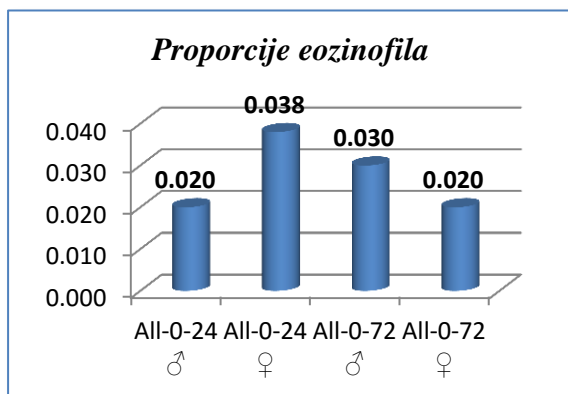


**Grafikon br. 397 Broj leukocita po litri krvi jedinki tretiranih aloksanom**

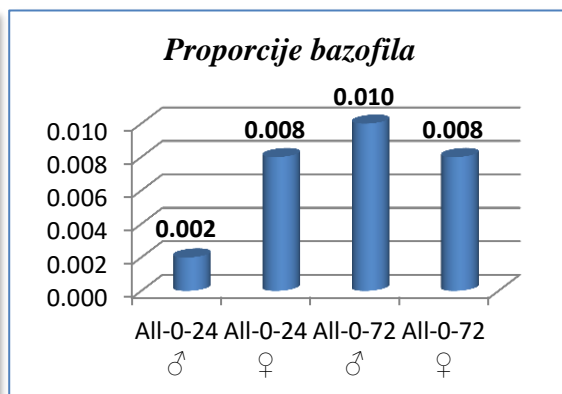


**Grafikon br. 398 Srednje vrijednosti proporcija neutrofila jedinki tretiranih aloksanom**

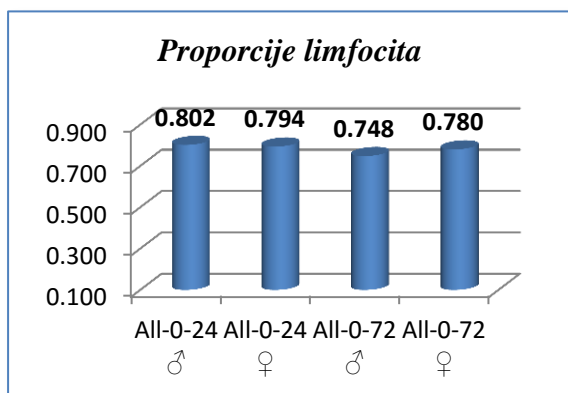
Višestrukom komparacijom dobijenih vrijednosti leukograma između različitih grupa sa indukovanim aloksanskim dijabetesom (grafikoni 397-401) nisu uočene statistički značajne razlike za pojedine parametre ( $p > 0.050$ ).



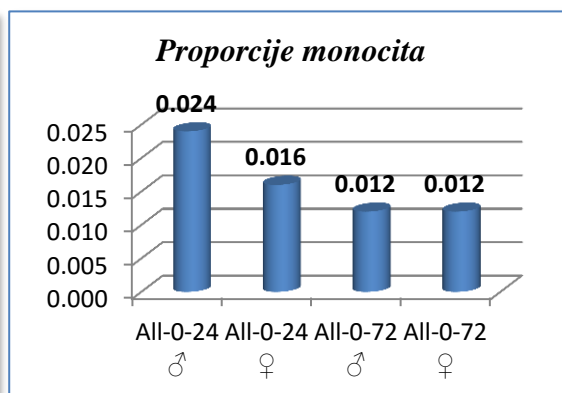
**Grafikon br. 398 Srednje vrijednosti proporcija eozinofila jedinki tretiranih aloksanom**



**Grafikon br. 399 Srednje vrijednosti proporcija bazofila jedinki tretiranih aloksanom**



**Grafikon br.400 Srednje vrijednosti proporcija limfocita jedinki tretiranih aloksanom**

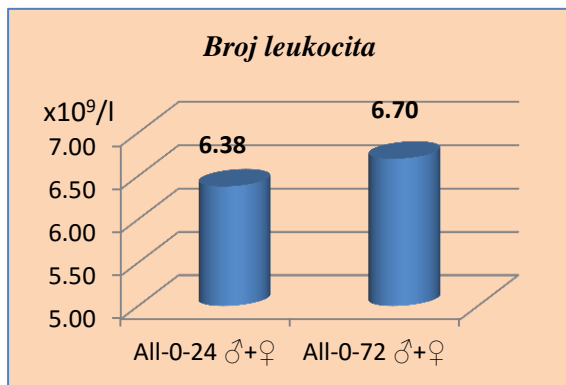


**Grafikon br. 401 Srednje vrijednosti proporcija monocita jedinki tretiranih aloksanom**

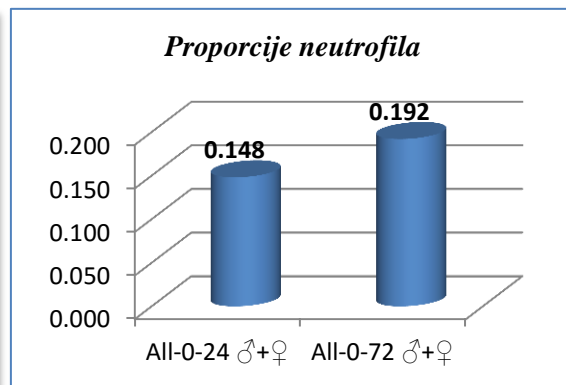
### 4.3.5.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

Poređenje većine dobijenih parametara (grafikoni 403-407) između jedinki sa vještački izazvanim dijabetesom, žrtvovanih u različitom postaplikativnom (od i.p. ubrizgavanja fiziološkog rastvora) periodu nije pokazalo statistički značajna odstupanja ( $p > 0.050$ ).

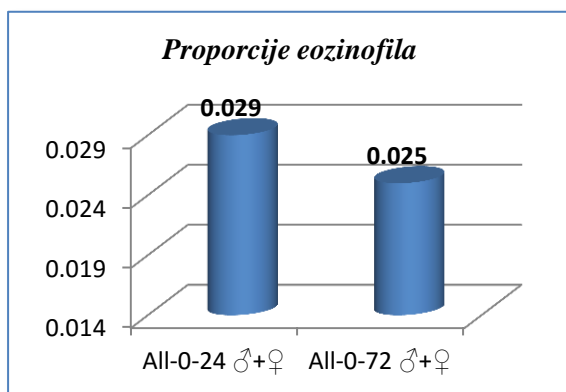
Signifikantno povećanje ukupnog broja leukocita (grafikon 402) je uočeno kod jedinki žrtvovanih 72 časa od aplikacije fiziološkog rastvora, u odnosu na one žrtvovane 48 časova ranije ( $p = 0.007$ ).



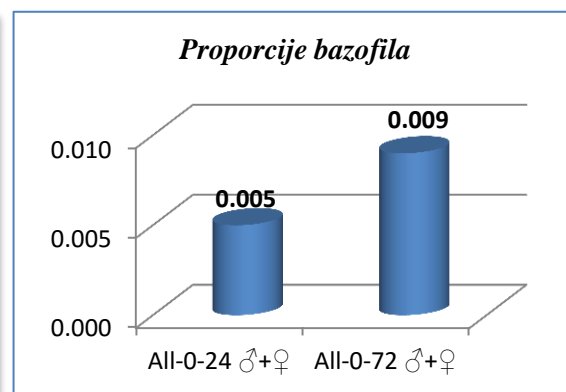
Grafikon br. 402 Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



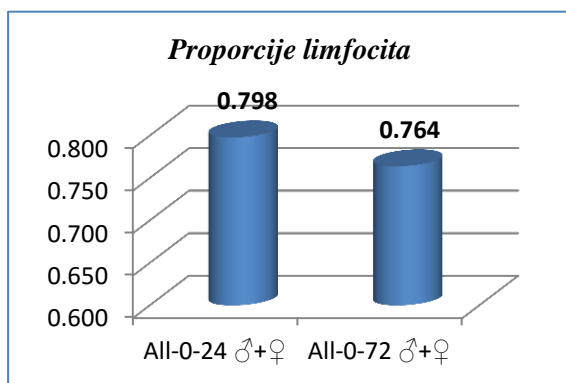
Grafikon br. 403 Komparacija proporcije neutrofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



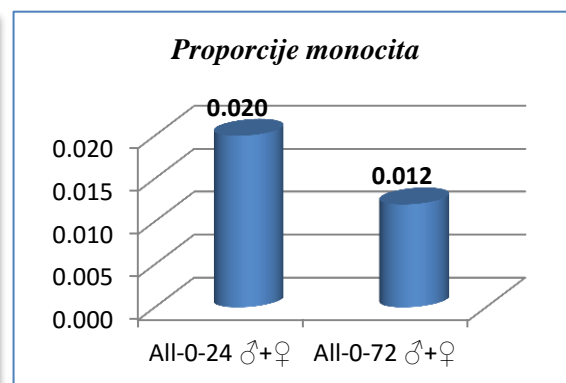
Grafikon br. 404 Komparacija proporcije eozinofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



Grafikon br. 405 Komparacija proporcije bazofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



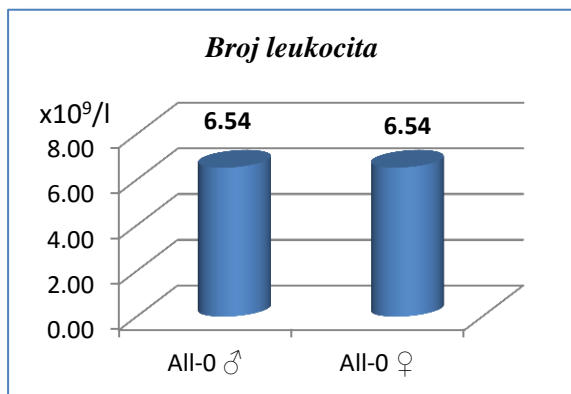
Grafikon br. 406 Komparacija proporcije limfocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



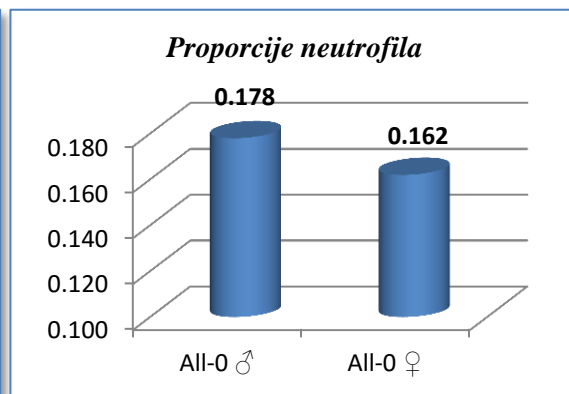
Grafikon br. 407 Komparacija proporcije monocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



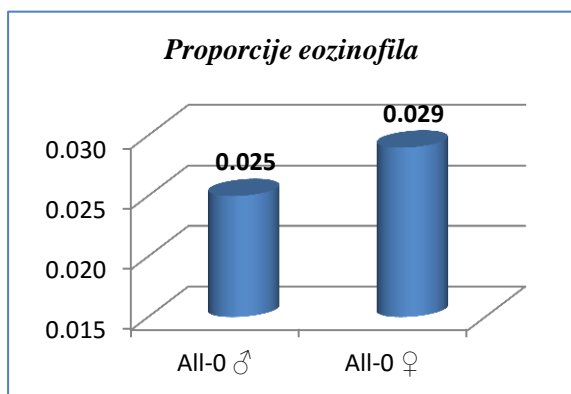
4.3.5.2. Leukogram i pol



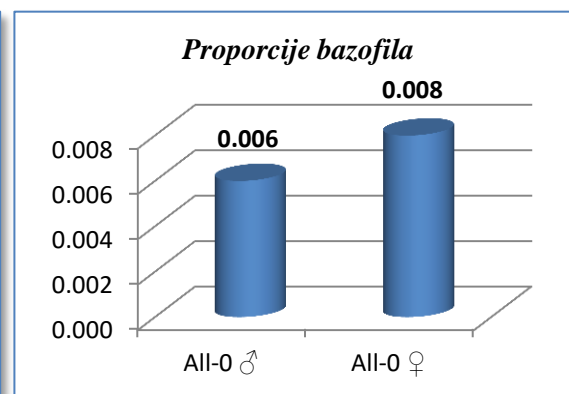
Grafikon br. 408 Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između mužjaka i ženki



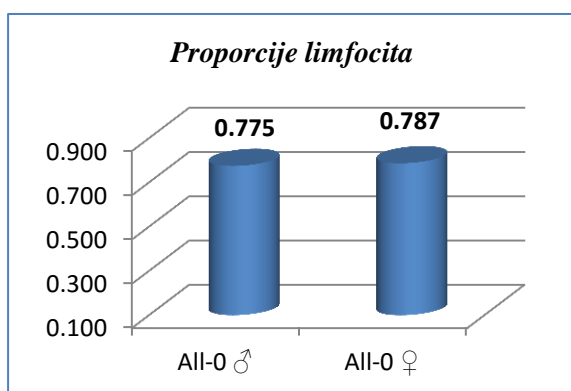
Grafikon br. 409 Komparacija proporcije neutrofila između mužjaka i ženki



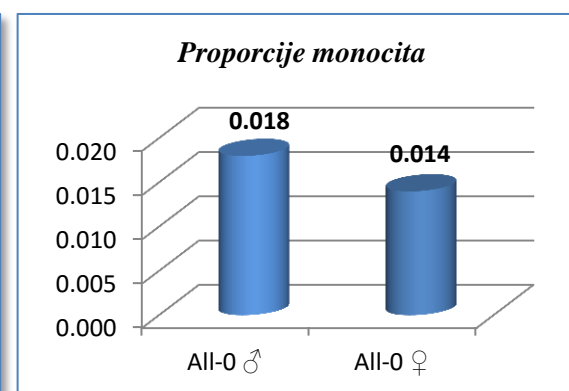
Grafikon br. 410 Komparacija proporcije eozinofila između mužjaka i ženki



Grafikon br. 411 Komparacija proporcije bazofila između mužjaka i ženki



Grafikon br. 412 Komparacija proporcije limfocita između mužjaka i ženki



Grafikon br. 413 Komparacija proporcije monocita između mužjaka i ženki

Pripadnost različitim polovima nije doprinjela povećanju razlika praćenih parametara leukocitne formule pacova tretiranih aloksanom ( $p > 0.050$ ). Posmatrani parametri su predstavljeni grafikonima 408-413.

4.3.6. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih aloksanom (All-E)

Vrijednosti leukograma svih jedinki intoksikovanih aloksanom i inficiranih ešerihijom su predstavljene u tabeli 35.

Tabela br. 35 Parametri bijele loze inficiranih jedinki tretiranih aloksanom (All-E)

		Broj leukocita $\times 10^9/l$ krvi	PROPORCIJE POJEDINIH FORMI LEUKOCITA				
			Neutrofili	Eozinofili	Bazofili	Limfociti	Monociti
All-E-24 ♂	1	6.60	0.090	0.020	0.000	0.880	0.010
	2	7.00	0.390	0.040	0.010	0.540	0.020
	3	6.60	0.130	0.020	0.020	0.820	0.010
	4	6.80	0.280	0.020	0.020	0.670	0.010
	5	6.20	0.120	0.050	0.040	0.780	0.010
All-E-24 ♀	1	7.20	0.160	0.060	0.000	0.160	0.030
	2	6.40	0.180	0.010	0.000	0.750	0.006
	3	6.60	0.110	0.010	0.000	0.860	0.020
	4	7.00	0.150	0.010	0.010	0.800	0.030
	5	5.40	0.110	0.000	0.000	0.870	0.020
All-E-72 ♂	1	8.20	0.160	0.020	0.010	0.780	0.030
	2	7.60	0.140	0.020	0.000	0.780	0.060
	3	5.00	0.230	0.000	0.000	0.770	0.000
	4	7.20	0.300	0.020	0.010	0.580	0.090
	5	8.00	0.190	0.010	0.000	0.790	0.010
All-E-72 ♀	1	7.20	0.440	0.000	0.000	0.510	0.050
	2	7.60	0.280	0.020	0.000	0.700	0.020
	3	7.20	0.210	0.030	0.000	0.740	0.020
	4	6.40	0.220	0.010	0.000	0.740	0.030
	5	7.40	0.040	0.000	0.000	0.930	0.003
All-E	AVG	<b>6.88</b>	<b>0.197</b>	<b>0.019</b>	<b>0.006</b>	<b>0.723</b>	<b>0.024</b>
	MIN	<b>5.00</b>	<b>0.040</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.160</b>	<b>0.000</b>
	MAX	<b>8.20</b>	<b>0.440</b>	<b>0.060</b>	<b>0.040</b>	<b>0.930</b>	<b>0.090</b>
	STDEV	<b>0.78</b>	<b>0.101</b>	<b>0.016</b>	<b>0.010</b>	<b>0.172</b>	<b>0.022</b>
	COV	<b>11.37</b>	<b>51.245</b>	<b>88.168</b>	<b>174.383</b>	<b>23.774</b>	<b>90.230</b>

Pod uticajem infekcije i intoksikacije aloksanom došlo je do povećanja ukupnog broja leukocita tretiranih jedinki u odnosu na kontrolnu grupu. Vrijednosti ovog parametra su imale raspon  $5.00 - 8.20 \times 10^9/l$  krvi, odnosno  $6.88 \times 10^9/l$  krvi prosječno za grupu tretiranu aloksanom i inficiranu ešerihijom, što je i dalje u saglasnosti sa referentnim vrijednostima (Sharp i Villano, 2013; Davidović, 2013; Uduak *et al.*, 2013; Liberati *et al.*, 2004; Prichet i Corning, 2004; Stojić, 2004; Rusov, 1984; Charles River Laboratories, 1998).

Leukocitna formula inficiranih jedinki tretiranih aloksanom je pretrpila manje promjene u odnosu na jedinke kontrolne grupe. Tako je **proporcija neutrofila** u krvi tretiranih jedinki lagano uvećana u odnosu na kontrolne jedinke i imala je vrijednosti od 0.040 - 0.440, prosječno 0.197. **Udio eozinofila** je lagano smanjen (do 0.060,  $\bar{x}$ =0.019), **proporcija bazofila** je gotovo identična onoj kod jedinki kontrolne grupe (maksimalno 0.040,  $\bar{x}$ =0.006), **limfocita** umanjena (0.160 - 0.930,  $\bar{x}$ =0.723), a **monocita** lagano uvećana u odnosu na kontrolnu grupu (do 0.090,  $\bar{x}$ =0.024). Sve vrijednosti leukocitne formule hiperglikemičnih jedinki inficiranih ešerihijom su ostale u saglasnosti sa referentnim vrijednostima navedenim od strane većine autora (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Moore, 2000; Charles River Laboratories, 1998; Jain, 1993 i Rusov, 1984).

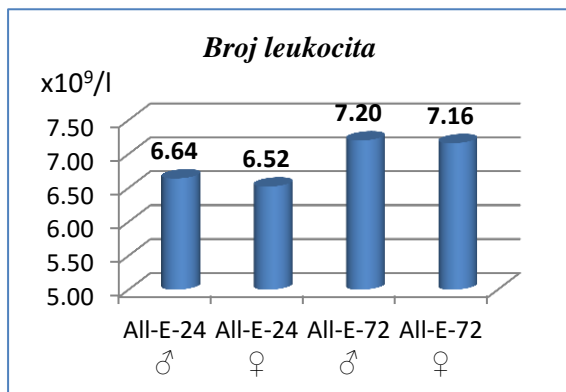
Indukcijom dijabetesa injekcijom aloksana u dozi 80 mg/kg tjelesne mase, i.v., Wistar pacovima Chigozie i Chidinma (2012) su pored ostalih promjena uočili povećanje ukupnog broja leukocita, smanjenje udjela neutrofila, praćeno povećanjem proporcije limfocita u cirkulaciji jedinki sa potvrđenom hiperglikemijom. Povećanje ukupnog broja leukocita u perifernoj cirkulaciji je značajan faktor rizika za razvoj oboljenja srčane arterije, što predstavlja dodatnu komplikaciju u liječenju dijabetičnih pacijenata.

Helal i saradnici (2005) pretpostavljaju da je značajno povećanje ukupnog broja leukocita kod jedinki sa aloksanom indukovanim dijabetesom (120 mg/kg, s.c.) nastalo vjerovatno usljed povećane hemopoetske aktivnosti izazvane hemolizom eritrocita. Proporcija limfocita je smanjena, kao odgovor na stresne uslove nakon injekcije antigena (aloksana) ili usljed produkcije specifičnih i nespecifičnih antitijela protiv različitih antigena, jer su limfociti odgovorni za postizanje mehanizma odbrane u organizmu. Autori takođe zauzimaju stav da je do povećanog udjela neutrofila u cirkulaciji došlo zbog njihove angažovanosti u fagocitozi različitih antigena.

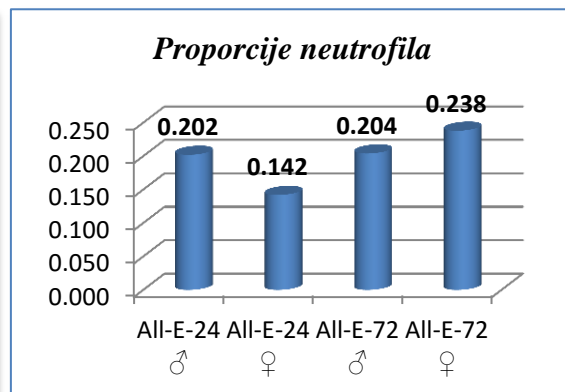
Izuzetno visoko povećanje ukupog broja leukocita je zabilježio Oladunmoye (2006) pri oralnom unosu standardnog inokuluma *E. coli* (NCIB 86,  $1 \times 10^7$  CFU/ml) kod albino pacova. Uočio je i povećane vrijednosti neutrofila i smanjene vrijednosti limfocita kod inficiranih jedinki, što povezuje sa uobičajeno većom proporcijom neutrofila tokom aktivne infekcije.

Poređenjem dobijenih vrijednosti leukograma jedinki intoksikovanih aloksanom i inficiranih ešerihijom (grafikoni 414-419) signifikantna odstupanja sa uočavaju samo

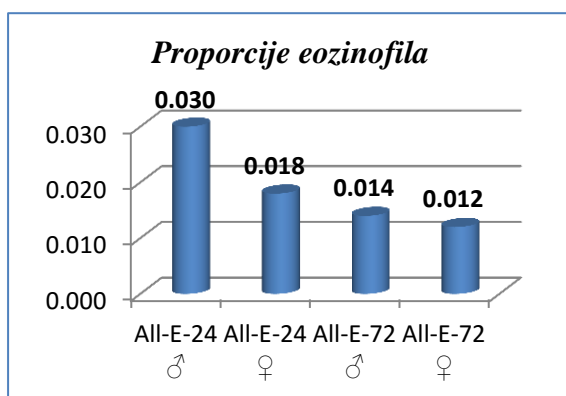
za proporciju bazofila, dok se komparacije ostalih parametara nalaze izvan granica statističkog značaja ( $p > 0.050$ ).



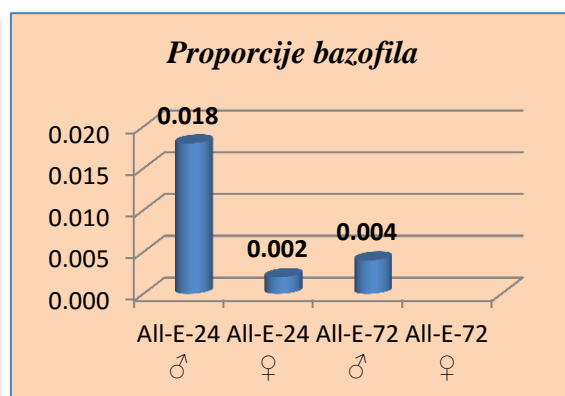
**Grafikon br. 414** Broj leukocita po litri krvi jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom



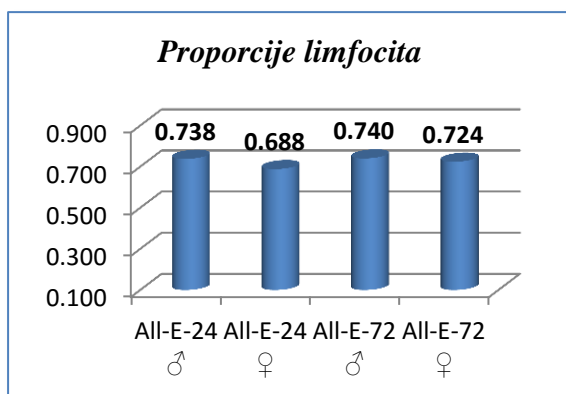
**Grafikon br. 415** Srednje vrijednosti proporcija neutrofila jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom



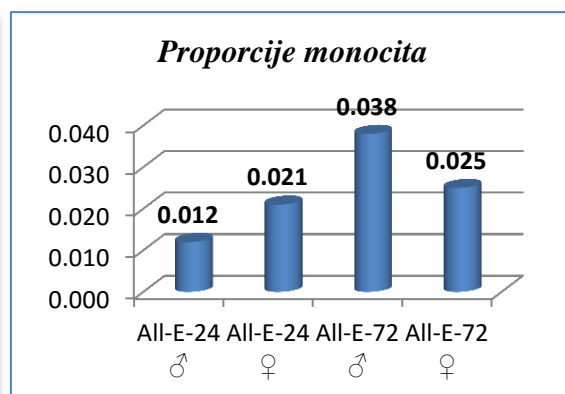
**Grafikon br. 416** Srednje vrijednosti proporcija eozinofila jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom



**Grafikon br. 417** Srednje vrijednosti proporcija bazofila jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom



**Grafikon br. 418** Srednje vrijednosti proporcija limfocita jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom

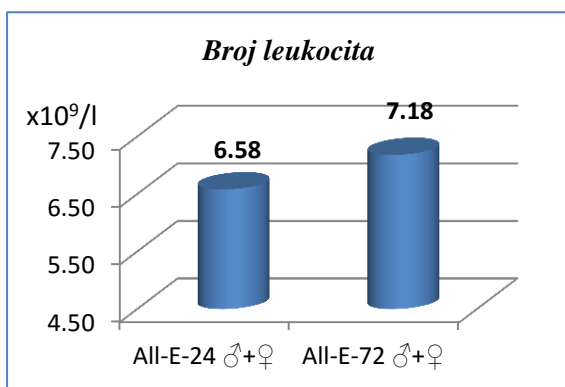


**Grafikon br. 419** Srednje vrijednosti proporcija monocita jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom

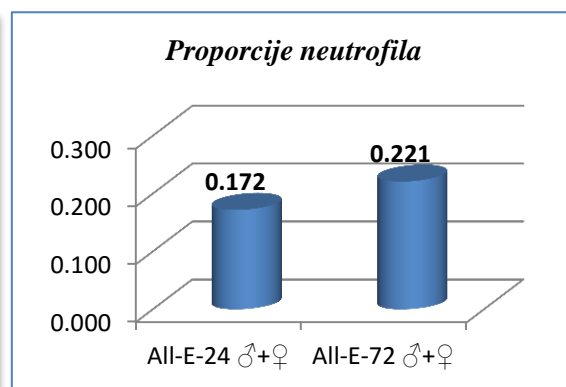
U okviru posmatranog uzorka od dvadeset jedinki tretiranih aloksanom i inficiranih ešerihijom, proporcija bazofila je dostigla svoj maksimum kod jedinki grupe All-E-24 ♂ (grafikon 417). Značajno niže vrijednosti su zabilježene kod jedinki grupe All-E-24 ♀ ( $p=0.007$ ) i jedinki grupe All-E-72 ♂ ( $p=0.016$ ).

### 4.3.6.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)

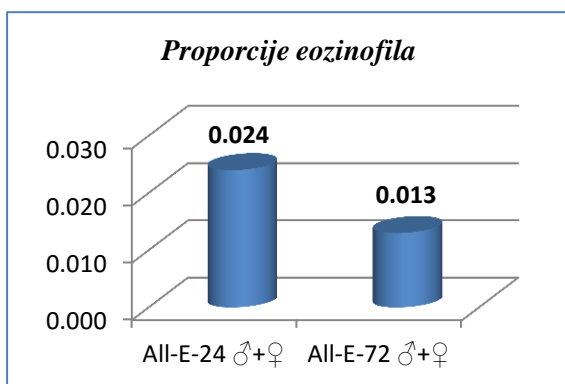
Primjenom nezavisnog T testa na dobijene vrijednosti leukograma dijabetičnih jedinki žrtvovanih u različitom postpalikativnom periodu ne uočavaju se statistički značajne razlike ( $p>0.050$ ). Ukupan broj leukocita se povećao kod jedinki žrtvovanih kasnije, ali nedovoljno da bi to bilo signifikantno, a promjene u proporcijama pojedinih leukocitnih formi su takođe bile statistički zanemarive (grafikoni 420-425).



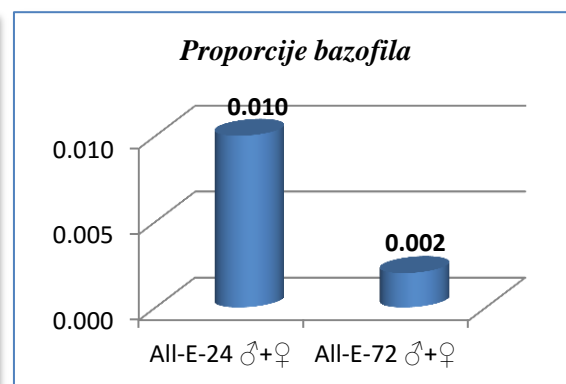
**Grafikon br. 420** Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



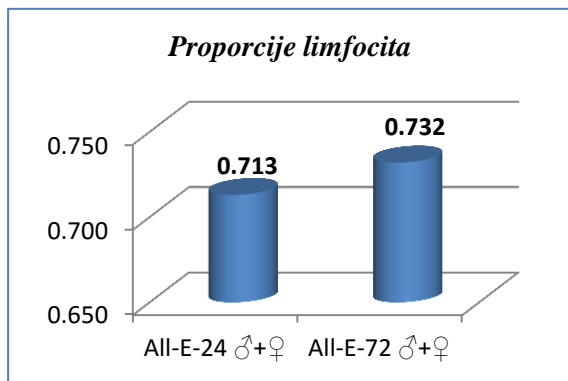
**Grafikon br. 421** Komparacija proporcije neutrofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



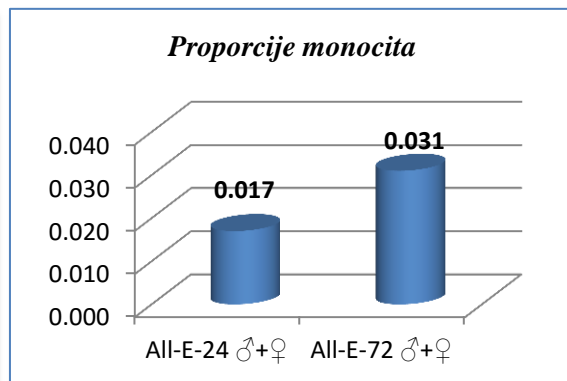
**Grafikon br. 422** Komparacija proporcije eozinofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 423** Komparacija proporcije bazofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

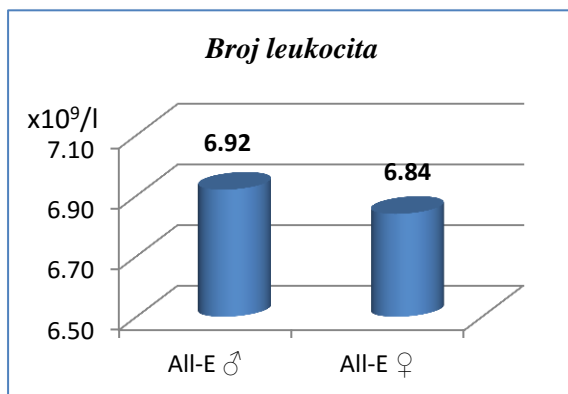


Grafikon br. 424 Komparacija proporcije limfocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

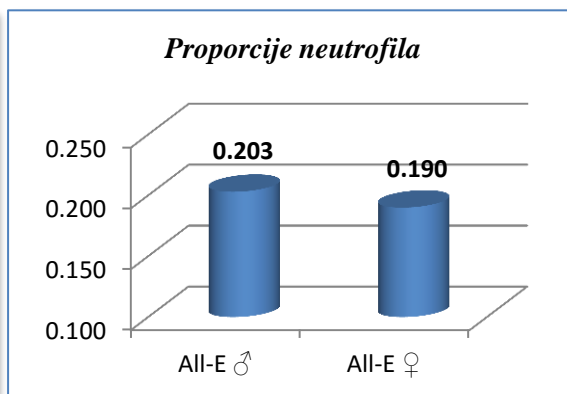


Grafikon br. 425 Komparacija proporcije monocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

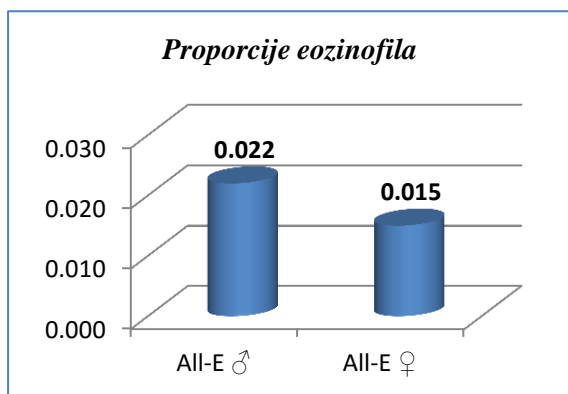
4.3.6.2. Leukogram i pol



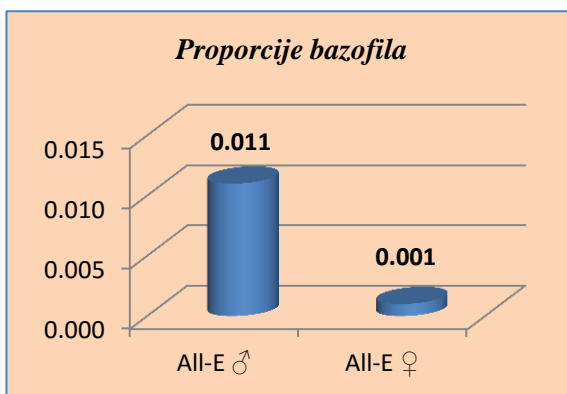
Grafikon br. 426 Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između mužjaka i ženki



Grafikon br. 427 Komparacija proporcije neutrofila između mužjaka i ženki

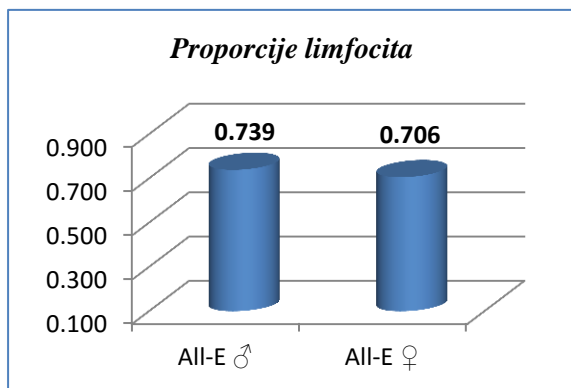


Grafikon br. 428 Komparacija proporcije eozinofila između mužjaka i ženki

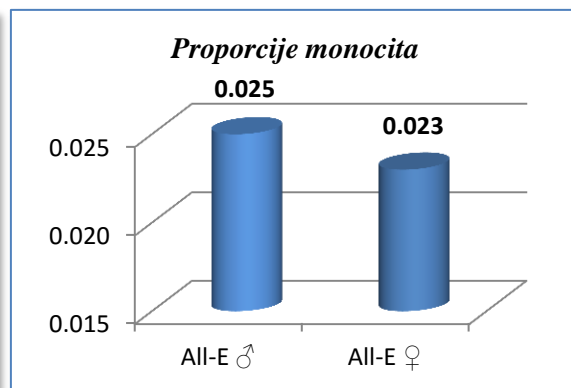


Grafikon br. 429 Komparacija proporcije bazofila između mužjaka i ženki

Vrijednosti bijele loze pripadnika različitog pola intoksikovanih aloksanom i inficiranih ešerihijom nisu pokazale značajna odstupanja za ukupan broj leukocita i proporcije neutrofila, eozinofila, limfocita i monocita (grafikoni 426-428 i 430-431), dok je udio bazofila (grafikon 429) kod jedinki ženskog pola bio značajno niži u odnosu na vrijednosti ostvarene u diferencijalnoj krvnoj slici mužjaka ( $p=0.038$ ).



*Grafikon br. 430 Komparacija proporcije limfocita između mužjaka i ženki*



*Grafikon br. 431 Komparacija proporcije monocita između mužjaka i ženki*

### 4.3.7. Tretman aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-0)

Dobijene vrijednosti leukograma jedinki podvrgnutih sinergističkom dejstvu olovo-acetata i aloksana su predstavljene u tabeli 36.

Ukupan **broj leukocita** se kretao u rasponu od  $5.40 - 6.80 \times 10^9/l$  krvi, sa prosječnom vrijednošću od  $6.17 \times 10^9/l$  krvi. Takvi rezultati su lagano povećani u odnosu na dobijene kod jedinki kontrolne grupe, a i jedni i drugi su u saglasnosti sa navedenim referentnim vrijednostima (Sharp i Villano, 2013; Davidović, 2013; Uduak *et al.*, 2013; Liberati *et al.*, 2004; Prichet i Corning, 2004; Stojić, 2004; Rusov, 1984; Charles River Laboratories, 1998).

**Tabela br. 36 Parametri bijele loze jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-0)**

	Broj leukocita $\times 10^9/l$ krvi	PROPORCIJE POJEDINIHI FORMI LEUKOCITA					
		Neutrofili	Eozinofili	Bazofili	Limfociti	Monociti	
All-Pb-0-24 ♂	1	6.00	0.210	0.050	0.000	0.680	0.060
	2	6.60	0.280	0.020	0.000	0.680	0.020
	3	5.60	0.280	0.010	0.010	0.680	0.020
	4	6.60	0.290	0.010	0.000	0.690	0.010
	5	5.40	0.210	0.020	0.010	0.760	0.020
All-Pb-0-24 ♀	1	6.00	0.310	0.010	0.000	0.650	0.030
	2	6.00	0.190	0.010	0.000	0.770	0.030
	3	5.60	0.190	0.000	0.010	0.780	0.020
	4	5.80	0.250	0.000	0.000	0.740	0.010
	5	6.20	0.250	0.020	0.000	0.710	0.020
All-Pb-0-72 ♂	1	6.40	0.330	0.000	0.000	0.640	0.030
	2	6.60	0.210	0.010	0.000	0.760	0.020
	3	6.40	0.300	0.010	0.000	0.650	0.040
	4	5.60	0.280	0.040	0.010	0.670	0.000
	5	6.60	0.250	0.000	0.000	0.740	0.010
All-Pb-0-72 ♀	1	6.20	0.340	0.000	0.020	0.640	0.000
	2	6.40	0.290	0.020	0.000	0.670	0.020
	3	6.00	0.210	0.010	0.000	0.740	0.040
	4	6.80	0.220	0.020	0.000	0.740	0.020
	5	6.60	0.250	0.000	0.030	0.720	0.000
All-Pb-0	AVG	<b>6.17</b>	<b>0.257</b>	<b>0.013</b>	<b>0.005</b>	<b>0.706</b>	<b>0.021</b>
	MIN	<b>5.40</b>	<b>0.190</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.640</b>	<b>0.000</b>
	MAX	<b>6.80</b>	<b>0.340</b>	<b>0.050</b>	<b>0.030</b>	<b>0.780</b>	<b>0.060</b>
	STDEV	<b>0.42</b>	<b>0.046</b>	<b>0.013</b>	<b>0.008</b>	<b>0.046</b>	<b>0.015</b>
	COV	<b>6.76</b>	<b>17.858</b>	<b>103.203</b>	<b>183.462</b>	<b>6.511</b>	<b>70.630</b>

**Proporcija neutrofila** se kretala od 0.190 - 0.340, prosječno 0.257, što predstavlja povećanje vrijednosti u odnosu na zabilježene kod jedinki kontrolne gupe.



Ovakve vrijednosti su u saglasnosti sa onim navedenim kod Lindstrom i saradnika (2015), Dividović (2013), Thrall i saradnika (2012), Charles River Laboratories (1998), Jain (1993) i Rusov (1984) za zdrave jedinke.

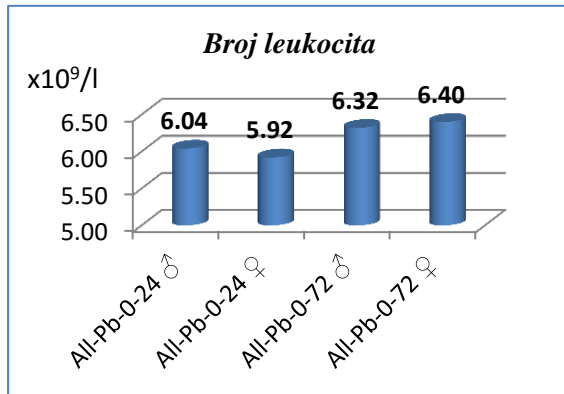
**Udio eozinofila** u diferencijalnoj krvnoj slici pacova tretiranih olovo-acetatom i aloksanom je bio nešto niži nego kod jedinki kontrolne grupe sa maksimalnim udjelom od 0.050, prosječno 0.013. Snižene su i vrijednosti **proporcija bazofila** (do 0.030,  $\bar{x}$ =0.005) i **limfocita** (0.640 - 0.780,  $\bar{x}$ =706), dok je povećano prisustvo **monocita** (max 0.060,  $\bar{x}$ =0.021) kod tretiranih u odnosu na kontrolne jedinke. Dobijene vrijednosti ne odstupaju u većoj mjeri od referentnih (Lindstrom *et al.*, 2015; Sharp i Villano, 2013; Thrall *et al.*, 2012; Moore, 2000; Charles River Laboratories, 1998; Jain, 1993 i Rusov, 1984).

Pri vještački izazvanom dijabetesu, intraperitonealnom injekcijom aloksana u dozi od 160 mg/kg tjelesne mase, Muhammad i saradnici (2012) su uočili signifikantno povećanje ukupnog broja leukocita, povećanu proporciju limfocita i smanjenu proporciju neutrofila u odnosu na vrijednosti nedijabetičnih jedinki.

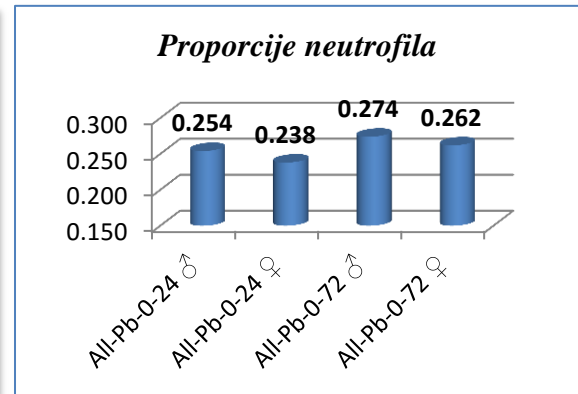
Aloksanska dijabetogeneza izaziva perturbacije u matičnim ćelijama koštane srži, što rezultuje povećanjem ukupnog broja leukocita, povećanjem proporcije limfocita i smanjenjem udjela granulocita u krvi pacova uzetoj kardijalnom punkcijom (Edet *et al.*, 2013).

Mannem (2014) je uočio značajno povećanje ukupnog broja leukocita kod pacova intoksikovanih olovo-acetatom u dozi 200 mg/kg tjelesne mase tokom osam sedmica, što objašnjava uobičajenom reakcijom imunog sistema na prisustvo toksikanata u organizmu.

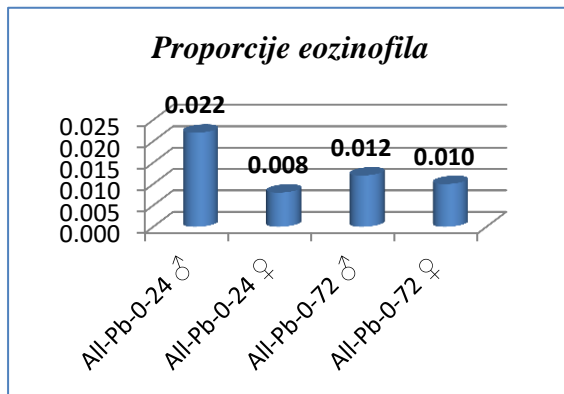
Olovo prijanja na bijele krvne ćelije oštećujući ih na taj način. Najveći dio olova unesenog u organizam se deponuje u kostima, gdje uzrokuje dodatne probleme. Može se umiješati u produkciju leukocita, utičući na smanjenje njihovog broja u cirkulaciji. S druge strane, olovo može indukovati imuni odgovor utičući na proporciju neutrofila i limfocita, pri čemu je uobičajena pojava neutrofilije praćene limfopenijom. Evidentirano je izraženo odsustvo malih limfocita u diferencijalnoj krvnoj slici pacova tretiranih intraperitonealno olovo-acetatom u dozi od 15 mg/kg tjelesne mase, tokom sedam dana (Ghosh *et al.*, 2014).



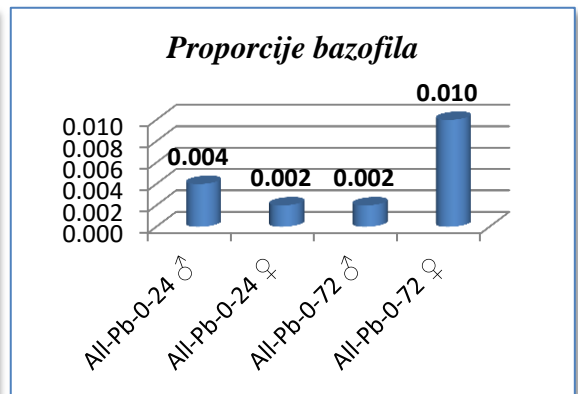
Grafikon br. 432 Broj leukocita po litri krvi jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom



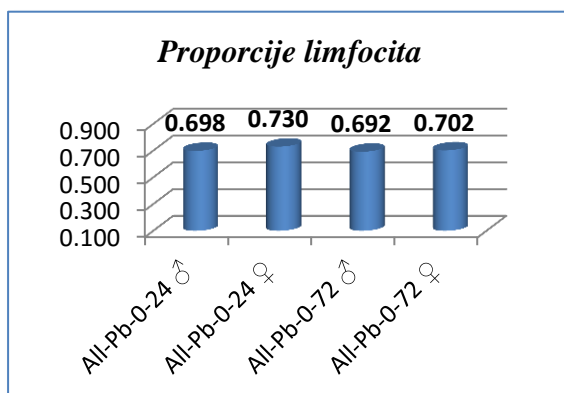
Grafikon br. 433 Srednje vrijednosti proporcija neutrofila jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom



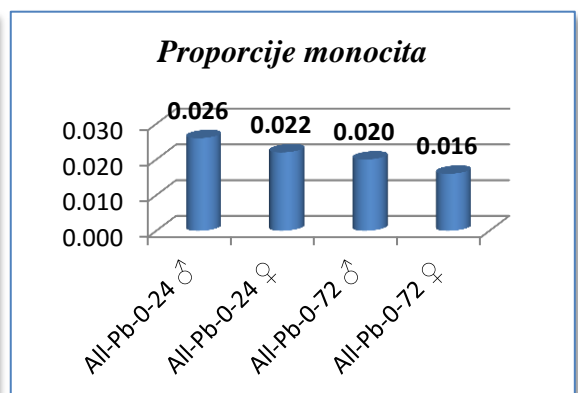
Grafikon br. 434 Srednje vrijednosti proporcija eozinofila jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom



Grafikon br. 435 Srednje vrijednosti proporcija bazofila jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom



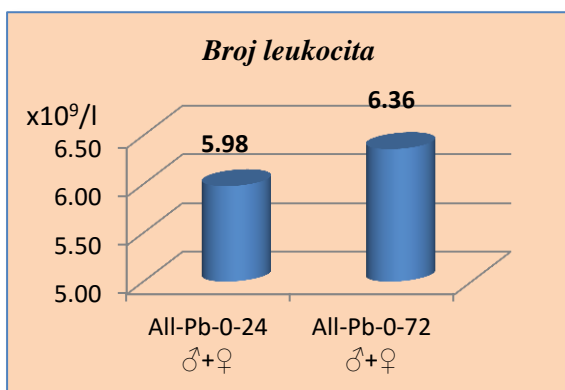
Grafikon br. 436 Srednje vrijednosti proporcija limfocita jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom



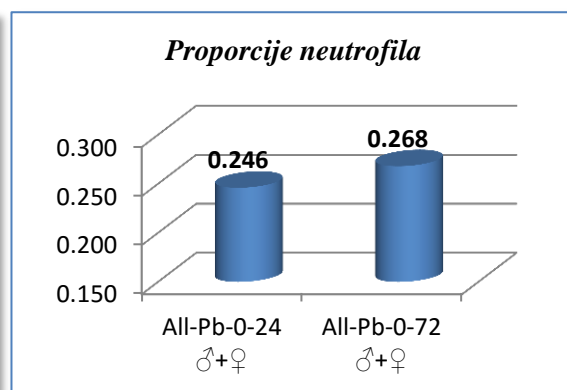
Grafikon br. 437 Srednje vrijednosti proporcija monocita jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom

Višestrukom komparacijom dobijenih vrijednosti leukograma pacova tretiranih olovo-acetatom i aloksanom ne uočavaju se statistički značajne razlike između pripadnika različitih grupa (grafikoni 432-437).

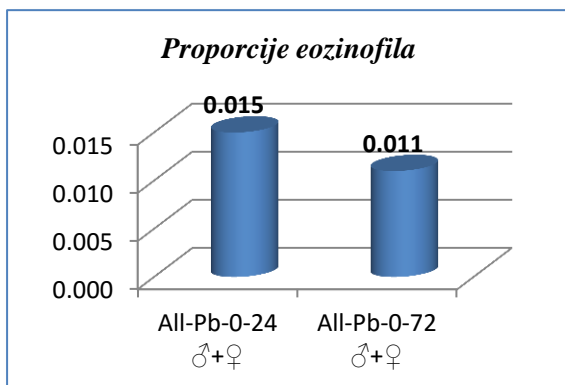
### 4.3.7.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)



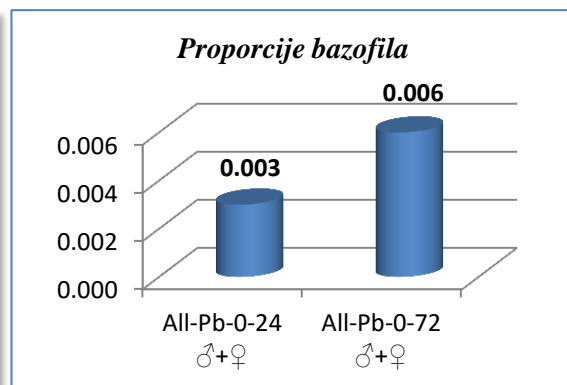
**Grafikon br. 438** Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata



**Grafikon br. 439** Komparacija proporcije neutrofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

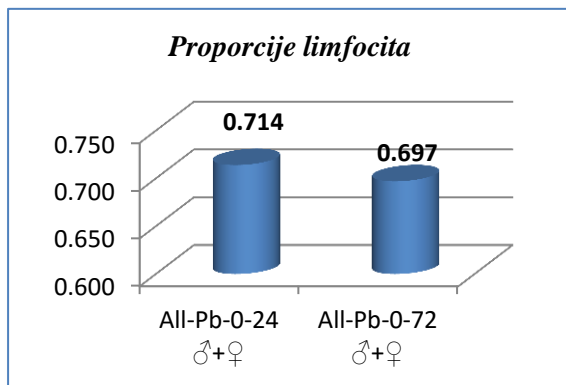


**Grafikon br. 440** Komparacija proporcije eozinofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

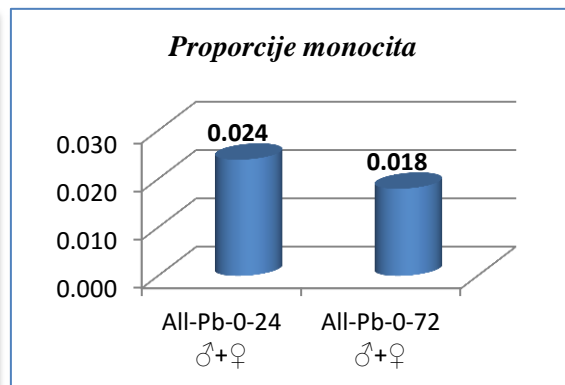


**Grafikon br. 441** Komparacija proporcije bazofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

Ukupan broj leukocita se značajno povećao kod jedinki žrtvovanih kasnije ( $p=0.038$ ), vjerovatno pod uticajem aloksanskog dijabetesa (grafikon 438). Proporcije pojedinih leukocitnih formi u diferencijalnoj krvnoj slici jedinki žrtvovanih u različitom postaplikativnom periodu nisu pokazale bitne razlike u odnosu na vrijeme žrtvovanja, 24 i 72 časa od aplikacije fiziološkog rastvora (grafikoni 439-443).

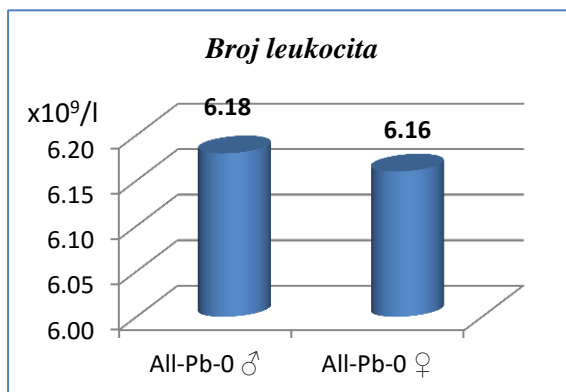


Grafikon br. 442 Komparacija proporcije limfocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

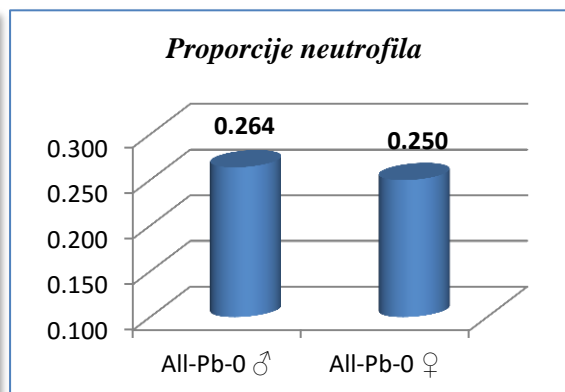


Grafikon br. 443 Komparacija proporcije monocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

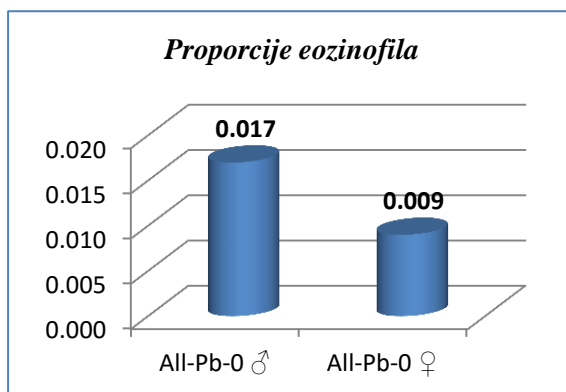
4.3.7.2. Leukogram i pol



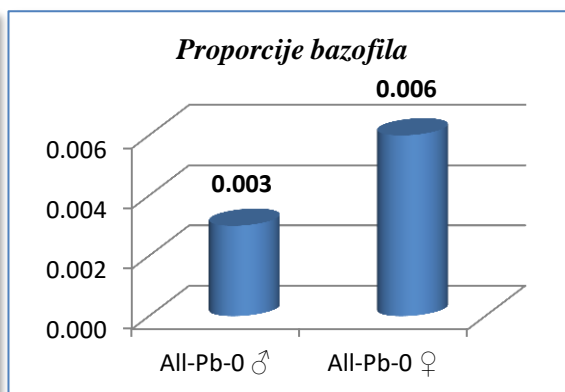
Grafikon br. 444 Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između mužjaka i ženki



Grafikon br. 445 Komparacija proporcije neutrofila između mužjaka i ženki

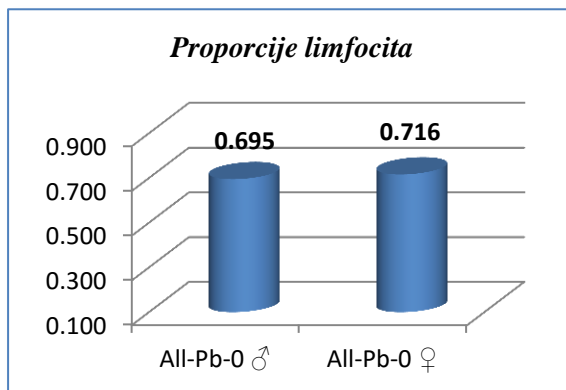


Grafikon br. 446 Komparacija proporcije eozinofila između mužjaka i ženki

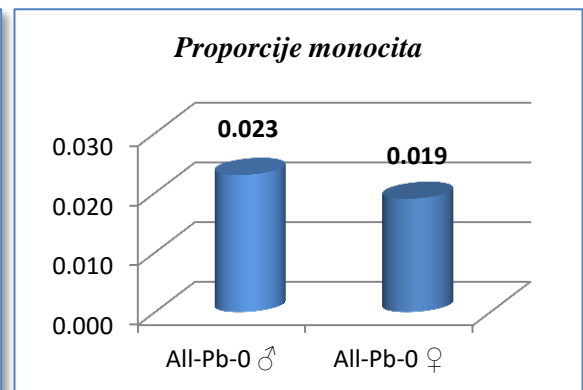


Grafikon br. 447 Komparacija proporcije bazofila između mužjaka i ženki

Polna pripadnost nije rezultovala različitim vrijednostima parametara bijele krvne loze (grafikoni 444-449).



**Grafikon br. 448** Komparacija proporcije limfocita između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 449** Komparacija proporcije monocita između mužjaka i ženki

### 4.3.8. Infekcija ešerihijom jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-E)

Krvni razmazi inficiranih jedinki dvojne intoksikacije su diferencirani i dobijeni rezultati su predstavljeni u tabeli 37.

Ukupan broj leukocita tretiranih pacova se kretao od  $5.80 - 7.60 \times 10^9$ , prosječno  $6.70 \times 10^9/l$  krvi, što je uvećano u odnosu na vrijednosti dobijene kod jedinki kontrolne grupe, mada i dalje u saglasnosti sa referentnim vrijednostima (Sharp i Villano, 2013; Davidović, 2013; Uduak *et al.*, 2013; Liberati *et al.*, 2004; Prichet i Corning, 2004; Stojić, 2004; Charles River Laboratories, 1998 i Rusov, 1984).

**Tabela br. 37 Parametri bijele loze inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom (All-Pb-E)**

		Broj leukocita $\times 10^9/l$ krvi	PROPORCIJE POJEDINIH FORMI LEUKOCITA				
			Neutrofili	Eozinofili	Bazofili	Limfociti	Monociti
All-Pb-E-24 ♂	1	6.60	0.140	0.010	0.000	0.840	0.010
	2	6.20	0.260	0.010	0.000	0.700	0.030
	3	6.00	0.230	0.000	0.010	0.720	0.040
	4	6.80	0.240	0.000	0.010	0.730	0.020
	5	6.40	0.280	0.020	0.000	0.680	0.020
All-Pb-E-24 ♀	1	6.20	0.190	0.000	0.000	0.700	0.010
	2	5.80	0.290	0.030	0.000	0.630	0.050
	3	6.60	0.260	0.000	0.000	0.740	0.000
	4	6.00	0.220	0.010	0.000	0.760	0.010
	5	6.40	0.310	0.000	0.010	0.660	0.020
All-Pb-E-72 ♂	1	7.20	0.120	0.020	0.010	0.800	0.050
	2	7.20	0.280	0.000	0.000	0.710	0.010
	3	7.40	0.240	0.030	0.000	0.710	0.020
	4	6.80	0.270	0.010	0.020	0.670	0.030
	5	7.00	0.080	0.010	0.000	0.890	0.020
All-Pb-E-72 ♀	1	6.60	0.220	0.000	0.000	0.770	0.010
	2	7.40	0.250	0.020	0.010	0.690	0.030
	3	7.60	0.340	0.010	0.000	0.650	0.000
	4	6.80	0.280	0.000	0.000	0.720	0.000
	5	7.00	0.310	0.020	0.010	0.640	0.020
All-Pb-E	AVG	<b>6.70</b>	<b>0.241</b>	<b>0.010</b>	<b>0.004</b>	<b>0.721</b>	<b>0.020</b>
	MIN	<b>5.80</b>	<b>0.080</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.630</b>	<b>0.000</b>
	MAX	<b>7.60</b>	<b>0.340</b>	<b>0.030</b>	<b>0.020</b>	<b>0.890</b>	<b>0.050</b>
	STDEV	<b>0.51</b>	<b>0.066</b>	<b>0.010</b>	<b>0.006</b>	<b>0.066</b>	<b>0.015</b>
	COV	<b>7.66</b>	<b>27.365</b>	<b>102.598</b>	<b>149.561</b>	<b>9.190</b>	<b>74.339</b>

Relativna leukocitarna formula inficiranih pacova tretiranih aloksanom i olovo-acetatom je promijenjena u odnosu na jedinice kontrolne grupe, pri čemu su odstupanja

nastala za proporcije neutrofila i eozinofila, a ostali parametri se ne razlikuju mnogo od istih kod netretiranih jedinki.

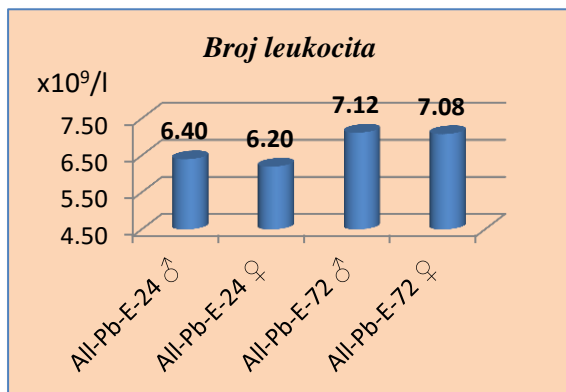
**Proporcija neutrofila** jedinki ove grupe (0.080 - 0.340,  $\bar{x}$ =0.241) je imala povećane vrijednosti u odnosu na netretirane jedinke, **udio eozinofila** je smanjen (max 0.030,  $\bar{x}$ =0.010), dok **proporcije bazofila** (do 0.020,  $\bar{x}$ =0.004), **limfocita** (0.630 - 0.890,  $\bar{x}$ =0.721) i **monocita** (do 0.050,  $\bar{x}$ =0.020) ne odstupaju od vrijednosti zabilježenih kod jedinki kontrolne grupe.

Pri hematološkim analizama pacova intoksikovanih olovo-acetatom uočava se značajno smanjenje ukupnog broja leukocita u perifernoj cirkulaciji (El-Nahal, 2010). Karamala i saradnici (2011) su dobili suprotne rezultate - uočili su povećanje ukupnog broja leukocita u krvi pacova tretiranih različitim dozama olovo-acetata, kao i promjenjenu leukocitarnu formulu u kojoj se uočava povećanje udjela neutrofila i smanjenje proporcije limfocita. Povećanje udjela neurofila, kao i ukupnog broja leukocita pacova izloženih olovo-acetatu tokom osam nedelja (u dozi 100 mg/kg tjelesne mase) su uočili i Abd El-Ghany i saradnici (2009).

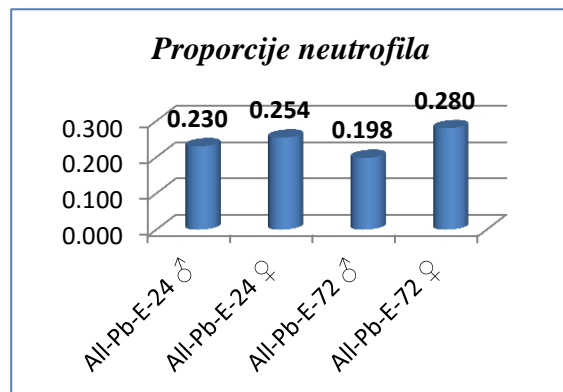
Eksperimentalni dijabetes indukuje metaboličke promjene i povećava, barem djelimično, proporcije leukocitnih formi. Pri dijabetesu indukovanom aloksanom i.v. u dozi od 32 mg/kg tjelesne mase, Crespilho i saradnici (2010) su uočili statistički značajno povećanje proporcije neutrofila u diferencijalnoj krvnoj slici tretiranih jedinki u odnosu na netretirane, kao i povećanje ukupnog broja leukocita u cirkulaciji, ali bez statističkog značaja. Neutrofili dijabetičnih pacijenata ne povećavaju baktericidnu aktivnost pri odgovoru na infekciju istog intenziteta u poređenju sa nedijabetičnim pacijentima (Moss *et al.*, 2000). Dijabetes smanjuje afinitet neutrofila prema endotelnim ćelijama kapilara, što štiti pluća od migracije neutrofila, čime se smanjuje oksidativna produkcija. Uočeni porast udjela neutrofila u perifernoj cirkulaciji može biti rezultat manje adherentnosti ćelija u ciljanim tkivima (Crespilho *et al.*, 2010).

Pri izbijanju akutne intraperitonealne bakterijske infekcije javljaju se dvije linije odbrane od bakterijske invazije. Prva linija odbrane se sastoji od peritonealnih rezidentnih ćelija, koje se sastoje pretežno iz makrofaga. Sekundarna linija odbrane je predstavljena akutnim inflamatornim odgovorom koji uključuje povećanje broja neutrofila. Neutrofili bivaju privučeni na mjesto infekcije hemotaksičnim faktorima, pa fagocitiraju, ubijaju i eliminišu bakterije iz organizma. Huang i saradnici (2002) su zabilježili značajno povećanje udjela neutrofila u cirkulaciji pacova sa

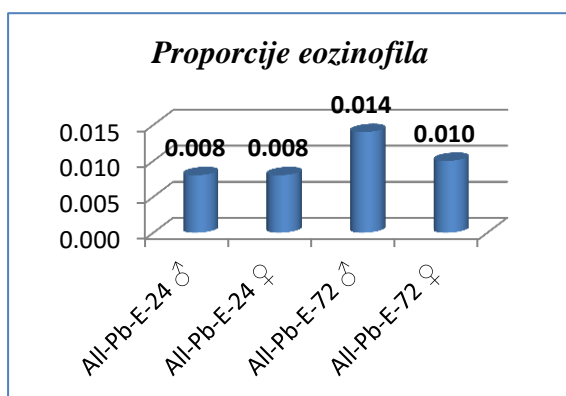
intraperitonealnom infekcijom uzrokovanom injekcijom bakterijske suspenzije, *Escherichija coli*,  $1 \times 10^{10}$  CFU/ml.



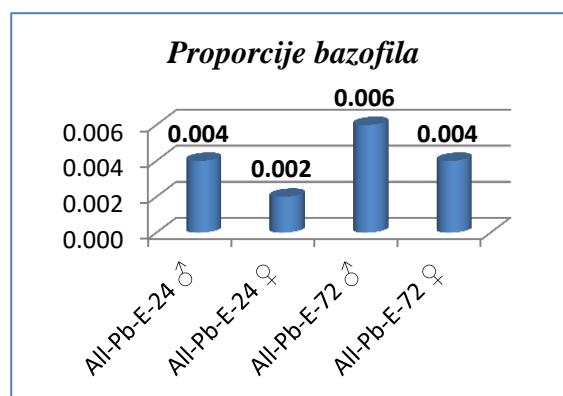
**Grafikon br. 450 Broj leukocita po litri krvi inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**



**Grafikon br. 451 Srednje vrijednosti proporcija neutrofila inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**



**Grafikon br. 452 Srednje vrijednosti proporcija eozinofila inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**

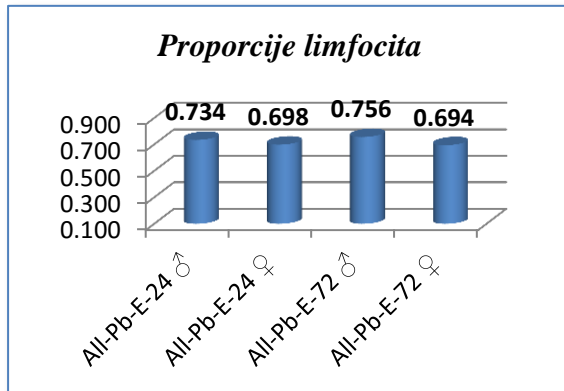


**Grafikon br. 453 Srednje vrijednosti proporcija bazofila inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**

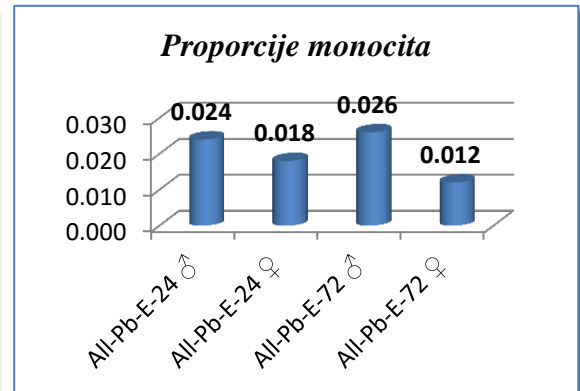
ANOVA je pokazala statistički značajne razlike između grupa u broju leukocita ( $p=0.000$ ), a post-hoc analiza LSD testom je izdvojila značajno povećanje broja leukocita kod mužjaka i ženki grupe All-Pb-E-72 u odnosu na All-Pb-E-24 ♂ ( $p=0.003$  i  $p=0.000$ ) i All-Pb-E-24 ♀ ( $p=0.004$  i  $p=0.001$ ).

Parametri relativne leukocitarne formule nisu pokazali statistički značajna odstupanja vrijednosti dobijenih kod jedinki različitih grupa inficiranih ešerihijom i tretiranih aloksanom i olovo-acetatom.



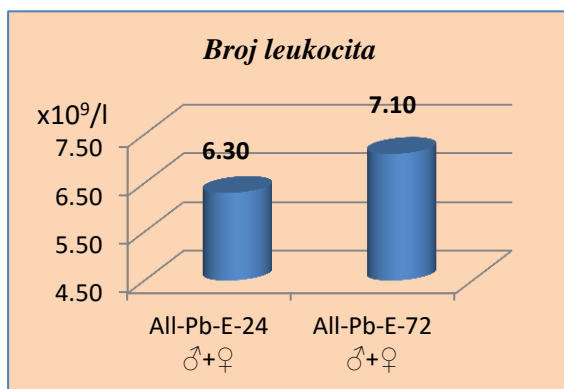


**Grafikon br. 454 Srednje vrijednosti proporcija limfocita inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**

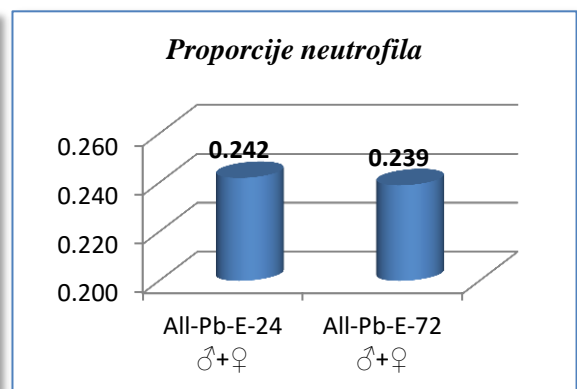


**Grafikon br. 455 Srednje vrijednosti proporcija monocita inficiranih jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom**

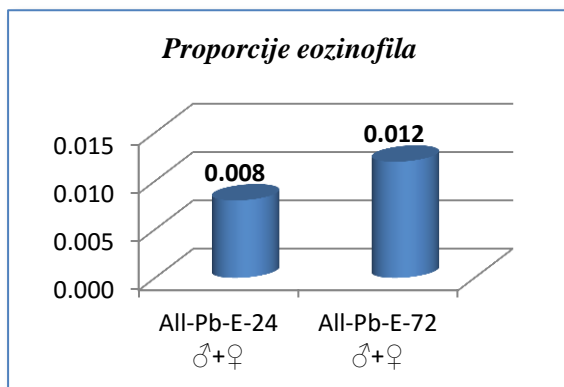
4.3.8.1 Leukogram i vrijeme žrtvovanja (24 i 72h)



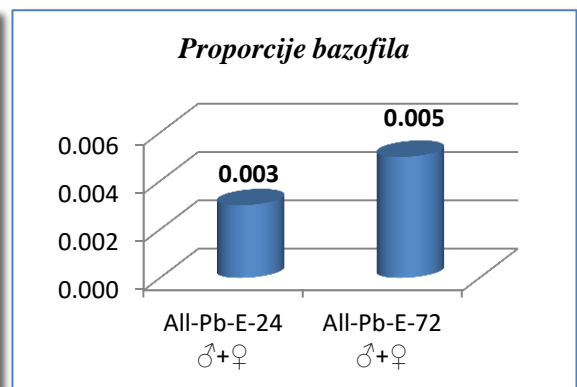
**Grafikon br. 456 Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata**



**Grafikon br. 457 Komparacija proporcije neutrofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata**

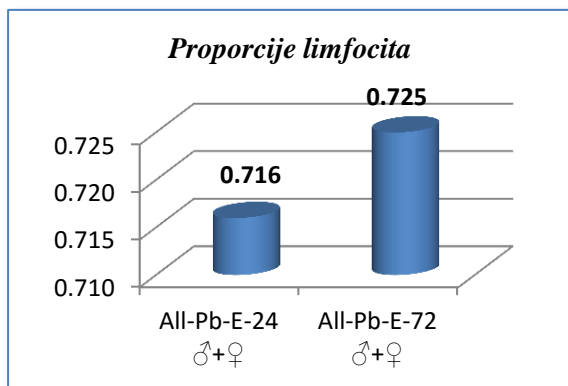


**Grafikon br. 458 Komparacija proporcije eozinofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata**

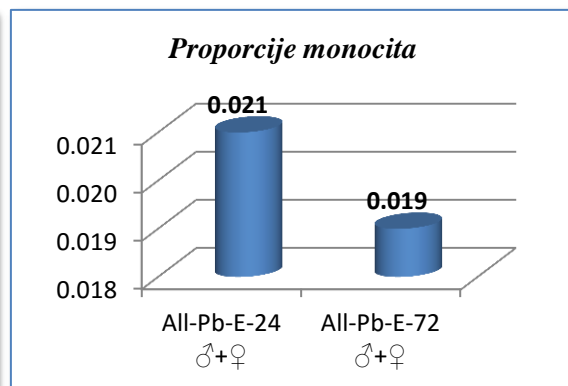


**Grafikon br. 459 Komparacija proporcije bazofila između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata**

Poređenjem dobijenih vrijednosti bijele krvne loze jedinki tretiranih aloksanom i olovo-acetatom u odnosu na vrijeme izlaganja bakterijskoj infekciji, značajna odstupanja se uočavaju za povećan broj leukocita (grafikon 456) usljed duže izloženosti ( $p=0.000$ ), dok razlike u proporcijama pojedinih leukocitnih formi (grafikoni 457-461) nisu u nivou statističkog značaja ( $p>0.050$ ).

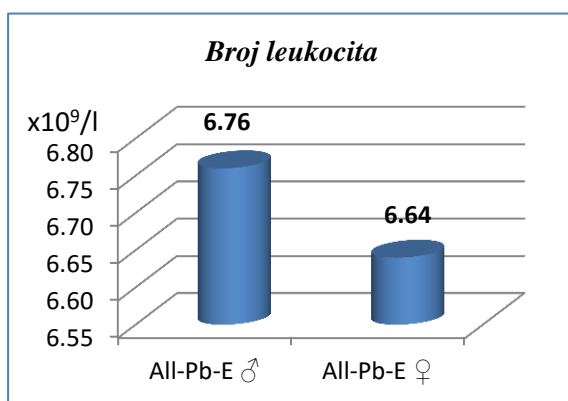


**Grafikon br. 460** Komparacija proporcije limfocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

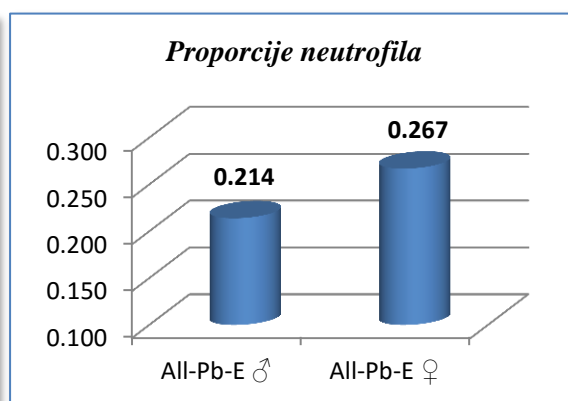


**Grafikon br. 461** Komparacija proporcije monocita između jedinki žrtvovanih nakon 24 i 72 sata

### 4.3.8.2. Leukogram i pol

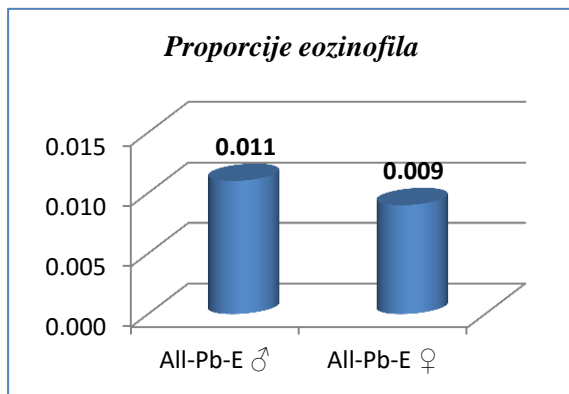


**Grafikon br. 462** Komparacija vrijednosti broja leukocita po litri krvi između mužjaka i ženki

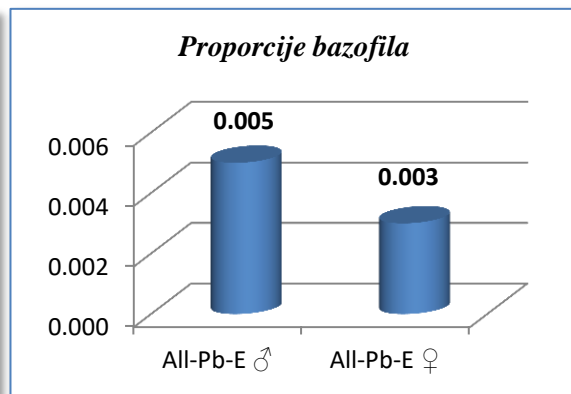


**Grafikon br. 463** Komparacija proporcije neutrofila između mužjaka i ženki

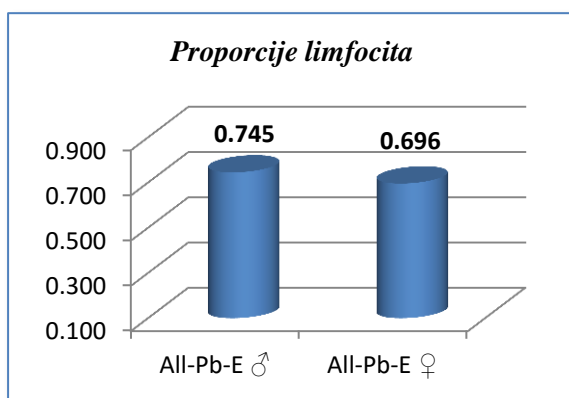
Pri komparaciji vrijednosti leukograma inficiranih jedinki intoksikovanih aloksanom i olovo-acetatom u odnosu na polnu pripadnost (grafikoni 462-467) ne uočavaju se statistički signifikantne razlike ( $p>0.050$ ).



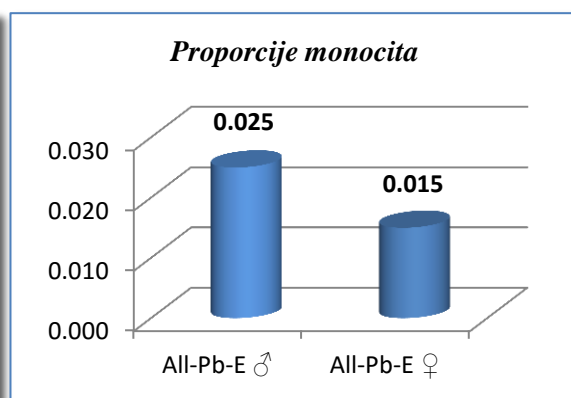
**Grafikon br. 464** Komparacija proporcije eozinofila između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 465** Komparacija proporcije bazofila između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 466** Komparacija proporcije limfocita između mužjaka i ženki



**Grafikon br. 467** Komparacija proporcije monocita između mužjaka i ženki

### 4.3.9. Komparacija dobijenih vrijednosti leukograma tretiranih i kontrolnih jedinki

Dobijene vrijednosti praćenih parametara bijele krvne loze jedinki podvrgnutih različitom tretmanu su upoređene sa onim dobijenim za jedinke kontrolnih grupa, K-0 i K-E, kao i poređenjem sinergističkog efekta višestrukih tretmana u odnosu na dvojne i pojedinačne intoksikacije. Vrijednosti statističke signifikantnosti su izložene u tabeli 38.

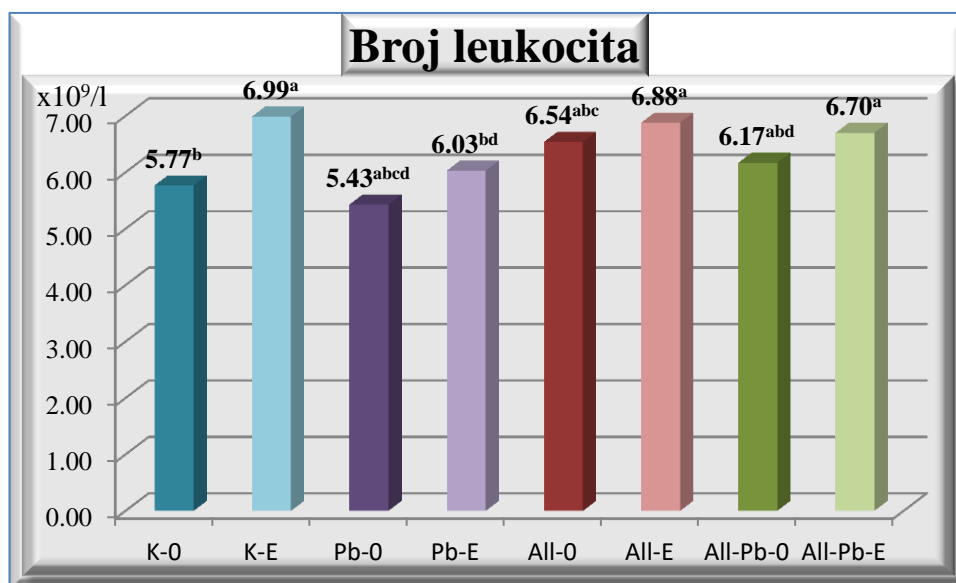
**Tabela br. 38 Vrijednosti statističkog značaja u komparaciji rezultata bijele loze tretiranih i kontrolnih jedinki**

tretman	LEUKOGRAM <sup>7</sup>						negativna i pozitivna kontrola
	L	PROPORCIJE POJEDINIH FORMI LEUKOCITA					
		Neutrofili	Eozinofili	Bazofili	Limfociti	Monociti	
K-E	0.000	0.915	0.000	0.163	0.161	0.013	K-0
Pb-0	0.025	0.066	0.000	0.000	0.046	0.018	K-0
	0.000	0.084	0.326	0.000	0.548	0.905	K-E
Pb-E	0.085	0.239	0.000	0.000	0.784	0.006	K-0
	0.000	0.199	0.913	0.000	0.094	0.811	K-E
All-0	0.000	0.453	1.000	1.000	0.619	0.402	K-0
	0.003	0.520	0.000	0.163	0.364	0.001	K-E
All-E	0.000	0.699	0.065	0.756	0.133	0.007	K-0
	0.464	0.622	0.001	0.278	0.004	0.000	K-E
All-Pb-0	0.008	0.003	0.003	0.438	0.038	0.043	K-0
	0.000	0.002	0.030	0.534	0.001	0.000	K-E
All-Pb-E	0.000	0.024	0.000	0.352	0.116	0.074	K-0
	0.055	0.018	0.128	0.641	0.003	0.000	K-E
<b>Sinergistički efekat višestrukih tretmana u odnosu na dvojne i pojedinačne intoksikacije</b>							
All-Pb-0	0.000	0.000	0.231	0.000	0.000	0.000	Pb-0
	0.015	0.000	0.003	0.438	0.010	0.232	All-0
All-Pb-E	0.000	0.000	0.585	0.000	0.000	0.000	Pb-0
	0.000	0.275	0.157	0.000	0.194	0.000	Pb-E
	0.288	0.003	0.000	0.352	0.039	0.339	All-0
	0.232	0.060	0.065	0.534	0.945	0.345	All-E
	0.001	0.479	0.513	0.877	0.607	0.811	All-Pb-0

Prema očekivanjima, nastale su značajne promjene u većini posmatranih parametara usljed dejstva različitih tretmana, posebno kod inficiranih jedinki podvrgnutih sinergističkom dejstvu oba toksikanta u odnosu na jedinke kontrolnih grupa.

<sup>7</sup> Statistički značajne razike su označene roza bojom, dok plava polja označavaju vrijednosti iznad statističke signifikantnosti.

U odnosu na neinficirane jedinke kontrolne grupe (K-0; negativna kontrola), kojima je aplikovano 0,2 ml sterilnog fiziološkog rastvora, sve jedinke podvrgnute tretmanu ili infekciji ili sinergističkom efektu više tretmana pokazale su značajne promjene **broja leukocita** po litri krvi (grafikon 468). Inficirane jedinke intoksikovane olovo-acetatom su imale približno jednake vrijednosti onima kod negativne kontrole usljed oprečnog efekta infekcije koja stimuliše produkciju leukocita i intoksikacije olovo-acetatom čiji toksični efekat negativno djeluje na leukopoezu. Najveće vrijednosti ukupnog broja leukocita su zabilježene kod jedinki pozitivne kontrole, inficiranih ešerihijom, značajno uvećanih u odnosu na konstatovane kod neinficiranih jedinki kontrolne grupe i pojedinačnih i dvojnih tretmana.



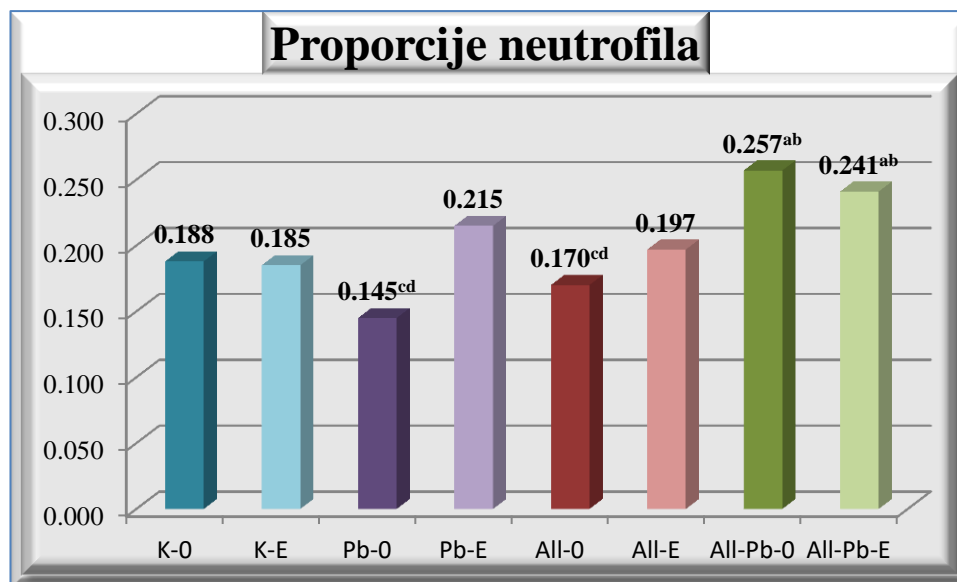
**Grafikon br. 468 Srednje vrijednosti ukupnog broja leukocita kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\***

Takođe, međusobnim poređenjem vrijednosti dobijenih za jedinke izložene sinergističkom efektu olovo-acetata i aloksana sa jedinkama izloženim pojedinačnim intoksikantima, kao i pri infekciji istih, uočava se statistički značajno povećanje ukupnog broja leukocita u grupi All-Pb-0 u poređenju sa jedinkama grupa Pb-0 i All-E. Isti trend je uočen i kod inficiranih jedinki dvojne intoksikacije, All-Pb-E, u odnosu na jedinke grupa Pb-0, Pb-E i All-Pb-0 (tabela 38, grafikon 468).

\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-0, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E

Značajno povećanje **proporcije neutrofila** se uočava kod jedinki dvojnog tretmana, inficiranih i neinficiranih, u odnosu na jedinke pozitivne i negativne kontrole.

Komparacijom jedinki grupa podvrgnutih sinergističkom dejstvu intoksikanata udruženim sa bakterijskom infekcijom sa jedinkama dvojnog i pojedinačnih tretmana, signifikantna povećanja udjela neutrofila se uočavaju kod jedinki grupa All-Pb-E i All-Pb-0 u odnosu na grupe All-0 i Pb-0 (tabela 38, grafikon 469).



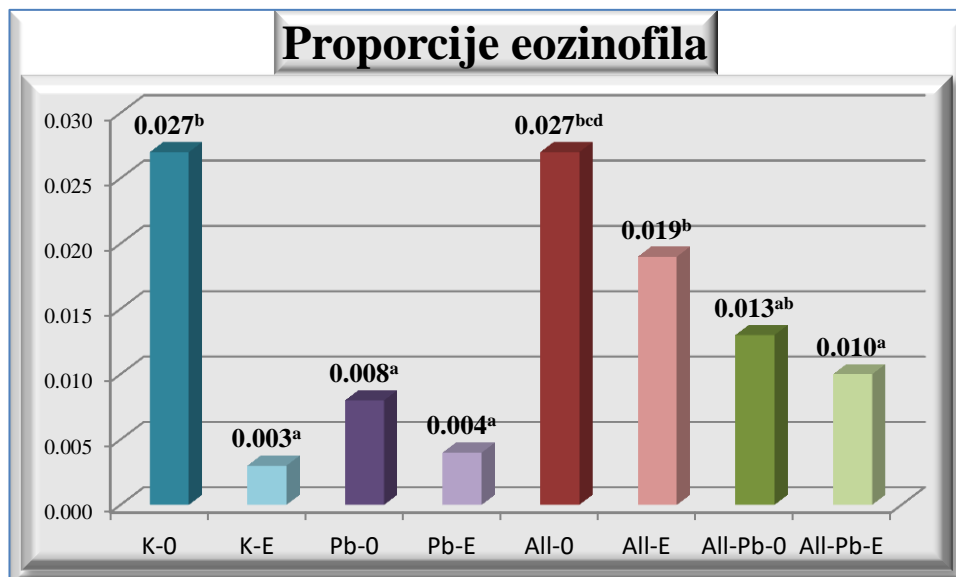
**Grafikon br. 469 Srednje vrijednosti proporcija neutrofila kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\***

Smanjene vrijednosti **proporcija eozinofila** se uočavaju kod jedinki pozitivne kontrole, jedinki grupa Pb-0, Pb-E, All-Pb-0 i All-Pb-E u odnosu na jedinke negativne kontrole.

S druge strane, jedinke pozitivne kontrole su imale najmanje vrijednosti proporcija eozinofila, začajno manje u odnosu na jedinke grupa All-0, All-E i All-Pb-0 (tabela 38, grafikon 470).

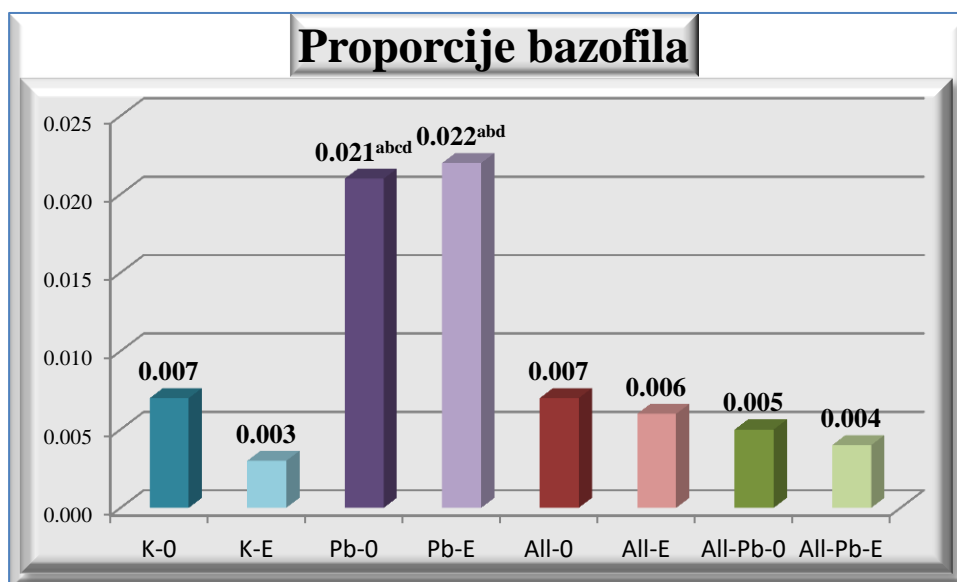
Jedinke dvojnog tretmana, inficirane i neinficirane, su imale signifikantno niži udio eozinofila u relativnoj leukocitarnoj formuli u odnosu na jedinke tretirane isključivo aloksanom (All-0).

\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-0, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E



*Grafikon br. 470 Srednje vrijednosti proporcija eozinofila kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\**

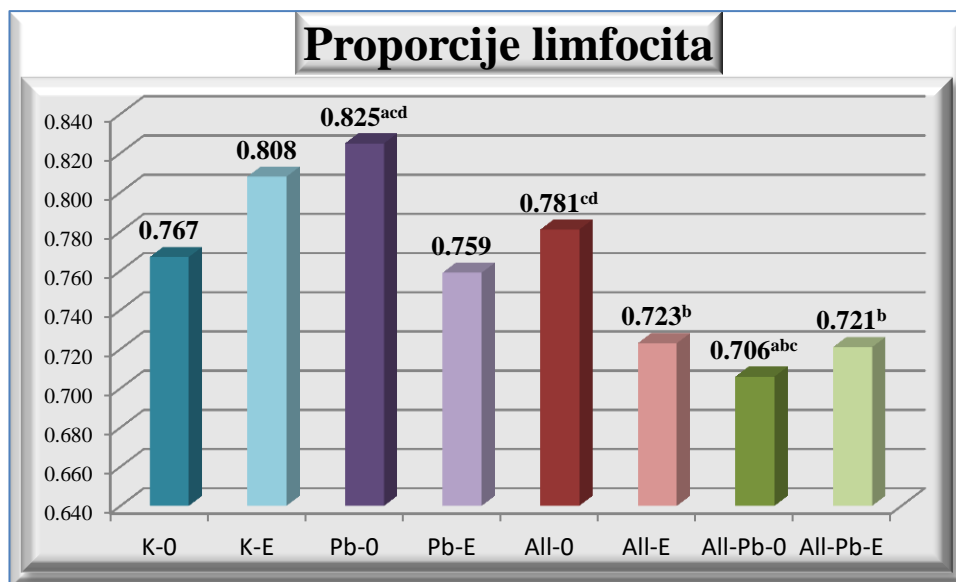
Manje statističkih razlika se može uočiti pri poređenju dobijenih vrijednosti za **proporcije bazofila** tretiranih i kontrolnih jedinki. Značajno povećanje ovog parametra se uočava samo kod jedinki tretiranih olovo-acetatom, inficiranih i neinficiranih u odnosu na jedinke pozitivne i negativne kontrole, kao i jedinke dvojnog tretmana (tabela 38, grafikon 471).



*Grafikon br. 471 Srednje vrijednosti proporcija bazofila kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\**

\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-O, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E

Povećanje **proporcije limfocita** se uočava kod jedinki intoksikovanih olovo-acetatom u odnosu na jedinke negativne kontrolne grupe. S druge strane, neinficirane jedinke dvojnog tretmana bilježe znatno niže vrijednosti ovog parametra u odnosu na negativnu kontrolu. Uočava se i smanjenje udjela limfocita kod jedinki intoksikovanih aloksanom i inficiranih ešerihijom (All-E), kao i jedinki dvojnog tretmana, neinficiranih (All-Pb-0) i inficiranih (All-Pb-E) u odnosu na jedinke pozitivne kontrole.



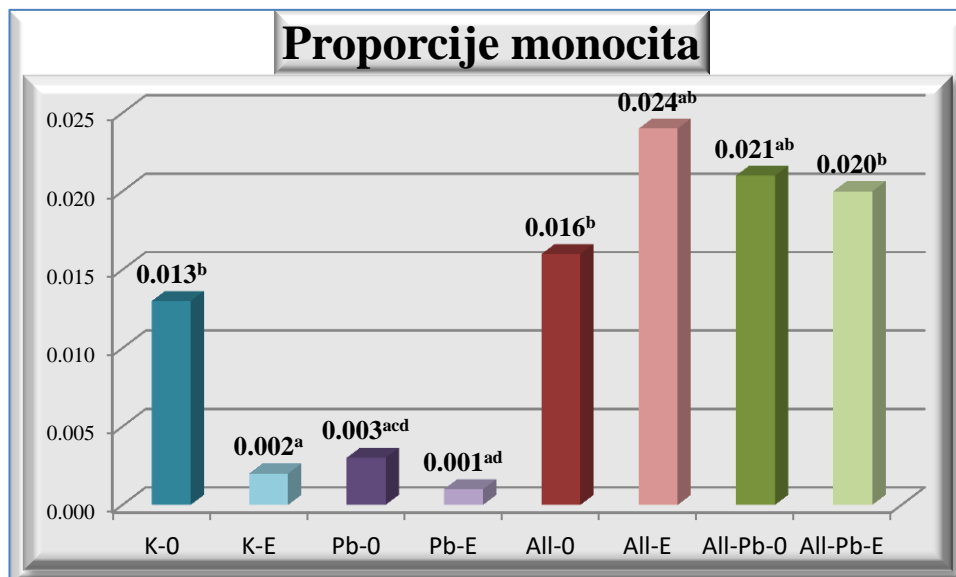
**Grafikon br. 472 Srednje vrijednosti proporcija limfocita kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\***

Jedinke dvojnog tretmana, neinficirane All-Pb-0 i inficirane All-Pb-E, su imale značajno nižu proporciju limfocita u odnosu na jedinke pojedinačnih tretmana, All-0 i Pb-0 (tabela 38, grafikon 472).

U odnosu na jedinke negativne kontrole značajno smanjene vrijednosti **proporcije monocita** su uočene kod jedinki grupa K-E, Pb-0 i Pb-E, dok su značajno povećane u grupama All-E i All-Pb-0. Jedinke pozitivne kontrole su zabilježile izuzetno nizak udio monocita u diferencijalnoj krvnoj slici u odnosu na jedinke grupa All-0, All-E, All-Pb-0 i All-Pb-E.

\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-0, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E





*Grafikon br. 473 Srednje vrijednosti proporcija monocita kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu\**

Praćenjem sinergističkog efekta u odnosu na dvojne i pojedinačne intoksikacije, mogu se konstatovati značajno uvećane vrijednosti proporcije monocita kod inficiranih i neinficiranih jedinki dvojnog tretmana u odnosu na jedinice intoksikovane isključivo olovo-acetatom, kao i pri poređenju jedinki grupe All-Pb-E sa Pb-E (tabela 38, grafikon 473).

\* značajno drugačije u odnosu na vrijednosti <sup>a</sup> negativne kontrole; <sup>b</sup> pozitivne kontrole, <sup>c</sup> grupe All-Pb-O, <sup>d</sup> grupe All-Pb-E

## 5. ZAKLJUČAK

U laboratorijskim uslovima je ispitano dejstvo intoksikacije olovo-acetatom i aloksanom na Wistar pacove inficirane ešerihijom *Escherichia coli* intraperitonealnim ubrizgavanjem, nakon 24h i 72h, sa morfometrijskog i hematološkog aspekta.

Došlo je do signifikantnih promjena većine posmatranih **morfometrijskih parametara**, posebno pri sinergističkom efektu olovo-acetata i aloksana sa dejstvom infekcije u odnosu na jedinke kontrolnih grupa. Značajno povećanje organosomatskih indeksa je uočeno za bubrege, jetru i srce, dok je prirast mase signifikantno smanjen kod jedinki izloženih aloksanskom tretmanu.

Objašnjenje ovakvih promjena vjerovatno treba tražiti u činjenici da pri hiperglikemiji dolazi do propadanja tkiva usljed mobilizacije proteina i masnoća. Isto tako, tokom dijabetesa smanjuje se transport glukoze u ćelije, te njen nedostatak rezultuje glukoneogenezom (lipoliznom, proteoliznom i slično), što dalje dovodi do smanjenja tjelesne mase, zbog sagorjevanja masti i proteina.

Intoksikacija olovo-acetatom takođe dovodi do značajnih promjena u tjelesnoj masi eksperimentalnih jedinki, kao i udjelu pojedinih organa. Pri dvonedeljnoj intoksikaciji olovo-acetatom eksperimentalnih jedinki prirast mase je znatno slabiji nego kod netretiranih jedinki. Olovo indukuje širok spektar fizioloških i biohemijskih poremećaja, kao i poremećaje funkcije različitih organa u organizmu životinja i ljudi. Razlog porasta pojedinih organosomatskih indeksa krije se u činjenici da se olovo-acetat s jedne strane nakuplja u njima, a s druge strane dovodi do smanjenog prirasta tjelesne mase, čime se udio pojedinih organa povećava.

Gledajući ukupno sinergistički efekat korištenih tretmana, uočava se njihovo kompleksno dejstvo, koje se ogleda u negativnim vrijednostima prirasta tjelesne mase, kao i znatno uvećanim udjelima masa pojedinih organa. Naime, kod dijabetičara su znatno češće infekcije uzrokovane različitim bakterijama, a hiperglikemija može narušiti i urođeni i stečeni imunitet i time smanjiti otpornost na patogene infekcije i prateće bolesti. Hiperglikemija povećava oksidativni stres, koji dovodi do razvoja komplikacija kod dijabetičara. Takođe, olovo iz spoljašnje sredine može izazvati brojne promjene u organizmu dijabetičara, tako da dijabetičari trebaju izbjegavati svaki kontakt sa ovim toksikantom.

Promjene u hematološkom statusu su jedan od prvih pokazatelja promjena u stanju organizma, endogenog ili egzogenog porijekla i predstavljaju veoma važan indikator narušavanja životne sredine. Pod sinergističkim dejstvom intoksikacije olovo-acetatom i aloksanom udruženim sa bakterijskom infekcijom došlo je do signifikantnog smanjenja parametara **eritrocitne loze**, ukupnog broja eritrocita, koncentracije hemoglobina, vrijednosti hematokrita, u odnosu na jedinice kontrolne grupe. Hematološki indeksi, MCV, MCH i MCHC pokazuju u manjoj mjeri statistički značajna odstupanja (povećanja vrijednosti u slučaju prva dva i smanjenje vrijednosti u slučaju trećeg) pri komparaciji tretiranih sa kontrolnim jedinkama.

Promjene u hematološkim parametrima mogu se dovesti u vezu sa hemolitičkim efektom koji izaziva infekcija ešerihijom, a koji se ogleda u smanjenim vrijednostima eritrocitnih parametara, posebno hematokrita, usljed anemije. Takođe, efekti olovo-acetata, kao i aloksana dovode do razvoja anemije. Olovo inhibira sitezu hema, skraćuje životni vijek eritrocita, pri čemu zbog njihove povećane destrukcije dolazi do snižavanja hematoloških vrijednosti. Aloksan destrukcijom beta-ćelija Langerhansovih ostrvaca dovodi do nedostatka insulina, što djeluje dvojako izazivajući ubrzano dijeljenje hemopoetskih ćelija i supresiju hematopoeze. Toksičnost aloksana se ogleda u destrukciji eritrocita usljed lipidne peroksidacije njihovih membrana. Hiperglikemija rezultuje povećanjem koncentracije glikoziliranog hemoglobina, što dovodi do smanjenja ukupne koncentracije hemoglobina u krvi pacova intoksikovanih aloksanom. Redukcija u količini hemoglobina može biti praćena smanjenjem broja eritrocita i vrijednosti hematokrita, što opet ukazuje na anemiju.

U **diferencijalnoj krvnoj slici** zdravih pacova od ukupnog broja leukocita najveći udio pripada limfocitima, zatim neutrofilima, dok se ostale leukocitne forme sreću u znatno manjem omjeru. Sinergistički efekat intoksikacije olovo-acetatom i aloksanom na Wistar pacove inficirane ešerihijom, ogleda se u značajnom povećanju ukupnog broja leukocita, praćenim neutrofilijom i limfopenijom.

Infekcija ešerihijom stimuliše imuni sistem na proliferaciju neutrofila, odgovornih za fagocitozu patogenih mikroorganizama u inficiranom tkivu, čime se povećava ukupan broj leukocita u krvi tokom prva 72 sata od uspostavljanja infekcije. S druge strane, toksični efekat olovo-acetata na leukopoezu u limfnim organima dovodi do blage leukopenije i limfocitoze, koje uz neutropeniju ukazuju na stimulaciju imunog odgovora kod intoksikovanih životinja. Olovo se veže na bijele krvne ćelije oštećujući ih

na taj način. Najveći dio olova unesenog u organizam se deponuje u kostima, gdje uzrokuje dodatne probleme. Može uticati na produkciju leukocita, izazivajući smanjenje njihovog broja u cirkulaciji ili indukovati imuni odgovor utičući na proporciju neutrofila i limfocita, pri čemu je uobičajena pojava neutrofilije praćene limfopenijom. Pri indukciji dijabetesa aloksanom uočeno je slabije povećanje ukupnog broja leukocita, uz neznatno smanjenje udjela neutrofila, a povećanje proporcije limfocita u odnosu na zdrave jedinke. Aloksanska dijabetogeneza izaziva perturbacije u matičnim ćelijama koštane srži, što rezultuje povećanjem ukupnog broja leukocita, povećanjem proporcije limfocita i smanjenjem udjela granulocita u krvi pacova uzetoj kardijalnom punkcijom.

## 6. LITERATURA

1. Aba, P.E., Asuzu, I.U. (2015): **Haematological Profile of Alloxan-induced Diabetic Rats Treated with Methanol Root Bark Extract of *Cussonia arborea***. International Blood Research i Reviews 4(4): 1-10.
2. Abd El-Ghany, M.A., El- Zainy, A.R.M., Ramadan, M.A., EL Ghogy, A.F.S (2009): **Study the effect of vegetables consumption on lowering the side effects of lead toxicity**. The 1st International and 4th Arab Annual Scientific Conference, Faculty of Specific Education, Mansoura University - Egypt April, 8-9, 1605-1623.
3. Abdel-Moneim, A.E., Dkhil, M.A., Al-Quraishy, S. (2011): **The potential role of flaxseed oil on lead acetate-induced kidney injure in adult male albino rats**. African Journal of Biotechnology Vol. 10(8), pp. 1436-1451, 21 February, 2011, ISSN 1684–5315 © 2011.
4. Abdou, H.M., Hassan, M.A. (2014): **Protective Role of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid against Lead Acetate-Induced Toxicity in Liver and Kidney of Female Rats**. Hindawi Publishing Corptoration, BioMed Research International, Article ID 435857, 11 pages.
5. Adams, M. (2005): **How to half diabetes in 25 days, Nutritional transformation for type-2 diabetics**. Truth Publishing International, Ltd. p. 11. [http://www.curezone.org/upload/PDF/Books/How\\_To\\_Halt\\_Diabetes\\_In\\_25\\_Days\\_Mike\\_Adams.pdf](http://www.curezone.org/upload/PDF/Books/How_To_Halt_Diabetes_In_25_Days_Mike_Adams.pdf)
6. Addou-Benounan, S., Benamara, R.N.,Ahmadvand, H., Tavafi, M., Khalatbary, A.R. (2012): **Hepatoprotective and Hypolipidemic Effect of *Satureja Khuzestanica* Essential Oil in Aloksan-induced Type 1 Diabetic Rats**. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 11 (4): 1219-1226.
7. Adikwu, E., Deo, O., Geoffrey, O.-B.P., Enimeya, D.A. (2014): **Lead Organ and Tissue Toxicity: Roles of Mitigating Agents (Part 2)**. British Journal of Pharmacology and Toxicology 5(1): 1-15.
8. Adikwu, E., Deo, O., Geoffrey, O.-B.P., Enimeya, D.A. (2014): **Lead Organ and Tissue Toxicity: Roles of Mitigating Agents (Part 1)**. British Journal of Pharmacology and Toxicology 4(6): 232-240.
9. Ahmadvand, H., Tavafi,M., Khalatbary, A.R. (2012): **Hepatoprotective and Hypolipidemic Effects of *Satureja Khuzestanica* Essential Oil in Alloxan-induced Type 1 Diabetic Rats**. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 11 (4): 1219-1226.
10. Ahmed, M.F., Kazim, S.M., Ghorri, S.S., Mehjabeen, S.S., Ahmed, S.R., Ali, S.M., Ibrahim, M. (2010): **Antidiabetic Activity of *Vinca rosea* Extracts in Aloksan-Induced Diabetic Rats**. Hindawi Publishing Corporation, International Journal of Endocrinology, Volume 2010, Article ID 841090, 6 pages.
11. Ahmed, Y.K., Eldebaky, H.A.A., Mahmoud, K.Gh.M., Nawito, M. (2012): **Effects of lead exposure on DNA damage and apoptosis in reproductive and vital organs in female rabbits**. Global Veterinaria, 9:401-408.
12. Ait Hamadouche, N., Sadi, N., Kharoubi, O., Slimani, M., Aoues, A. (2013): **The Protective Effect of Vitamin E against Genotoxicity of Lead Acetate Intraperitoneal Administration in Male Rat**. Not. Sci. Biol., 5(4): 412-419.
13. Ajiboye, B.O., Ojo, O.A. (2014): **Effect of aquous leaf extract of *Senecio biafrae* on hyperglycemic and haematological parameters of alloxan-induced diabetic rats**. PharmacologyOnLine, Archives, Vol.3, 163-169.
14. Akah, P.A., Alemji, J.A., Salawu, O.A., Okoye, T.C., Offiah, N.V. (2009): **Effects of *Vernonia amygdalina* on Biochemical and Hematological Parameters in Diabetic Rats**. Asian Journal of Medical Sciences 1 (3): 108-113.
15. Akinloye, O., Ogunleye, K., Oguntibeju, O.O. (2010): **Cadmium, lead, arsenic and selenium levels in patients with type 2 diabetes mellitus**. African Journal of Biotechnology, Vol.9(32), 5189-5195.

16. al Herbish, A.S., al Rasheed, S.A. (1992): **Persistent insulin-dependent diabetes mellitus in hemolytic uremic syndrome.** Child Nephrol Urol.;12:59–61.
17. Alabbassi, M.G., Hussain, S.A., Ali, S.H. (2008): **Therapeutic Effects of Melatonin in Lead-Induced Toxicity in Rats.** Iraqi J Pharm Sci, Vol.17 (2), 47-54.
18. Al-Ashban, R.M., Aslam, M., Shah, A.H. (2004): **Kohl (surma): A toxic traditional eye cosmetics study in Saudi Arabia.** Public Health 118 (4): 292-298.
19. Allouche, L., Hamadouche, M., Touabti, A., Khennouf, S. (2011): **Effect of Long-term Exposure to Low or Moderate Lead Concentrations n Growth, Lipid Profile and Liver Function in Albino Rats.** Advances in Biological Research 5(6): 339-347.
20. AMAP (1998): **AMAP Assessment Report: Arctic Pollution Issues.** Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, Norway.
21. AMAP (2001): **AMAP Assessment Report: Heavy Metals, Fact Sheet 3,** Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, Norway.
22. American Diabetes Association (2004): **Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.** Position Statement, Diabetes Care, Volume 27, Supplement 1, January 2004, S5-S10.
23. Amjad, Z., Iqbal, M.Z., Shoro, A.A. (2013): **Lead-Induced Reduction in Body and Kidney Weight of Wistar Albino Rats Ameliorated by *Ginkgo biloba* Extract (EGb 761).** Biochem Physiol 2: 113. doi:10.4172/2168-9652.1000113.
24. Ananthi, J., Prakasam, A., Pugalendi, COV (2003): **Antihyperglycemic Activity of Eclipta alba Leaf on Aloxan-induced Diabetic Rats.** YALE JOURNAL OF BIOLOGY AND MEDICINE 76, pp. 97-102.
25. Anđelković, Z., Somer, Lj., Matavulj, M., Lačković, V., Lalošević, D., Nikolić, I., Milosavljević, Z., Danilović, V. (2002): **Čelija i tkiva.** Prvo izdanje. Niš.
26. Andreyev, A.Y., Kushnareva, Y.E. and Starkov, A.A. (2005): **Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species.** Biochemistry (Moscow) 70, 200-214.
27. Anonimus (1996): „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“, National Academy Press, Washington, D.C.
28. Antai, A.B., Ofem, O.E., Ikpi, D.E., Ukafia, S., Aging, E.A. (2009): **Phytochemistry and some haematological changes following oral administration of ethanolic root extract of *Gonglonema latifolium* in rats.** Nigeria Journal of Physiological Sciences 24 (1): 79-83.
29. Apaydin, F.G., Kalender, S., Bas, H., Demir, F., Kalender, Y. (2015): **Lead Nitrate Induced Testiculat Toxicity in Diabetic and Non-Diabetic Rats: Protective Role of Sodium Selenite.** Braz. Arch. Biol. Technol., Vol. 58, n.1, 68-74.
30. Arsenijević-Maksimović, I., Pajević, S.(2003): **Praktikum iz fiziologije biljaka.** Poljoprivredni fakultet, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad, pp. 114-118.
31. Askin, D.P., Vollkman, M. (1997): **Effect of personal hygiene on blood lead levels of workers at a lead processing facility.** Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 58 (10), 752-753.
32. Asmat, U., Abad, K., Ismail, K. (2015): **Diabetes mellittus and oxidative stress-A concise review.** Saudi Pharmaceutical Journal, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2015.03.013>.
33. **atmosphere from anthropogenic sources worldwide.** Environ. Rev. 9, 269-298.
34. ATSDR (2005): **Draft toxicological profile for lead.** Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta.
35. Avdić, R., Tandir, F. (2008): **Prilog poznavanju morfologije jednjaka i želudca kod laboratorijskog pacova soj wistar.** Publikacije Veterinarskog fakultetea u Sarajevu, „Veterinar“, broj 13-14, 98-102.
36. Ayoubi, A., Vaizadeh, R., Omidi, A., Abolfazli, M. (2015): **Protective Effects of Vitamin C (Ascorbic Acid) in Lead Acetate Exposed Diabetic Male Rats: Evaluation of Blood Biochemical Parameters and Testicular Histopathology.** Journal of the Faculty of Veterinary Medicine Istanbul University, 41 (1), 84-91.

37. Azeez, O.I., Oyagbemi, A.A., Oyeyemi, M.O., Odetola, A.A. (2010): **Ameliorative effects of *Cnidioscolus aconitifolius* on alloxan toxicity in Wistar rats.** African Health Sciences, Vol.10, No.3, 283-291.
38. Badr G. (2012): **Supplementation with undenatured whey protein during diabetes mellitus improves the healing and closure of diabetic wounds through the rescue of functional long-lived wound macrophages.** Cell Physiol Biochem.2012, 29:571-582.
39. Barber, B.J., Blake, N.J.(2006): **Reproductive physiology.** In: S.E. Shumway i G.J. Parsons, editors. Scallops: biology, ecology and aquaculture. Developments in Aquaculture and Fisheries Science 35. New York: Elsevier Sciences. pp. 357–416.
40. Blamey, R. W., Evans, D. M. D. (1971): **Spleen weight in rats during tumour growth and in homograft rejection.** Br J Cancer, 25(3):527-532.
41. Bornside, G.H., Bouis, P.J., Cohn, I. (1968): **Hemoglobin and *Escherichia coli* , a Lethal Intraperitoneal Combination.** Journal of Bacteriology, Vol.95, No.5, 1567-1571.
42. Breuille, D., Voisin, L., Contrepolis, M., Arnal, M., Rose, F., Obled, C. (1999): **A Sustained Rat Model for Studying the Long-Lasting Catabolic State of Sepsis.** Infection and Immunity, American Society of Microbiology, 1079-1085.
43. Brkić, D., Szakonyne-Pasics, I., Gašić, S., Karan, V., Radivojević Lj., Nešković, N. (2011): **Hematološki efekti herbicida Avalon® (bentazon + dikamba) za pacova.** Pestic. fitomed. (Beograd), 26(4), 2011, 401-407.
44. Brush, J.L. (2011): **Urinary Tract Infections in Diabetes Mellitus.** Medscape Reference, <http://emedicine.medscape.com/article/2040207-overview>.
45. Buonocore, G., Perrone, S. and Tataranno, M.L. (2010): **Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species.** Semin. Fetal Neonatal Med. 15, 186-190.
46. Busacker, G.P., Adelman, I.R., Goolish, E.M. (1990): **Growth.** In Methods for Fish. Biology (Schreck, C. B. i Moyle, P. B., eds), pp. 363–387. Bethesda, MD: American Fisheries Society.
47. Cai, S., Zhong, Y., Li, Y., Huang, J., Zhang, J., Luo, G., Liu, Z. (2013): **Blockade of the Formation of Insoluble Ubiquitinated Protein Aggregates by EGCG3<sup>Me</sup> in the Alloxan-Induced Diabetic Kidney.** Plos One, [www.plosone.org](http://www.plosone.org), Sept., Volume 8, Issue 9, e75687.
48. Carvalho, E.N., Carvalho, N.A.S., Ferreira, L.M. (2003): **Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats.** Acta Cir Bras, Vol.18, Special Edition, 60-64.
49. CDC (1991): **Preventing lead poisoning in children.** Center for Disease Control and Prevention, Atlanta.
50. Cesta, M.F. (2006): **Normal Structure, Function, and Histology of the Spleen.** Toxicologic Pathology, 34:455–465.
51. Charles River Laboratories (1998): **Technical Bulletin, Baseline Hematology and Clinical Chemistry Values for Charles River Wistar Rats – (CRL:(W)DBR) as a Function of Sex and Age.** Charles River Laboratories, Spring 1998, Originally published October 1982.
52. Chen, H.D., Frankel, G. (2005): **Enteropathogenic *Escherichia coli*: unraveling pathogenesis.** FEMS Microbiology Reviews, 29, 83-98.
53. Chigozie, I.J., Chidinma, I.C. (2012): **Hypoglycemic, hypocholesterolemic and ocular-protective effects of an aqueous extract of the Rhizomes of *Sansevieria senegambica* Baker (Agavaceae) on alloxan-induced diabetic Wistar rats.** Am J Biochem Mol Biol; 2:48-66.
54. Ciobotaru, E., Militaru, M., Braslasu, C.M., Braslasu, E.D., Soare, T., Joita, S., Dinescu, G. (2008): **Gravimetric and morphometric assessments in Wistar rats with experimental diabetes mellitus type 1 and cardiac failure.** Acta Veterinaria, Vol. 58, No. 5-6, 583-592, 2008. Beograd.
55. Cirioni, O., Giacometti, A., Ghiselli, R., Bergnach, C., Orlando, F., Silvestri, C., Mocchegiani, F., Licci, A., Skerlavaj, B., Rocchi, M., Saba, V., Zanetti, M., Scalise, G.

- (2006): **LL-37 Protects Rats against Lethal Sepsis Caused by Gram-Negative Bacteria.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, p. 1672-1679.
56. Čolak, E. i Majkić-Singh, N. (2009): **The effect of hyperglycemia and oxidative stress.** JMB, 28:63-71.
57. Conterato, G.M.M., Augusti, P.R., Somacal, S., Einsfeld, L., Sobieski, R., Torres, J.R.V., Emanuelli, T. (2007): **Effect of Lead Acetate on Cytosolic Thioredoxin Reductase Activity and Oxidative Stress Parameters in Rat Kidneys.** Basic i Clinical Pharmacology i Toxicology, 101, 96-100.
58. Crespilho, D.M., de Almeida Leme, J.A.C., de Mello, M.A.R., Luciano, E. (2010): **Effects of physical training on the immune system in diabetic rats.** International Journal of Diabetes in Developing Countries, 30(1), 33–37.
59. Čupić, V.N. (1999): **Najčešća trovanja u veterinarskoj medicini.** Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, 7-35, 115-117.
60. Dalal, S., Nicolle, L., Marrs, C.F., Zhang, L., Harding, G., Foxman, B. (2009): **Long-Term Escherichia coli Asymptomatic Bacteriuria among Women with Diabetes Mellitus.** Clinical Infection Diseases, 49: 491-497.
61. Dallatu, M.K., Anaja, P.O., Bilbis, L.S., Mojiminiyi, F.B.O., Mohammed, A., Tanko, Y. (2010): **Haematological and Antioxidant Properties of Aloksan-Induced Diabetes Rats Supplemented with Antioxidant Micronutrients.** NJBAS Nigerian Journal of Basic and Applied Science, 18 (1): 106-111.
62. Davidović, V. (2013): **Uticaj ekstrakta podzemnih organa Helleborus odorus W. et K. na hematološke parametre, proteine akutne faze i funkcije neutrofilnih granulocita pacova.** Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine.
63. Davidović, V., Joksimović-Todorović, M., Hristov, S., Stanković, B. (2007): **Haemolytic activity of rhizome and root extract of Helleborus odorus Waldst. et Kit. applied on Wistar rats.** Biotechnology in Animal Husbandry 23 (5-6), p 207-213.
64. Davidović, V., Lazarević M., Joksimović-Todorović, M., Maksimović Z., Jovanović, M., Miljaš, N. (2010): **Uticaj ekstrakta podzemnih organa Helleborus odorus W. et K. na crvenu krvnu sliku Wistar pacova.** Vet. glasnik 64 (3-4) 219 – 229.
65. Davies, K.J.A. (1995): **Oxidative stress: the paradox aerobic life.** Biochemical Society Symposia Nov. 01, 1995, 61 1-31.
66. de Figueiredo, F.A.T., Gerlach, R.F., da Veiga, M.A.M.S., Nakadi, F.V., Ramos, J., Kawakita, E.R., Guerra, C.S., Issa, J.P.M. (2014): **Reduced Bone and Body Mass in Young Male Rats Exposed to Lead.** BioMed Research International, vol. 2014, Article ID 571065, 5 pages.
67. Dembovska, K., Svoboda, P., Scheer, P., Kantorova, I., Tomenendalova, J., Rehakova, K., Doubek, J. (2008): **Model of septic shock induced by live E. coli (O18) in laboratory rat.** Veterinarni Medicina, 53 (3): 153-163.
68. Đeri, A. (2014): **Efekti mineral trioksid agregata i kalcijum hidroksida na pulpu zuba pacova sa eksperimentalno izazvanim diabetes mellitus-om tipa 1.** Doktorska disertacija, Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci.
69. Despopulus, A., Silbernagl S. (2011): **Fiziološki atlas u boji.** Niš: Medicinski fakultet. U Petković, D.Ž. (2013): **Uticaj ibuprofena, acetilsalicilne kiseline i vitamina C na osmotsku otpornost eritrocita pacova.** Master rad, Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za biologiju i ekologiju, str. 7.
70. Deveci, E. (2006): **Ultrastructural effects of lead acetate on brain of rats.** Toxicology and Industrial Health, 22: 419-422.
71. Deveci, E., Söker, S., Baran, Ö., Tunik, S., Ayaz, E., Deveci, S. (2011): **Ultrastructural Changes in the Kidney Cortex of Rats Treated with Lead Acetate.** Int. J. Morphol., 29(3): 1058-1061.



72. Diefy, A.S., Ahmed, A.S., Manal, M.S., Shehata, O.A. (2014): **Evaluation of some chelating agents efficacy in treatment of lead toxicity: haematological, biochemical and histopathological studies.** Assiut Vet. Med. J. Vol. 60, No.142, 160-171.
73. Dijabetološki savez Srbije (2016): **Šta je šećerna bolest.** <http://www.diabeta.net/sta-je-secerna-bolest>
74. Đorović, A., Kalezić, M. (1997): **Praktikum.** Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd.
75. Ebong, P.E., Igile, G.O., Mgbeje, B.I.A., Iwara, I.A., Odongo, A.E., Onofiok, U.L., Oso, E.A. (2014): **Hypoglycemic, Hepatoprotective and Nephroprotective Effects of Methanolic Leaf Extract of *Heinsia crinita* (Rubiaceae) in Aloksan-induced Diabetic Albino Wistar Rats.** IOSR Jpurnal of Pharmacy, Vol.4, Issue 1, pp. 37-43.
76. Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L. *et al.* (2005): **Diversity of the human intestinal microbial flora.** Science 308, 1635-1638.
77. Edet, A.E., Patrick, E.E., Olorunfemi, E.A. (2013): **Hematological parameters of alloxan-induced diabetic rats treated with ethanol extracts and fractions of *Nauclea lafiloia* leaf.** European Scientific Journal, vol.9, No.27, 203-210.
78. Egan, J.W., Jugus, M., Kinter, L. B., Lee, K., Smith, E.F. 3rd (1989): **Effect of selective V1 vasopressin receptor antagonist on sequelae of endotoxemia in the conscious rat.** Circ. Stock. Oct; 29(2): 155-66.
79. Eizirik, D. L.; Pipeleers, D. G.; Ling, Z.; Welsh, N.; Hellerström, C.; Andersson, A. (1994): **Major Species Differences between Humans and Rodents in the Susceptibility to Pancreatic  $\beta$ -Cell Injury.** PNAS U S A 91 (20): 9253 – 9256. doi:10.1073/pnas.91.20.9253. PMID 7937750.
80. Ekanem, A.U., Kwari, H.D., Garba, S.H., Salami, H.A. (2015): **Effect of Lead Acetate on Spleen and Blood Parameters in Albino Rats.** IOSR Journal of Dental and Medical Sciences, Vol.14, Iss.3, Ver.I, pp. 43-49.
81. El Kader, M.A.A., El-Sammad, N.M. and Hamdy, T. (2012): **The Protective Role of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in Lead Acetate Induced Toxicity in Rats.** Journal of Applied Sciences Research, 8, 3071-3082.
82. El-Boshy, M.E.S., Abdalla, O.A., Hassan, A. (2013): **Studies on the Immunomodulatory Effects of Lactoferrin in Rats Infected with *E. coli*.** Journal of Immune Based Therapies, Vaccines and Antimicrobials, 2, 39-43.
83. El-Nahal, D.M. (2010): **Effect of using pectin on lead Toxicity.** Journal of American Science, 6(12): 541-554.
84. Erejuwa, O. (2012): **Oxidative Stress in Diabetes Mellitus: Is There a Role for Hypoglycemic Drugs and/or Antioxidants.** Oxid. Stress Dis., 217–24.
85. Eslami, H., Batavani, R.A., Asri-Rezaei, S., Hobbenaghi, R. (2015): **Changes of stress oxidative enzymes in rat mammary tissue, blood and milk after experimental mastitis induced by *E. coli* lipopolysaccharide.** Veterinary Research Forum, 6 (2) 131-136.
86. Ewenighi, C., Dimkpa, U., Onyeanus, J., Onoh, L., Onoh, G., Ezeugwu, U., Ilo, C., Agbapuonwu, N. (2015): **Estimation of glucose level and body weight in alloxan induced diabetic rat treated with aqueous extract of *Garcinia kola* seed.** Ulutas Med J. 2015;1(2):26-30.
87. Feng, P., Weagant, S., Grant, M. (2002): **Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria.** Bacteriological Analytical Manual, 8th edition, FDA/Center for Food Safety i Applied Nutrition.
88. Flora, G., Gupta, D., Tiwari, A. (2012): **Toxicity of lead: A review with recent updates.** Interdiscip. Toxicol., Vol. 5(2): 47-58.
89. Forbes, J.M., Coughlan, M.T., Cooper, M.E. (2008): **Oxidative Stress as a Major Culprit in Kidney Disease in Diabetes.** Diabetes, Vol.57, 1446-1454.
90. Gatsing, D., Aliyu, R., Kuate, J.R., Garba, I.H., Jaryum, K.H., Tedongmo, N., Tchouanguép, F.M., Adoga, G.I. (2005): **Toxicological evaluation of the aqueous**

- extract of *Allium sativum* bulbs on laboratory mice and rats.** Cameroon Journal of Experimental Biology, Vol. 01, N<sup>o</sup>0, 39-45.
91. Geerlings, S.E., Brouwer, E.C., Gaastra, W., Verhoef, J., Hoepelman, A.I.M. (1999): **Effect of glucose and pH on uropathogenic and non-uropathogenic *Escherichia coli*: studies with urine from diabetic and non-diabetic individuals.** J. Med. Microbiol., Vol.48, 535-539.
  92. Georgewill, U.O., Georgewill, O.A. (2009): **Effect of extract of *Pseudocedrela kotschy* on blood glucose concentration of aloksan induced diabetic albino rats.** Eastern Journal of Medicine 14, 17-19.
  93. Georgiades, K., Merhej, V., Didier, R. (2011): **The influence of rickettsiologists on post-modern microbiology.** Review Article. Frontiers in cellular and infection microbiology, Vol. 1, Article 8, www.frontiersin.org.
  94. Ghosh, D., Dey, M., Ghosh, A.K., Chattopadhyay, A., Bandyopadhyay, D. (2014): **Melatonin protects against lead acetate-induced changes in blood corpuscles and lipid profile of male Wistar rats.** Journal of Pharmacy Research, Vol.8, Iss.3, 336-342.
  95. Gikins, M.L.A., Clifford, C.B. (2008): **Clinical Laboratory Parameters for CrI:WI(Han).** Charles River Laboratories, Available at: [http://www.criver.com/sitecollectiondocuments/rm\\_rm\\_r\\_wistar\\_han\\_clin\\_lab\\_parameters\\_08.pdf](http://www.criver.com/sitecollectiondocuments/rm_rm_r_wistar_han_clin_lab_parameters_08.pdf).
  96. Glavač, V. (2001): **Uvod u globalnu ekologiju.** Hrvatska sveučilišna naklada, Ministarstvo zaštite okoliša i prostornog uređenja, Pučko otvoreno učilište, Zagreb.
  97. Gor, A. (2008): **Neprijatna istina: planetarna opasnost od globalnog zagrevanja i šta mi možemo da učinimo u vezi s tim.** Klub plus, Beograd.
  98. Goyer, R.A. (1993): **Lead toxicity: Current concerns.** Environmental Health Perspectives, 100, 177-187.
  99. Green, C.J., Knight, J., Precious, S., Simpkin, S. (1981): **Ketamin alone and combined with diazepam or xynazine in laboratory animals: A 10 years experience.** Lab. Anim. 15, 163-170. In Fish, R., Danneman, J. P., Brown, M., Karas, A. (Eds.), Anesthesia and analgesia in laboratory animals, Second edition. American Collage of laboratory animals medicine.
  100. Green, K., Brand, M.D., Murphy, M.P. (2004): **Prevention of Mitochondrial Oxidative Damage as a Therapeutic Strategy in Diabetes.** Diabetes, Vol.53, Supplement 1, S110-S118.
  101. Guarda, I.F.M.S., Correia, C.J., Breithaupt-Faloppa, A.C., Ferreira, S.G., Moreno, A.C.R., Martinez, M.B., Rocha-e-Silva, M., Sannomiya, P. (2015): **Effects of ethyl pyruvate on leucocyte-endothelial interactions in the mesenteric microcirculation during early sepsis treatment.** Clinics, 70(7): 508-514.
  102. Guyton, A.C., Hall, J.E. (2003): **Medicinska fiziologija.** Prevod desetog izdanja. Savremena administracija, Beograd.
  103. Han, S., Li, W., Jamil, U., Dargan, K., Orefice, M., Kemp, F.W., Bogden, J.D. (1999): **Effects of Weight Loss and Exercise on the Distribution of Lead and Essential Trace Elements in Rats with Prior Lead Exposure.** Department of Preventive Medicine and Community Health, UMDNJ-New Jersey Medical School, Newark, New Jersey, USA.
  104. Hawes, A.S., Fischer, E., Marano, M.A., Van Zee, K.J., Rock, C.S., Lowry S.F., Calvano, S.E., Moldawer, L.L. (1993): **Comparison of peripheral blood leukocyte kinetisc after live *Escherichia coli*, endotoxin, orr interleukin-1 alpha administation. Studies using a novel interleukin-1 receptor antagonist.** Ann Surg., 218(1):79-90.
  105. Helal, E.G.E., Gawish, A.s.m., Kahwash, A. (2005): **Some Hematological-Studice ON Diabetic RATS tretated with certain hypoglicemic plants.** The Egyptian Journal of Hospital Medicine, Vol. 19: 179-188.
  106. Helmy, M.A., Elnaga, N.I. and Hela, S.M. (2000): **Effect of administration of milk and kareish cheese on hematological values and histopathological changes in liver and brains of rat treated with lead.** Alexandria J. Agril. Res. 45(2): 103-115.

107. Henrich, J.H. (2000): **History, strains and models**. In Krinke J. G. (Ed.), The handbook of experimental animals. The laboratory rat, Chapter 1
108. Hillyer, E.V.; Quesenberry, K. E. (1997): **Ferrets, rabbits and rodents clinical medicine and surgery**. London: Saunders.
109. Huang, W.-H., Lin, J.-L., Lin-Tan, D.-T., Hsu, C.-W., Chen, K.-H-, Yen, T.-H. (2013): **Environmental Lead Exposure Accelerates Progressive Diabetic Nephropathy in Type II Diabetes Patients**. BioMed Research International, Vol. 2013, Article ID 742545, 9 pages.
110. Huang, Y., Wang, S.-R., Yi, C., Ying, M.-Y., Lin, Y., Zhi, M.-H. (2002): **Effects of recombinant human growth hormone on rat septic shock with intraabdominal infection by *E.coli***. World Journal of Gastroenterology; 8(6): 1134-1137.
111. Ibrahim, N.M., Eweis, E.A., El-Beltagi, H.S., Abdel-Mobdy, Y. E. (2012): **Effect of lead acetate toxicity on experimental male albino rat**. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 41-46.
112. Indradevi, S., Ilavenil, S., Kaleeswaran, B., Srigopalram, S., Ravikumar, S. (2012): **Ethanol extract of *Crinum asiaticum* attenuates hyperglycemia-mediated oxidative stress and protects hepatocytes in aloksan induced experimental diabetic rats**. Journal of King Saud University – Science, 24, 171-177.
113. Isaac, J.A., Bolanle, A.M., Oluyemi, A. (2013): **Modulatory effects of kolaviron (*Garcinia kola* extract) on spermogram and reproductive system of adult male wistar rats in lead acetate induced toxicity**. Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences, Vol.5(7), pp. 121-130.
114. Ivanc, A., Dekić, R. (2006): **Praktikum opšte fiziologije životinja**. Prirodno-matematički fakultet, Banja Luka.
115. Jablanović, M., Jakšić, P., Kosanović, K. (2003): **Uvod u ekotoksikologiju**. Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Prištini, Kosovska Mitrovica, 30-39.
116. Jain, C.N. (1993): **Essentials of Veterinary hematology**. Lea i Febiger, Philadelphia.
117. Jain, D.K., Arya, R.K. (2011): **Anomalies in alloxan-induced diabetic model: It is better to standardize it first**. Indian J Pharmacol., 43 (1): 91.
118. Järup, L. (2003): **Hazards of heavy metal contamination**, British Medical Bulletin, Vol. 68, Iss.1, Oxford Journals , Oxford University Press, Oxford, 167-182.
119. Kampfmann, I., Bauer, N., Johannes, S., Moritz, A. (2012): **Differences in hematologic variables in rats of the same strain but different origin**. Veterinary Clinical Pathology 41/2; 228-234.
120. Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L.T. (2004): **Pathogenic *Escherichia coli***. Nature Reviews, Microbiology, Vol.2, 123-140.
121. Karamala, S.K., Srilatha, C., Anjaneyulu, Y., Chandra Sekhara Rao, T.S., Sreeni Vasulu, D., Pidugu, A.P. (2011): **Hematobiochemical changes of lead poisoning and amelioration with *Ocimum sanctum* in wistar albino rats**. Vet World, Vol.4(6): 260–263.
122. Karch, H., Tarr, P., Bielaszewska, M. (2005): **Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine**. International Journal for Medical Microbiology, 295 (6-7): 405-18.
123. Kastori, R. (1993): **Teški metali i pesticidi u zemljištu**. Poljoprivredni fakultet: Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad.
124. Kastori, R. (1997): **Teški metali u životnoj sredini**. Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad.
125. Kim, M.Y., Ha, B.J. (2013): **Antihyperglycemic and Antihyperlipidemic Effects of Fermented *Rhynchosia nulubilis* in Aloksan-induced Diabetic Rats**. Toxicol.Res., Vol.29, No.1, 15-19.
126. King, H., Aubert, R.E., Herman, W.H. (1999): **Global burden of diabetes, 1995-2025. Prevalence, numerical estimates and projections**. In: Int. Diabetes Monitor, 11 :15-16

127. Kitajima, S., Tsuda, M., Eshida, N., Matsushima, Y., Saitoh, M., Momma, J., Kurokawa, Y. (1995): **Lipopolysaccharide-associated elevation of serum and urinary nitrite/nitrate levels and hematological changes in rats.** *Toxicol. Lett.*, 78, 2: 135-140.
128. Klassen, C.D. (2001): **Casarett and Doull's Toxicology: The basic Science of poisons.** 6th edn. McGraw-Hill Medical publishing division. Pp. 812-841.
129. Klepac, R. (1980): **Osnovi ekologije.** Jugoslovenska medicinska naklada, Ljubljana.
130. Komolafe, B.M., Ogundare, A.O., Adebolu, T.T. (2013): **Therapeutic and Immunomodulatory Effects of Raw Maize "OGI" on Rats Infected with *Escherichia coli* O157:H7.** *Journal of Life Sciences*, Vol.7, No.6, pp. 570-576.
131. Koprivica, M. (2001): **Statistički uzorci**, skripta, Beograd.
132. Korhonen, T.K., Valtonen, M.V., Parkkinen, J., Väisänen-Rhen, V., Finne, J., Orsakov, F., Orsakov, I., Svenson, S.B., Mäkelä, P.H. (1985): **Serotypes, Hemolysin Production, and Receptor Recognition of *Escherichia coli* Strains Associated with Neonatal Sepsis and Meningitis.** *Infection and Immunity*, p. 486-491.
133. Kosumi, T., Usui, N., Kubota, A., Hoki, H., Yamauchi, K., Nogami, T., Ohyanagi, H., Yonekura, T., Hirooka, S., Kakinoki, S., Kaetu, I. (2001): **Application of a drug delivery system in a novel rats model of hronic hyperendotoxemia.** *Pediatr. Surg. Int.*, 17, 4: 321-325.
134. Kranz, B.D. *et al.* (2004): **The behavior and routes of lead exposure in pregrasping infants.** *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 14: 300-311.
135. Lachin, T., Reza, H. (2012): **Anti Diabetic Effect of Cherries in Alloxan Induced Diabetic Rats.** *Recent Patents on Endocrine, Metabolic i Immune Drug Discovery*, Vol.6, No.1, 67-72.
136. Lagerkvist, B.J., Landberg, S., Fred, W. *et al.* (1996): **Is placenta a good indicator of cadmium and lead exposure.** *Arch Environ Health*, 51, 5, 389-394.
137. Larkin, J.G., Frier, B.M., Ireland, J.T. (1985): **Diabetes mellitus and infection.** *Journal of Postgraduate Medicine*, 6: 233-237.
138. Lee, L., Turner, L., Goldberg, B. (1998): **The enzyme cure: How plant enzymes can help you relieve 36 health problem.** In Adams, M. (2005): **How to half diabetes in 25 days, Nutritional transformation for type-2 diabetics.** Truth Publishing International, Ltd.
139. Lenzen, S. (2008): **The Mechanisms of Aloksan- and Streptozotocin-induced Diabetes.** *Diabetologia* 51 (2): 216–226. PMID 18087688.
140. Lenzen, S., Panten, U. (1988): **Aloksan: history and mechanism of action.** *Diabetologia*, 31(6), 337 – 42.
141. Lewicka, A., Lewicki, S., Zdanowski, R., Rutkowski, P., Turkowska, M., Klos, A., Bertrandt, J. (2012): **The effect of vitamin B<sub>6</sub> supplementation of protein deficiency diet of rats subjected/non subjected to physical exertion – a pilot study.** *Central European Journal of Immunology*, 37 (3): 187-192.
142. Liberati, T.A., Sansone, S.R., Feuston, M.H. (2004): **Hematology and clinical chemistry values in pregnant Wistar Hannover rats compared with nonmated controls.** *Vet Clin Pathol*, 33, 22, 68-72.
143. Lidsky TI, Schneider JS. (2003): **Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates.** *Oxford Journal, Medicine, Brain*; Vol. 126, Iss. 1, 5–19, Oxford.
144. Lindstrom, N.M., Moore, D.M., Zimmerman, K., Smith, S.A. (2015): **Hematologic Assessment in Pet Rats, Mice, Hamsters, and Gerbils. Blood Sample Collection and Blood Cell Identification.** *Clin. Lab. Med.* 35, 629-640.
145. Lucchesi, A.N., Cassettari, L.L., Spadella, C.T. (2015): **Aloksan-Induced Diabetes Causes Morphological and Ultrastructural Changes in Rat Liver that Resemble the Natural History of Chronic Fatty Liver Disease in Humans.** Hindawi Publishing Corporation, *Journal of Diabetes Research*, Vol 2015, Article ID 494578, 11 pages.
146. Lucchesi, A.N., de Freitas, N.T., Cassettari, L.L., Marques, S.F.G., Spadella, C.T. (2013): **Diabetes mellitus triggers oxidative stress in the liver of aloksan-treated**

- rats: a mechanisms for diabetic chronic liver disease.** Acta Cirurgica Brasileira, Vol.28 (7), 502-508.
147. Lukač, J. (2004): **Klinička imunologija.** Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
148. Maddocks, O.D.K., Scanlon, K.M., Donnenberg, M.S. (2013): **An *Escherichia coli* Effector Protein Promotes Host Mutation via Depletion of DNA Mismatch Repair Proteins.** Mbio.asm.org., Vol.4, Iss.3, e00152-13, 1-8.
149. Makinwa, T.T., Adiele, H., Oyebiyi, O.O., Alabi, T.D., Sodeinde, K.O. (2013): **Effects of NaCl and ime water on the Hypoglycemic and Antioxidant activities of *Ocimum gratissimum* in Alloxan-induced Diabetic rats.** IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences, Vol.8, Issue 3, PP 01-05.
150. Mamikutty, N., Thent, Z.C., Sapri, S.R., Sahrudin, N.N., Mohd Yusof, M.R., Haji Suhaimi, F. (2014): **The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats.** BioMed Research International, vol. 2014, Article ID 263897, 8 pages, doi:10.1155/2014/263897.
151. Mannem, P. (2014): **Lead toxicity von hematological changes and amelioration with ginger (*Zingiber officinale*) extract in male albino rats.** International Journal of Advanced Research, 23-28.
152. Manojlović, M. (2011): **Uticaj olova na potomstvo kod primigravidnih Wistar pacova.** Magistarski rad. Univerzitet u Banjoj Luci.
153. Mansi, K.M.S. (2006): **Effects of Administration of Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone ( $\alpha$ -MSH) on Some Hematological Values of Alloxan-induced Diabetic Rats.** American Journal of Pharmacology and Toxicology 1 (1): 5-10.
154. Marić, D., Simonović, I. (2006): **Uparedna fiziologija životinja.** Skripta za studente biologije. Prirodno-matematički fakultet, Univerziteta u Novom Sadu.
155. Martindale, J., Stroud, D., Moxon, E. R., Tang, C. M. (2000): **Genetic analysis of *Echericha coli* K1 gastrointestinal colonization.** Molecular Microbiology 37(6), 1293-1305.
156. Matavulj, M. (2004): **Tkiva.** Skripta za studente ekologije. Prirodno-matematički fakultet, Departman za biologiju i ekologiju, Novi Sad.
157. Mebius, R.E., Kraal, G. (2005): **Structure and the Function of the Spleen.** Nature Reviews, Immunology, Vol.5, 606-616.
158. Mhammad, H.A., Jubrail, A.M.S., Najeeb, M.K. (2015): **Impact of Cinnamon Extract on Hyperlipidemic and Diabetic Rats.** International Journal of Chemical and Biomolecular Science, Vol.1, No.3, pp 96-106.
159. Modrall, J., Pokras, M. (2010): **Lead Poisoning: The Lessons of the Birds of Esperance.** Animal Welfare Insitute Quarterly, Vol. 59, Num. 4, 10-13, Washington DC.
160. Moore, D. M. (2000): **Rats and Mice: Biology.** Laboratory Animal Medicine and Science Series II, Health Sciences Center for Educational Resources, University of Washington, Seattle, USA.
161. Moore, D. M. (2000): **Rats and Mice: Biology.** Laboratory Animal Medicine and Science Series II, Health Sciences Center for Educational Resources, University of Washington, Seattle, USA.
162. Moriyama, T., Tsujioka, S., Ohira, T., Nonaka, S., Ikeda, H., Sugiura, H., Tomohiro, M., Samura, K., Nishikibe, M. (2008): **Effects of reduced food intake on toxicity study parameters in rats.** The Journal of Toxicological Sciences, Vol.33, No.5, 537-547.
163. Mornjaković Z., Kadić, M., Šuško, I. (2000): **Uticaj olova na neke reproduktivne odlike i potomstvo kod primigravidnih Wistar pacova.** Veterinaria 49, Veterinarski fakultet, Sarajevo, 3 - 4, 333 – 341.
164. Mornjaković, Z. (1994): **Uticaj olovnog acetata na neke kvalitativne i kvantitativne karakteristike mamarnih mastocita kod primigravidnih pacova.** Med. Arch. 48 (1 - 2), 13 – 16.

165. Mornjaković, Z., Nešić, L.J., Kadić, M. (1995): **Uticaj olovnog acetata na neke kvalitativne i kvantitativne karakteristike mamarnih mastocita kod pacova dojilja.** Medicinski arhiv, 49 (3 - 4), 71 – 74.
166. Mortada, W.I., Sobh, M.A., El-Defrawy, M.M., Farahat, S.E. (2001): **Study of lead exposure from automobile exhaust as a risk for nephrotoxicity among traffic policemen.** American Journal of Nephrology; 21: 274–9.
167. Moss, M., Guidot, D.M., Steinberg, K.P., Duhon, G.F., Treece, P., Wolken, R, et al. (2000): **Diabetic patients have a decreased incidence of acute respiratory distress syndrome.** Crit Care Med.;28:2187–92. In Crespilho, D.M., de Almeida Leme, J.A.C., de Mello, M.A.R., Luciano, E. (2010): **Effects of physical training on the immune system in diabetic rats.** International Journal of Diabetes in Developing Countries, 30(1), 33–37.
168. Mrozikiewicz A, Kiełczewska-Mrozikiewicz D, Lowicki Z, Chmara E, Korzeniowska K, Mrozikiewicz PM. (1994): **Blood levels of aloksan in children with insulin-dependent diabetes mellitus.** Acta Diabetol. 1994 Dec;31(4):236-7.
169. Mučibabić, S., Berberović, Lj. (1980): **Ekologija, evolucija.** Udžbenik za III razred Gimnazije, VIII izdanje, IGKRO “Svjetlost”, OOUR – Zavod za udžbenike, Sarajevo.
170. Mude, R.N., Somesula, S.R., Adi, P.J., Matcha, B. (2012): **Diabetic regulation through blood constituents modulations on treatment with *Aloe vera* in aloksan induced diabetic rats.** Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, Vol.7, No2, p.649-655.
171. Muhammad, N.O., Akolade, J.O., Usman, L.A., Oloyede, O.B. (2012): **Haematological parameters of Aloksan-induced diabetic rats treated with leaf essentials oil of *Hoslundia opposita* (Vahl).** EXCLI Journal 2012;11:670-676 – ISSN 1611-2156.
172. Mulla, M.S.A., Goyal, V.K., Jana, S., Nirogi, R. (2010): **Safety Evaluation of Sibutramine in Wistar Rats.** African J. of Basic i Appl. Sci., 2 (5-6): 128-134.
173. Nataro, J.P., Kaper, J.B. (1998): **Diarrheogenic *Escherichia coli*.** Clinical Microbiology Reviews, Vol. 11, No. 1, pp 142-201.
174. Neathery, M.W., Miller, W.J. (1975): **Metabolism and Toxicity of Cadmium, Mercury and Lead in Animals: A Review.** Journal of Dairy Science, Vol. 58, Issue 12, Pages 1676-1781.
175. Ngeleka, M., Martineau-Doize, B., Fairbrother, J.M. (1993): **Septicemia-Inducing *Escherichia coli* O115:K“V165“F1651 Resists Killing by Porcine Polymorphonuclear Leukocytes In Vitro: Role of F1651 Fimbriae and K“V165“ O-Antigen Capsule.** Infection and Immunity, p. 398-404.
176. Nikolić, R.S., Jovanović, J.M., Kocić, G.M., Cvetković, T.P., Stojanović, S.R., Anđelković, T.D., Krstić, N.S. (2011): **Praćenje efekata izloženosti olovu i kadmijumu u radnoj i životnoj sredini preko parametara standardne biohemijske analize krvi i aktivnosti endonukleaza jetre.** Hem. ind. 65(4) 403-409.
177. Noori Mugahi, M.H., Heidari, Z., Sagheb, H.M., Barbarestani, M. (2003): **Effects of chronic lead acetate intoxication on blood indices of male adult rat.** DARU Vol. 11, No.4, 147-151.
178. Nriagu, J. (1992): **Contamination of the atmosphere with toxic metals, in: Verry, E.S., Vermette, S.J. (eds) “The Deposition and Fate of Trace Metals in Our Environment”,** General Technical Report, NC-150, St. Paul, Mn. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, North-Central Experimental Station, 171.
179. Nriagu, J.O., Pacyna, J.M. (1988): **Nature 333,** 134-139.
180. Nwokocha, C.R., Nwangwa, E.K., Udekweleze, D.C. (2011): **The detoxification of lead poisoning by *Garcinia kola* in albino Wistar rats.** Continental J. Biomedical Sciences 5 (1): 32-36.
181. Obidike, I.R., Ezema, W.S., Aka, L.O., Udem, S.C., Onah, G.C. (2010): **Leukocytic response and spleen morphology of albino rats exposed to graded levels of lead acetate.** Macedonian Journal of Medical Sciences, 3 (4): 339-343.

182. Obradović, S., Đekić, V. (2008): **Ekološki menadžment teških metala u agroekosistemu.** Međunarodna naučna konferencija MENADŽMENT 2012, Mladenovac, Srbija, 509-515.
183. Odukoya, A.M., Abimbola, A.F. (2010): **Contamination assessment of surface and groundwater within and around two dumpsites.** Int. J. Environ. Sci. Tech., 7 (2), 367-376.
184. Ogundare, A.O., Onifade, A.K. (2009): **The antimicrobial activity of *Morinda lucida* leaf extract on *Escherichia coli*.** Journal of Medicinal Plants Research Vol. 3(4), pp 319-323.
185. Okediran, B.S., Ajibola, E.S., Thomas, F.C., Abam, O.E., Biobaku, K.T., Olaniyi, M.O., Rahaman, S. (2010): **Investigation on Subchronic Lead Intoxication on Blood Indices of Male Rats.** Global Veterinaria 4 (5), 532-535.
186. Oladejo, B.O. and Adebolu, T.T. (2013): **Mechanisms of immunity to *Escherichia coli* O157:H7 in albino rats: role of homologous antibodies.** European Journal of Biology and Medicine Science Research, Vol.1, No.2, 31-39.
187. Oladunmoye, M.K. (2006): **Immunostimulatory Activity of Ethanolic Leaf Extract from *Ocimum gratissimum* in Albino Rat Orogastrically Dosed with *Escherichia coli* (NCIB 86),** Journal of Pharmacology 1 (4) 389-394.
188. Olchowik, G., Widomska, J., Tomaszewski, M., Gospodarek, M., Tomaszewska, M., Jagiello-Wójtowicz, E. (2014): **The influence of lead on the biomechanical properties of bone tissue in rats.** Annals of Agricultural and Environmental Medicine, Vol.21, No.2, 278-281.
189. Oliveira-Junior, I.S., Brunialti, M.K.C., Koh, I.H.J., Junqueira, V.B.C., Salomao, R. (2006): **Effect of pentoxifylline on lung inflammation and gas exchange in a sepsis-induced acute lung injury model.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 39: 1455-1463.
190. Olurische, C.O., Salawu, O.A., Zezi, A.U., Olurische, T.O., Bisalla, M. (2013): **Metformin-Cefixime Co-administration affects Glucose Regulation and Renopancreatic Histology in Aloxan-induced Hyperglycemic Rats.** Journal of PharmaSciTech, Vol.3 (Issue 1), 43-50.
191. Onwuli, D.O., Brown, H., Ozoani, H.A. (2014): **Antihyperglycaemic Effect of *Tetracarpidium conophorum* Nuts in Aloxan Induced Diabetic Female Albino Rats.** Hindawi Publishing Corporation, ISRN Endocrinology, Volume 2014, Article ID 124974, 4 pages.
192. Onyeanus, B.I., Adeniyi, A.A., Onyeanus, C.G., Ayo, J.O., Ibe, C.S. (2009): **A Study on the Kidney of the Wistar Rat in Northern Guinea Savannah Zone: the Morphometrical Aspect,** Pakistan Journal of Nutrition 8 (7): 1040-1042.
193. Orsakov, I., Orsakov, F. (1985): ***Escherichia coli* in extra-intestinal infection.** J. Hyg. Camb., 95, 551-575.
194. Othman, A. Al Sagair, Ezzat S. El Daly, Ahmed A. Mousa (2006): **Influence of Bacterial Endotoxins on Bone Marrow and Blood Components in Rats.** Saudi Journal of Biological Sciences 13 (2) 163-177.
195. Othman, A.I., Al Sharawy, S., El-Missiry, M.A. (2004): **Role of melatonin in ameliorating lead induced haematotoxicity.** Pharmacological Research 50, 301-307.
196. Oyeyemi, M.O., Adeniji, D.A. (2009): **Morphological Characteristics and Haematological Studies in Wistar Rats Subjected to Prolonged Treatment of Chloramphenicol.** Int. J. Morphol., 27(1): 7-11.
197. Pacheco, P., Bozza, F.A., Gomes, R.N., Bozza, M., Weller, P.F., Castro-Faria-Neto, H.C., Bozza, P. (2002): **Lipopolysaccharide-Induced Leukocyte Lipid Body Formation In Vivo: Innate Immunity Elicited Intracellular Loci Involved in Eicosanoid Metabolism.** The Journal of Immunology 169: 6498-6506.
198. Pacyna, J.M., Pacyna, E.G. (2001): **An assessment of global and regional emissions of trace metals to the**
199. Pallant, J. (2007): **SPSS: Priručnik za preživljavanje.** Mikro knjiga, Beograd.

200. Papović, R., Luković, Lj., Novaković I., Stanić, M., Bunjevački V., Cvjetićanin, S., Stojković, O. (2008): **Humana genetika**. Autorizovana skripta za studente. Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, 165-176.
201. Pearson, J.M., Schulze, A.E., Jean, P.A., Roth, R.A. (1995): **Platelet partipation in liver injury from gram-negative bacterial lipolysaccharide in the rat**. Shock, 4, 3: 178-186.
202. Pecora, L. J., Highman, B. (1956): **Organ weights and histology of chronically thiamine-deficient rats and their pair-fed controls**. The journal of nutrition, 51(2), 219-230.
203. Petković, D.Ž. (2013): **Uticaj ibuprofena, acetilsalicilne kiseline i vitamina C na osmotsku otpornost eritrocita pacova**. Master rad, Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za biologiju i ekologiju.
204. Piao, Y., Liu, Y., Xie, X. (2013): **Change Trends of Organ Weight Background Data in Sprague Dawley Rats at Different Ages**. J Toxicol Pathol; 26:29–34.
205. Plos, K., Conneli, H., Jodal, U., Marklund, B., Maild, S., Wettergren, B. (1995): **Intestinal carriage of P fimbried *Escherichia coli* and the susceptibility to urinary tract infection in young children**. J.Infect. Immun. 39: 599-699.
206. Prichett, K.R., Corning, B.F. (2004): **Biology and Medicine of Rats**. Laboratory Animal Medicine and Management, Reuter JD and Suckow MA (Eds.), International Veterinary Information Service, Ithaca NY.
207. Radović, I, Petrov, B. (1999): **Raznovrsnost života I, Struktura i funkcija**. Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, 295.
208. Research Animal Recources: **Reference Values for Laboratory Animals**. University of Minesota, <http://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html>.
209. Robitaille P, Gonthier M, Grignon A, Russo P. (1997): **Pancreatic injury in the hemolytic-uremic syndrome**. Pediatr Nephrol. 1997;11:631–2.
210. Rohilla, A., Ali, S. (2012): **Aloksan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects**. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences, Vol.3 (2), 819-823.
211. Rolo, A. P., Palmeira, C. M. (2006): **Diabetes and mitochondrial function: Role of hiperglycemia and oxidative stress**. Toxicology and Applied Pharmacology, 212, 167 – 168.
212. Rüllicke, T., Haenggli, A., Rappold, K., Moehrlen, U., Stallmach, T. (2006): **No transuterine migration of fertilised ova after unilateral embryo transfer in mice**. Reproduction, Fertility and Development, 18 (8), 885-891, CSIRO Publishing, Australia.
213. Rusov, Č. (1984): **Osnovi hematologije životinja**. Naučna knjiga, Beograd.
214. Saba, A.B., Oyagbemi, A.A., Azeez, O.I. (2010): **Antidiabetic and haematinic effects of *Parquetina nigrescens* on aloksan induced type-1 diabetes and normocystic normochromic anemia in Wistar rats**. African Health Sciences, Vol 10, No 3, Sept., 276-282.
215. Saber, H., Barai, L., Haq, J.A., Jilani, S.A., Begum, J. (2010): **The Pattern of Organism Causing Urinary Infection in Diabetic and Non Diabetic Patients in Bangladesh**. Bangladesh J. Med. Microbiol., 04 (01): 6-8.
216. Sainath, S.B., Meena, R., Supriya, Ch., Reddy, K.P., Reddy, P.S. (2011): **Protective role of *Centella asiatica* on lead-induced oxidative stress and suppressed reproductive health in male rats**. Environ. Toxicol. Pharmacol.; 32:146-154.
217. Salawu, E.O., Adeleke, A.A., Oyewo, O.O., Ashamu, E.A., Ishola, O.O., Afolabi, A.O., Adesanya, T.A. (2009): **Prevention of renal toxicity from lead exposure by oral administration of *Lycopersicon esculentum***. Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences, Vol. 1 (2), pp. 022-027.
218. Sarff, L.D., McCracken, J.R., Schiffer, M.S., Glode, M.P., Robbins, J.B., Orsakov, I., Orsakov, F. (1975): **Epidemiology of *Escherichia coli* K1 in healthy and diseased newborns**. Lancet I: 1099-1104.



219. Sarma, G., Das, S. (2008): **Hypoglycemic Action of Seed Kernel of *Caesalpinia bonducella* Fleming in Normal and Alloxan- Induced Diabetic Albino Rats.** The Internet Journal of Pharmacology, Vol.6, Number 2.
220. Seddik, L., Bah, T.M., Aoues, A., Benderdour, M., Slimani, M. (2010): **Dried Leaf Extract Protects against Lead-Induced Neurotoxicity in Wistar Rats.** European Journal of Scientific Research, pp.139-151.
221. Seidel, A.C., Fagundes, D.J., Bazotte, R.B., Novo, N.F., Juliano, Y., Meister, H. (2003): **Effect of lung resection and sham surgery on the frequency of infection in aloksan-diabetic rats.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 36: 287-290.
222. Sekulić, P., Kastori, R., Hadžić, V. (2003): **Zaštita zemljišta od degradacije.** Naučni institut za ratarstvo i povrtlarstvo, Novi Sad.
223. Sengar, R.S., Gautam, M., Sengar, R.S., Garg, S.K., Sengar, K., Chaudhary, R. (2008): **Lead stress effects on physiobiochemical activities of higher plants.** Rev. Environ.Contam. Toxicol., 196: 73-93.
224. Sengupta, R., Dolui, A.K: (2012): **Antihyperglycemic effect of different solvent extracts of leaves of *Cajanus cajan* HPLC profile of the active extracts.** Asian J. Pharm. Cli. Res., Vol. 5, Issue 2, 116-119.
225. Shahandeh, M., Roshan, V.D., Hosseinzadeh, S., Mahjoub, S., Sarkisian, V. (2013): **Chronic exercise training versus acute endurance exercise in reducing neurotoxicity in rats exposed to lead acetate.** Neural Regeneration Research, Vol.8, Iss.8, pp 714-722.
226. Sharma, B.D., Bansal, R., Gupta, B. (2011): **Asymptomatic bacteriuria in diabetics.** JIACM, 13 (1): 55-59.
227. Sharp, P., Villano, J. (2013): **The Laboratory Rat, Second Edition.** CRC Press, New York, 7-25.
228. Silbergeld, E.K. (1983): **Effect of lead on reproduction.** Review of experimental studies. Lead versus health. Ed. M. Rutter and K. Russel Jones, John Wiley and sons LTD. 217-227.
229. Silbergeld, E.K. (1986): **Maternally mediated exposure of the fetus:In utero exposure to lead and other toxins.** Neurotoxicology, 7, 557-568.
230. Simić, D. (1988): **Mikrobiologija I.** Naučna knjiga, Beograd.
231. Simsek, N., Karadeniz, A., Kalkan, Y., Keles, O.N., Unal, B. (2009): **Spirulina platensis feeding inhibited the anemia-and leucopenia-induced lead and cadmium in rats.** Journal of hazardous materials 164 (2), 1304-1309.
232. Smedegård, G., Cui, L., Hugli, T.E. (1989): **Endotoxin-Induced Shock in the Rat. A Role for C5a.** American Journal of Pathology, Vol. 135, No. 3, 489-497.
233. Soodi, M., Naghdi, N., Sharifzadeh, M., Ostad, S.N., Abdollahi, M. (2008): **Effect of Lead (Pb<sup>2+</sup>) Exposure in Female Pregnant Rats and Their Offspring on Spatial Learning and Memory in Morris Water Maze.** Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 7 (1), 43-51.
234. Šorić, Vitko (1997): **Morfologija i sistematika hordata.** Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac.
235. Steenland K, Boffetta P. (2000): **Lead and cancer in humans: where are we now?** American Journal of Industrial Medicine; 38: 295–9.
236. Stojić, R.V. (2004): **Veterinarska fiziologija.** Naučna knjiga, Beograd.
237. Strömberg, U. *et al.* (2003): **Yearly measurements on blood lead in Swedish children since 1978: an update focusing on the petrol lead free period 1995 – 2001.** Occupational and Environmental Medicine 60: 370-372.
238. Sudip, D., Stafford, R. , Deb Roy, M.K., Bhattacharjee, C.R., Khathing, D.T., Bhattacharjee, P.C., Dkhar, P.S. (1999): **Metal toxicity and trace element deficiency in some wild animal species from north-east India, as revealed by cellular, bio-inorganic and behavioural studies.** Current Science, Vol.77, Num. 2, 276-280, Bangalore, India.

239. Suradkar, S.G., Ghodasara, D.J., Vihol, P., Patel, J., Jaiswal, V., Prajapati, K.S. (2009): **Haemato-Biochemical Alterations induced by lead acetate toxicity in Wistar Rats.** Veterinary World Vol.2, No.11, 429-431.
240. Suri, R.S., Clark, W.F., Barrowman, N., Mahon, J.L., Thiessen-Philbrook, H.R., Rosas-Arellano, M.P. et al. (2005): **Diabetes during diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome: A systematic review and meta-analysis.** Diabetes Care. 28:2556–62.
241. Suri, R.S., Mahon, J.L., Clark, W.F., Moist, L.M., Salvadori, M., Garg, A.X. (2009): **Relationship between *Escherichia coli* O157:H7 and diabetes mellitus.** US National Library of Medicine, National Institutes of Health, Kidney Int Suppl. Feb;(112):S44-6.
242. Sussman, M. (1997): ***Escherichia coli* Mechanisms of virulence.** Cambridge University Press, Cambridge (<http://www.cambridge.org>).
243. Szkudelski, T. (2001): **The Mechanism of Aloksan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas.** Physiol. Res. 50: 536-546.
244. Tasdemir, C., Tasdemir, S., Vardi, N., Ates, B., Onal, Y., Erdogan, S., Yucel, A., Aglamis, E., Yakupogullari, Y., Altintas, R., Karaman, A. (2013): **Evaluation of the effects of ozone therapy on *Escherichia coli*-induced cystitis in rat.** Ir. J. Med. Sci. 182(4):557-563.
245. Taylor, C.M., White, R.H., Winterborn, M.H., Rowe, B. (1986): **Haemolytic-uraemic syndrome: Clinical experience of an outbreak in the West Midlands.** Br Med J (Clin Res Ed);292:1513–6.
246. Tedeschi, S. (1990): **Surface and groundwater use in the urban area of Zagreb.** Hydrological Processes and Water Management in Urban Areas (Proceedings of the Duisberg Symposium, April 1988), IAHS Publ. no. 198.
247. Tenjović, L. (2000): **Statistika u psihologiji.** priručnik, Beograd.
248. Thrall, M.A., Weiser, G., Allison, R., Campbell, T.W. (2012): **Mammalian hematology: laboratory animals and miscellaneous species.** In: Campbell TW, editor. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry.* Malden, Mass, USA: Blackwell Publishing; pp. 225–237.
249. Todd, A.C., Wetmur, J.G., Moline, J.M. et al. (1996): **Unraveling the chronic toxicity of lead-an essential priority for environmental health.** Environ Health Perspect, 141-146.
250. Tong, S., von Schirnding, Y.E., Prapamontol, T. (2000): **Environmental lead exposure: a public health problem of global dimensions.** Review, Bull World Health Organisation, 78: 1068–77.
251. Truhaut, R. (1977): **Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives.** Ecotoxicology and Environmental Safety 1: 157-173.
252. Tsaih, S.-W., Korrick, S., Schwartz, J., Amarasiriwardena, C., Aro, A., Sparrow, D., Hu, H. (2004): **Lead, Diabetes, Hypertension, and Renal Function: The Normative Aging Study.** Environmental Health Perspectives, Vol.112, No.11, 1178-1182.
253. Tsukada, K., Katoh, H., Shiojima, M., Suzuki, T., Takenoshita, S., Nagamachi, Y. (1993): **Increased plasma endothelin-1 concentrations in *E.coli* septic peritonitis rats with diabetes mellitus.** Exp Clin Endocrinol.;101:315–8. [PubMed: 8299709]
254. Tyrberg, B.; Andersson, A.; Borg, L.A. (2001): **Species Differences in Susceptibility of Transplanted and Cultured Pancreatic Islets to the  $\beta$ -Cell Toxin Aloksan.** General and Comparative Endocrinology 122 (3): 238–251. doi:10.1006/gen.2001.7638. PMID 11356036.
255. Udenze, E.C.C., Ezirim, A.U., Ihedimbu, C.P., Itheme, C.I. (2014): **Effects of Oral Administration of *Garcinia kola* Seeds on Haematological and Defence Parameters of Diabetic Rats.** American Journal of Biochemistry and Molecular Biology 4(4): 167-175.
256. Uduak, U., Timbuak, T.A., Musa, S.A., Hamman, W.O., Asala, S., Hambolu, J., Anuka, J.A. (2013): **Chronic Hepatotoxicity and Nephrotoxicity Study of Oral Administered**

- Aqueous and Ethanolic Extracts of *Carica papaya* Seeds in Adult Wistar Rats.** British Journal of Pharmacology and Toxicology 4(4): 147-154.
257. van Lambalgen, A.A., Rasker M.T., van den Bos, G.C., Thijs, L.G. (1988): **Effects of endotoxemia on systemic plasma loss and hematocrit in rats.** Microvasc. Res,36, 3: 291-304.
258. Veracity, D. (2005): **White flour contains diabetes-causing contaminant alloxan.** <http://www.naturalnews.com/008191.html>.
259. Vincent, A. M., Russell, J.W., Lowm F., Feldman, E. L. (2004): **Oxidative stress and diabetic neuropathy.** Endocrine reviews, 25 (4), 612-628.
260. Vuković, N., Vukmirović, D., Radojčić, Z. (1999): **SPSS Praktikum**, Univerzitet u Beogradu, Fakultet organizacionih nauka, Laboratorija za statistiku, Beograd.
261. Wandall, D.A., Arpi, M., Wandall, J.H. (1997): **A rat model of non-lethal bacterial infection.** APMIS 105:187-191.
262. Wang, J., Zhu, H., Yang, Z., Liu, Z. (2013): **Antioxidative effects of hesperetin against lead acetate-induced oxidative stress in rats.** Indian J. Pharmacol., 45(4): 395-398.
263. Wang, M.-Z., Jia, X.-Y. (2009): **Low levels of lead exposure induce oxidative damage and DNA damage in the testes of the frog *Rana nigromaculata*.** Ecotoxicology, 18:94-99.
264. WHO. (1995): **Lead. Environmental Health Criteria**, vol. 165. World Health Organization, Geneva.
265. Wiwanitkit, V. (2011): **Outbreak of *Escherichia coli* and diabetes mellitus.** Indian Journal of Endocrinology and Metabolism. July; 15(Suppl1): S70-S71.
266. Wright, S.W., Wrenn, K.D., Hayns, M., Haas, D.W. (2000): **Prevalence and risk factors for multidrug resistant uropathogens in ED patients.** Am. J. Emerg. Med., 18: 143-146.
267. Xiao, L. (2003): **Oxidative Stress and Diabetes.** Free Radical and Radiation Biology program. The University of Iowa, Iowa City, IA, USA.
268. Yabe, J., Ishizuka, M., Umemura, T. (2010): **Current Levels of Heavy Metal Pollution in Africa.** J Vet Med Sci 72:1257-1263.
269. Yabe, J., Nakayama, S.M.M., Ikenaka, Y., Muzandu, K., Ishizuka, M., Umemura, T. (2011): **Uptake of lead, cadmium, and other metals in the liver and kidneys of cattle near a lead-zinc mine in Kabwe, Zambia.** Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 30, No. 8, pp. 1892-1897.
270. Yamano, T., Shimizu, M, Noda, T. (1998): **Comparative Effects of Repeated Administration of Cadmium on Kidney, Spleen, Thymus, and Bone Marrow in 2-, 4-, and 8-Month-Old Male Wistar Rats.** Toxicological Sciences 46, 393-402.
271. Yeh, L.T., Chuang, Y.P., Chen, S.J., Chu, C.C., Sytwu, H.K. (2014): **Diabetic Animal Models with Infectious Diseases: Focus on the Dysfunction of Immune System.** J. Diabetes Metab. Vol. 5, Issue 8 :417 doi: 10.4172/2155-6156.1000417.
272. Yoo, Y.M., Kim, K.M. Kim, S.S., Han, J.A., Lea, H.Z. (1999): **Hemoglobin Toxicity in Experimental Bacteria Peritonitis is Due to roduction of Reactive Oxygen Species.** Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, Vol.6, No.6, 938-945.
273. Živić, S., Vlaški, J., Kocić, G., Pešić, M., Ćirić, V., Đurić, Z. (2008): **Značaj oksidativnog stresa u nastanku dijabetesa tipa 1 – određivanje aktivnosti katalaze u limfocitima obolelih.** Med. Pregl.; LXI (9-10): 458-463, Novi Sad.
274. Zou, Y., Hernandez, F., Burgos, E., Martinez, L., Gonzalez-Reyes, S., Fernandez-Dumont, V., Lopez, G., Romero, M., Lopez-Santamaria, M., Tovar, J. A. (2006): **Organ changes and bacterial translocation in a rat model of chronic rejection after small bowel transplantation.** Transplant Proc. 38(5):1569-72.
275. Zulfiker, A.H.Md., Ripa, F.A., Rahman, Md.M., Ullah, M.O., Hamid, K., Khan, Md.M.R., Rana, Md.S. (2010): **Antidiabetic and Antioxidant Effect of *Scoparia dulcis***

**in Aloksan induced Albino Mice.** Inteenational Journal of PharmTech Research, Vol.2, No.4, pp 2527-2534.

Slike:

*Sl. 1. Olovo* (<https://en.wikipedia.org/wiki/Lead>)

[https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e6/Lead\\_electrolytic\\_and\\_1cm3\\_cube.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/e6/Lead_electrolytic_and_1cm3_cube.jpg)

*Sl. 2. Aloksan (C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)* (<http://www.wikiwand.com/en/Aloksan>)

*Sl. 3. Escherichia coli* ([Rice University/Photos.com](http://Rice_University/Photos.com))

(<http://cdn.phys.org/newman/gfx/news/hires/2013/minusenviron.jpg>)

*Sl. 4. Wistar pacov* ([http://www.biot.fm.usp.br/ilustracoes/Wistar\\_conv.jpg](http://www.biot.fm.usp.br/ilustracoes/Wistar_conv.jpg))

*Sl. 6. Šema urinarnog i genitalnog sistema mužjaka pacova, Sl. 7. Šema urinarnog i genitalnog sistema ženke pacova* Simmons, K. (2005): *Rat Reproductive System*. Retrieved December 17, 2008, dostupno na <http://io.uwinnipeg.ca/~simmons/16labman05/lb8pg8.htm>

*Sl. 9. Hematopoeza*

(<https://biologina.files.wordpress.com/2013/01/picture1.png>)

*Sl. 10. Kvarterna struktura Hb eritrocita sa prostetičkom grupom*

(<http://www.biologija.rs/eritrociti.html>)

## 7. PRILOG

Tabela br. 39 Prosječne vrijednosti organosomatskih indeksa i prirasta tjelesne mase

Grupa	Indeks u % (masa organa/masa tijela x100)						Prirast tjelesne mase u %	
	bubreg desni	bubreg lijevi	testis desni	testis lijevi	jetra	slezena		srce
K-O-24 ♂	0.30±0.02	0.30±0.02	0.77±0.11	0.79±0.16	3.07±0.11	0.18±0.03	0.32±0.03	18.26±3.47
K-O-24 ♀	0.30±0.02	0.30±0.02			2.91±0.32	0.24±0.02	0.31±0.02	17.58±7.10
K-O-72 ♂	0.29±0.01	0.29±0.01	0.60±0.12	0.63±0.12	3.09±0.24	0.18±0.01	0.33±0.02	18.94±5.80
K-O-72 ♀	0.29±0.03	0.30±0.04			2.95±0.17	0.22±0.01	0.34±0.02	20.10±9.03
K-E-24 ♂	0.32±0.04	0.31±0.04	0.70±0.06	0.72±0.05	3.27±0.30	0.20±0.02	0.34±0.02	15.22±2.92
K-E-24 ♀	0.30±0.01	0.29±0.01			3.16±0.36	0.26±0.03	0.36±0.02	16.44±3.67
K-E-72 ♂	0.29±0.00	0.29±0.01	0.71±0.05	0.74±0.06	3.04±0.13	0.23±0.01	0.33±0.04	16.40±9.31
K-E-72 ♀	0.30±0.02	0.30±0.01			3.24±0.31	0.23±0.03	0.33±0.02	16.03±7.24
Pb-0-24 ♂	0.39±0.02	0.39±0.04	0.66±0.16	0.69±0.15	3.15±0.26	0.23±0.03	0.32±0.01	8.38±3.74
Pb-0-24 ♀	0.41±0.08	0.42±0.09			3.25±0.56	0.25±0.04	0.35±0.02	8.95±4.58
Pb-0-72 ♂	0.39±0.04	0.39±0.05	0.72±0.30	0.79±0.27	3.21±0.22	0.22±0.03	0.34±0.02	8.28±3.50
Pb-0-72 ♀	0.51±0.14	0.50±0.14			4.13±0.40	0.35±0.07	0.37±0.05	8.69±2.48
Pb-E-24 ♂	0.38±0.04	0.39±0.05	0.76±0.09	0.78±0.09	3.49±0.35	0.24±0.05	0.36±0.02	8.34±4.25
Pb-E-24 ♀	0.40±0.05	0.41±0.05			3.68±0.51	0.24±0.01	0.36±0.03	8.22±1.52
Pb-E-72 ♂	0.40±0.06	0.40±0.04	0.87±0.09	0.89±0.12	3.31±0.16	0.19±0.03	0.37±0.01	7.16±1.57
Pb-E-72 ♀	0.33±0.04	0.35±0.03			3.25±0.13	0.22±0.03	0.32±0.03	7.12±2.68
All-O-24 ♂	0.36±0.06	0.35±0.05	0.72±0.04	0.74±0.05	3.59±0.38	0.22±0.02	0.36±0.04	-6.68±6.37
All-O-24 ♀	0.35±0.05	0.33±0.05			3.56±0.35	0.20±0.01	0.38±0.04	-5.92±4.96
All-O-72 ♂	0.47±0.07	0.45±0.04	0.88±0.12	0.88±0.15	3.43±0.74	0.25±0.08	0.42±0.08	-11.93±7.98
All-O-72 ♀	0.44±0.02	0.42±0.01			3.30±0.12	0.27±0.04	0.38±0.02	-8.69±4.61
All-E-24 ♂	0.36±0.03	0.37±0.03	0.68±0.06	0.73±0.08	2.88±0.44	0.23±0.03	0.37±0.03	-6.49±6.35
All-E-24 ♀	0.40±0.08	0.43±0.06			3.96±0.56	0.28±0.06	0.43±0.05	-6.35±3.89
All-E-72 ♂	0.42±0.11	0.41±0.13	0.91±0.25	0.92±0.24	2.94±0.58	0.27±0.04	0.40±0.09	-13.21±12.20
All-E-72 ♀	0.41±0.02	0.38±0.04			3.01±0.35	0.25±0.04	0.39±0.03	-10.63±7.17
All-Pb-O-24 ♂	0.59±0.03	0.57±0.03	0.65±0.04	0.63±0.07	3.88±0.15	0.28±0.03	0.48±0.01	-11.90±2.26
All-Pb-O-24 ♀	0.56±0.03	0.56±0.03			3.96±0.10	0.28±0.02	0.37±0.03	-14.29±1.14
All-Pb-O-72 ♂	0.58±0.02	0.58±0.01	0.67±0.06	0.66±0.06	3.95±0.08	0.28±0.01	0.47±0.02	-15.24±1.46
All-Pb-O-72 ♀	0.60±0.03	0.60±0.03			4.03±0.08	0.28±0.02	0.48±0.04	-14.93±1.95
All-Pb-E-24 ♂	0.63±0.03	0.61±0.03	0.73±0.07	0.76±0.07	3.97±0.21	0.23±0.02	0.40±0.06	-13.88±4.30
All-Pb-E-24 ♀	0.61±0.06	0.59±0.06			4.14±0.09	0.32±0.03	0.42±0.04	-14.74±3.65
All-Pb-E-72 ♂	0.64±0.07	0.64±0.07	0.89±0.08	0.92±0.08	4.36±0.19	0.29±0.04	0.43±0.07	-18.59±4.22
All-Pb-E-72 ♀	0.68±0.01	0.67±0.03			4.37±0.16	0.30±0.01	0.40±0.03	-15.02±3.35

\*Prikazane su srednje vrijednosti ± standardna devijacija

Tabela br. 40 Pregled literaturnih vrijednosti eritrograma netretiranih Wistar pacova

	<b>E</b> x10 <sup>12</sup>	<b>Hb</b> (g/l)	<b>Hct</b> (%)	<b>MCV</b> (fl)	<b>MCH</b> (pg)	<b>MCHC</b> (g/l E)	
<b>Sharp i Villano (2013)</b>	5-10	110-190	35-57	46-65	18-23	310-400	
<b>Thrall et al. (2012)</b>	6.6-9.0	132-164	41.1-51.1	52.6-65.4	16.5-21.3	302-346	
<b>Davidović et al. (2007*; 2010**)</b>	7.91±0.48*	127.71±8.12* 143±10**	36.89±2.19* 37-49**				
<b>Brkić et al. (2011)</b>	6.72-9.37	128-168♂ 135-162♀	39.5-50.4♂ 40.0-49.6♀			314-340♂ 321-349♀	
<b>Hiellyer i Quesenberry (1997)</b>	5.4-8.5	115-160	35-51	57-65	15-22	300-350	
<b>Gikins i Clifford (2008)</b>		110-192	36-54	48-70		400	
<b>Charles River Laboratories (1998)</b>	5.79-9.72♀ 6.20-8.78♂	122-180♀ 129-193♂	32-48♀ 34-44♂	47-59♀ 49-57♂	17-21♀ 18-23♂	330-410♀ 340-450♂	
<b>Antai et al. (2009)</b>	4.44±0.15	140.6±13.0	33.6±0.15	76.04±3.58	31.8±1.28	419±7.10	
<b>Prichet i Corning (2004)</b>	5.4-8.5		37-49%				
<b>Moore (2000)</b>	7.25±0.93♂ 6.85±0.61♀	143±10					
<b>Oyeyemi et al. (2009)</b>	11.43±1.95		31.6±4.35				
<b>Lewicka et al. (2012)</b>	8.2±0.2	125.7±1.7	35.9±0.7	43.6±0.5	15.3±0.3	350.9±5.2	
<b>Kampfmann et al. (2012)</b>	♀	7.8-9.0*	141.8-162.7*	-*	48-57*	18-19*	338.4-359.3*
		8.5-10.1**	146.6-166.0**	41-49**	46-52**	16-19**	338.4-359.3**
	♂	8.2-9.5*	146.6-166.0*	42-48*	48-54*	16-19*	340.0-360.9*
		8.4-10.1**	145.0-167.7**	42-48	46-52**	16-17**	338.4-357.7**

Tabela br. 41 Prosječne vrijednosti eritrograma kontrolnih i testnih jedinki

Grupa	Eritrogram					
	E (*10 <sup>12</sup> /l)	Hb (g/l)	Hct (l/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/l E)
K-0-24 ♂	7.51±0.48	135.56±17.49	0.329±0.063	43.55±6.28	18.00±1.58	417.13±38.33
K-0-24 ♀	8.02±0.56	125.93±11.42	0.298±0.036	37.36±5.03	15.74±1.60	423.28±24.18
K-0-72 ♂	7.55±0.35	126.67±10.28	0.326±0.042	43.19±5.49	16.79±1.42	396.80±86.49
K-0-72 ♀	7.77±0.30	137.78±10.93	0.358±0.017	46.16±2.03	17.75±1.54	385.79±46.19
K-E-24 ♂	5.76±0.62	102.96±10.28	0.222±0.021	38.95±5.89	18.04±2.46	465.20±43.80
K-E-24 ♀	5.94±0.78	100.74±10.28	0.249±0.035	42.65±9.01	17.26±3.42	407.60±40.79
K-E-72 ♂	6.16±0.22	91.11±12.45	0.281±0.034	45.66±6.03	14.82±2.31	328.49±57.35
K-E-72 ♀	4.94±0.34	89.63±12.94	0.204±0.058	41.53±12.71	18.29±3.58	459.17±98.90
Pb-0-24 ♂	4.80±2.19	95.56±7.12	0.314±0.020	77.81±34.08	23.56±10.08	304.10±6.12
Pb-0-24 ♀	6.62±1.88	102.22±11.88	0.286±0.035	48.11±21.95	16.87±6.57	364.89±82.41
Pb-0-72 ♂	6.75±0.84	93.33±11.23	0.293±0.065	44.53±14.31	14.08±3.09	327.13±55.28
Pb-0-72 ♀	5.66±0.60	97.04±8.03	0.261±0.057	46.36±10.11	17.29±2.14	393.65±131.38
Pb-E-24 ♂	4.61±0.74	85.18±16.77	0.302±0.048	67.25±16.12	18.80±4.35	285.88±58.40
Pb-E-24 ♀	4.73±0.44	82.96±31.38	0.262±0.039	55.50±7.71	17.81±7.49	319.33±120.92
Pb-E-72 ♂	4.31±0.71	93.33±18.59	0.315±0.031	75.20±16.73	22.30±6.61	298.40±65.89
Pb-E-72 ♀	4.23±0.60	96.30±14.10	0.280±0.053	66.75±12.95	23.34±6.21	353.15±75.53
All-0-24 ♂	6.24±0.16	92.59±22.98	0.204±0.035	32.70±5.45	14.80±3.44	455.26±94.38
All-0-24 ♀	5.77±0.32	115.55±33.17	0.256±0.046	44.43±8.25	20.06±6.00	469.43±162.81
All-0-72 ♂	5.71±0.73	97.78±31.93	0.342±0.061	59.85±6.38	17.56±6.49	302.04±127.12
All-0-72 ♀	6.21±0.53	105.92±16.69	0.286±0.069	46.01±10.21	16.99±1.23	384.19±88.40
All-E-24 ♂	5.06±0.70	114.07±4.83	0.309±0.048	61.89±12.50	21.74±2.43	360.03±62.19
All-E-24 ♀	5.00±0.92	111.85±7.12	0.303±0.039	62.72±15.48	24.22±5.54	389.39±41.29
All-E-72 ♂	4.90±0.64	99.26±10.28	0.281±0.045	58.00±10.57	20.66±4.33	360.95±74.15
All-E-72 ♀	4.84±0.74	92.59±24.29	0.253±0.059	53.68±15.38	20.00±7.54	367.68±69.67
All-Pb-0-24 ♂	5.24±0.52	99.26±4.83	0.271±0.017	51.86±2.08	19.09±2.11	367.38±27.20
All-Pb-0-24 ♀	4.82±0.40	98.52±4.22	0.253±0.023	53.05±7.97	20.95±2.88	396.96±37.87
All-Pb-0-72 ♂	4.62±0.36	94.81±7.22	0.244±0.013	52.99±2.90	20.73±3.22	390.57±49.76
All-Pb-0-72 ♀	4.64±0.31	87.41±11.89	0.220±0.032	47.37±6.37	18.89±2.68	399.26±27.65
All-Pb-E-24 ♂	4.88±0.29	94.07±15.40	0.243±0.041	49.92±7.74	19.47±4.31	396.67±95.85
All-Pb-E-24 ♀	4.81±0.23	88.15±8.03	0.259±0.042	53.67±6.60	18.31±1.25	343.93±31.36
All-Pb-E-72 ♂	4.56±0.20	91.85±10.93	0.243±0.054	53.60±13.60	20.17±2.66	397.23±122.25
All-Pb-E-72 ♀	4.19±0.42	74.07±8.69	0.222±0.036	53.99±13.53	17.83±2.78	343.73±86.33

\*Prikazane su srednje vrijednosti±standardna devijacija

Tabela br. 42 Pregled literaturnih vrijednosti leukograma netretiranih Wistar pacova

	Ukupan broj leukocita $\times 10^9/1$ krvi	PROPORCIJE POJEDINIH FORMI LEUKOCITA U %				
		Neutrofili	Eozinofili	Bazofili	Limfociti	Monociti
<b>Lindstrom et al.</b> (2015)	8.0-11.8♂	6.2-42.6♂	0.1-0.63♂	0-0.6♂	57.6-83.2♂	0-0.65♂
	6.6-12.6♀	4.4-49.2♀	0-1.96♀	0-0.4♀	50.2-84.5♀	0-1.81♀
<b>Sharp i Villano</b> (2013)	3-17	13-26	0-4	0-1	65-83	0-4
<b>Davidović</b> (2013)	6.61±0.57	28.26±3.10			65.90±4.28	5.84±3.24
<b>Uduak et al.</b> (2013)	6.68±0.21	29.8±1.46	2.6±0.51		65.6±1.36	1.40±0.40
<b>Lewicka et al.</b> (2012)	9.50±0.9	42.2±4.1	2.6±0.4	-	51.5±4.5	3.7±0.4
<b>Kampfmann et al.</b> (2012)	3.6±0.1*	11.11*	2.78*	-	83.33*	5.56*
	10.4±0.1**	13.46**	0.96**	-	77.88**	7.69**
<b>Thrall et al.</b> (2012)	7.3-12.66	17.12-29.30	0.54-2.36	0-2.36	69.45-71.64	0.68-3.47
	9.98	24.84	1.70	0	70.84	2.50
<b>Oyeyemi et al.</b> (2009)	19.40±4.57	61.4±6.78			38.6±6.78	
<b>Antai et al.</b> (2009)	3.79±0.15	23.20±1.28	4.80±0.37	0.60±0.30	64.00±0.71	8.40±0.93
<b>Moriyama et al.</b> (2008)	12.21±2.90	10.53-12.44♂	1.13-1.18♂	0.32-0.33♂	82.92-84.05♂	2.04-2.98♂
		6.65-8.22♀	1.26-1.50♀	0.23-0.26♀	86.35-87.55♀	2.51-3.00♀
<b>Charles River Laboratories</b> (2008)	9.45±3.01♂	40.80±8.12♂	1.09±1.14♂	0.23±0.30♂	51.05±8.03♂	6.86±2.30♂
	8.35±2.82♀	35.09±7.15♀	1.71±1.65♀	0.38±0.58♀	56.12±7.25♀	6.70±2.20♀
<b>Liberati et al.</b> (2004)	4.12-9.59	9.47-15.43			81-89	1-2
<b>Prichet i Corning</b> (2004)	4.00-10.20	32.50-35.29			55-81	
<b>Moore</b> (2000)	8.54±2.23♂	16.6±5.7♂			78.3±7.1♂	3.4±2.5♂
	7.10±2.42♀	15.3±5.7♀			80.9±5.7♀	1.6±1.0♀
<b>Stojić</b> (1999)	6.00-8.00					
<b>Charles River Laboratories</b> (1998)	5.10-12.55♂	1-34♂	0-3♂	0-2♂	65-99♂	0-6♂
	4.19-13.00♀	1-40♀	0-6♀	0-2♀	58-98♀	0-6♀
<b>Jain</b> (1993)	8.30±2.36	17.34-29.17			63-68	0.67-4.13
<b>Rusov</b> (1984)	6.00-10.50	9-47	0-3	rijetko prisutni	51-90	0-3



Tabela br. 43 Prosječne vrijednosti leukograma kontrolnih i testnih jedinki

Grupa	L ( $\times 10^9/l$ )	PROPORCIJE POJEDINIH FORMI LEUKOCITA				
		Neutrofili	Eozinofili	Bazofili	Limfociti	Monociti
K-0-24 ♂	5.88±0.25	0.274±0.063	0.020±0.014	0.006±0.005	0.686±0.067	0.014±0.011
K-0-24 ♀	5.78±0.29	0.180±0.037	0.030±0.012	0.008±0.004	0.772±0.048	0.012±0.004
K-0-72 ♂	5.68±0.40	0.144±0.102	0.036±0.005	0.006±0.005	0.802±0.098	0.012±0.011
K-0-72 ♀	5.74±0.38	0.152±0.078	0.022±0.013	0.008±0.004	0.806±0.071	0.012±0.008
K-E-24 ♂	6.72±0.33	0.208±0.033	0.002±0.004	0.002±0.004	0.784±0.032	0.004±0.005
K-E-24 ♀	6.76±0.64	0.156±0.032	0.000±0.000	0.004±0.005	0.840±0.036	0.000±0.000
K-E-72 ♂	7.16±0.38	0.192±0.032	0.004±0.005	0.000±0.000	0.802±0.033	0.002±0.004
K-E-72 ♀	7.32±0.33	0.184±0.048	0.006±0.009	0.004±0.009	0.804±0.045	0.002±0.004
Pb-0-24 ♂	5.48±0.54	0.134±0.079	0.002±0.004	0.026±0.022	0.838±0.087	0.000±0.000
Pb-0-24 ♀	5.36±0.50	0.106±0.015	0.012±0.011	0.020±0.010	0.854±0.022	0.008±0.004
Pb-0-72 ♂	5.36±0.77	0.208±0.032	0.010±0.010	0.024±0.017	0.758±0.052	0.000±0.000
Pb-0-72 ♀	5.52±0.33	0.130±0.024	0.006±0.005	0.012±0.011	0.850±0.019	0.002±0.004
Pb-E-24 ♂	6.00±0.25	0.196±0.112	0.002±0.004	0.020±0.007	0.780±0.112	0.002±0.004
Pb-E-24 ♀	6.04±0.22	0.142±0.060	0.004±0.005	0.032±0.008	0.822±0.059	0.000±0.000
Pb-E-72 ♂	5.96±0.26	0.274±0.050	0.006±0.005	0.018±0.025	0.702±0.038	0.000±0.000
Pb-E-72 ♀	6.12±0.36	0.248±0.081	0.002±0.004	0.018±0.008	0.730±0.079	0.002±0.004
All-0-24 ♂	6.36±0.17	0.152±0.115	0.020±0.039	0.002±0.004	0.802±0.176	0.024±0.029
All-0-24 ♀	6.40±0.28	0.144±0.074	0.038±0.034	0.008±0.011	0.794±0.106	0.016±0.021
All-0-72 ♂	6.72±0.30	0.204±0.088	0.030±0.023	0.010±0.017	0.748±0.108	0.012±0.013
All-0-72 ♀	6.68±0.23	0.180±0.043	0.020±0.020	0.008±0.008	0.780±0.035	0.012±0.013
All-E-24 ♂	6.64±0.30	0.202±0.128	0.030±0.014	0.018±0.015	0.738±0.135	0.012±0.004
All-E-24 ♀	6.52±0.70	0.142±0.031	0.018±0.024	0.002±0.004	0.688±0.299	0.021±0.010
All-E-72 ♂	7.20±1.29	0.204±0.063	0.014±0.009	0.004±0.005	0.740±0.090	0.038±0.037
All-E-72 ♀	7.16±0.46	0.238±0.144	0.012±0.013	0.000±0.000	0.724±0.149	0.025±0.017
All-Pb-0-24 ♂	6.04±0.55	0.254±0.040	0.022±0.016	0.004±0.005	0.698±0.035	0.026±0.019
All-Pb-0-24 ♀	5.92±0.23	0.238±0.050	0.008±0.008	0.002±0.004	0.730±0.052	0.022±0.008
All-Pb-0-72 ♂	6.32±0.41	0.274±0.046	0.012±0.016	0.002±0.004	0.692±0.054	0.020±0.016
All-Pb-0-72 ♀	6.40±0.32	0.262±0.054	0.010±0.010	0.010±0.014	0.702±0.045	0.016±0.017
All-Pb-E-24 ♂	6.40±0.32	0.230±0.054	0.008±0.008	0.004±0.005	0.734±0.062	0.024±0.011
All-Pb-E-24 ♀	6.20±0.32	0.254±0.049	0.008±0.013	0.002±0.004	0.698±0.054	0.018±0.019
All-Pb-E-72 ♂	7.12±0.23	0.198±0.092	0.014±0.011	0.006±0.009	0.756±0.089	0.026±0.015
All-Pb-E-72 ♀	7.08±0.41	0.280±0.047	0.010±0.010	0.004±0.005	0.694±0.053	0.012±0.013

\*Prikazane su srednje vrijednosti±standardna devijacija