

SINERGISTIČKI EFEKAT OLOVO-ACETATA I ALOKSANA NA PRIRAST MASE I ORGANOSOMATSKI INDEKS JETRE WISTAR PACOVA INFCIRANIH EŠERIHJOM

Maja Manojlović^{1*}, Radoslav Dekić¹, Svjetlana Lolić¹, Jovana Paspalj¹, Aleksandra Đeri², Ivica Radović³

¹Univerzitet u Banjoj Luci, Prirodno-matematički fakultet, Mladena Stojanovića 2, 78000 Banja Luka, Republika Srpska, BiH

²Univerzitet u Banjoj Luci, Medicinski fakultet, Save Mrkalja 14, 78 000 Banja Luka, Republika Srpska, BiH

³Univerzitet u Beogradu, Fakultet za bezbednost, Gospodara Vučića 50, 11118 Beograd, Srbija

***Autor za korespondenciju, email:** maja.manojlovic@pmf.unibl.org

Sažetak. Različiti biotički i abiotički agensi svakodnevno izazivaju zdravstvene promjene posebno najosjetljivijih članova populacije. Dijabetičari, kao veoma osjetljiv dio populacije, znatno su podložniji bakterijskim infekcijama, kao i toksičnom efektu pojedinih polutanata. Aloksan se univerzalno upotrebljava za izazivanje eksperimentalnog dijabetesa na laboratorijskim pacovima, dajući kliničku sliku kao dijabetes tip 1 kod ljudi. Cilj rada bio je da se utvrdi zajedničko dejstvo olovo-acetata i aloksana na prirast tjelesne mase i organosomatski indeks jetre Wistar pacova inficiranih ešerihjom. Signifikantno slabiji prirast mase ($p < 0,05$) ostvarile su testne jedinice izložene dejstvu bakterijske infekcije, kao i one intoksikovane olovom, dok je negativna vrijednost ovog parametra konstatovana za sinergističko dejstvo testnih materija. Organosomatski indeks jetre pacova pokazali su značajan rast vrijednosti kod dijabetičnih jedinki podvrgnutih infekciji u odnosu na kontrolnu grupu i jedinice podvrgnute samo jednom tretmanu. Kod dijabetičara hiperglikemija može narušiti i urođeni i stečeni imunitet čime se smanjuje otpornost na patogene infekcije i prateće bolesti. Kako i polutanti iz spoljašnje sredine, među njima i olovo, mogu izazvati brojne promjene u organizmu dijabetičara, neophodno je da izbjegavaju svaki kontakt sa ovim toksikantom.

Ključne riječi: Wistar pacov, aloksan, olovo-acetat, bakterijska infekcija, organosomatski indeks jetre, prirast tjelesne mase.

UVOD

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 manje su 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 zbog sposobnosti bioakumulacije, nemogućnosti biorazgradnje i izrazite štetnosti unutar ekoloških sistema (Sainath i sar., 2011). Olovo je jedan od najzastupljenijih toksičnih metala zbog svoje široke primjene u različitim industrijskim proizvodima, zbog čega se smatra ozbiljnim rizikom za brojne profesije širom svijeta. Djeluje negativno na brojne organske sisteme, prvenstveno centralni nervni sistem, hematopoetski, hepatički i bubrežni sistem gdje stvara ozbiljne poremećaje (Flora i sar., 2012). Tokom graviditeta kod žena olovo posebno ispoljava svoj negativan efekat, prolazeći kroz placentalnu barijeru (Lagerkvist i sar., 1996). Brojni eksperimenti na laboratorijskim životinjama pokazali su da olovo alterira morfološke odlike jajnika, izaziva promjene u funkciji placente, razvoju ploda i slično, ali se njegovo dejstvo nastavlja i tokom laktacije, kada olovo mlijekom dopijeva u organizam sisančeta (Mornjaković i sar., 1995; Mornjaković, 1994).

Izloženost olovu tokom gestacije i laktacije dovodi do brojnih neuroloških poremećaja, kao što su deficit memorije, neurološke abnormalnosti (Soodi i sar., 2008), promjene uobičajenih obrazaca ponašanja (Seddik i sar., 2010). Takođe, utiče na smanjenje tjelesne dužine i mase (Mornjaković i sar., 2000), povećanje mase pojedinih unutrašnjih organa (Abdel-Moneim i sar., 2011) i slično. Povećanje odnosa masa organa / masa tijela dokumentovano je za bubrege i jetru pacova tretiranih olovo-acetatom (Abdel-Moneim i sar., 2011).

Dijabetes se ubraja među najčešća endokrinološka oboljenja kod ljudi sa prevalencom u stalnom porastu te predstavlja stalan predmet istraživanja. Aloksan je dobro poznato i univerzalno upotrebljavano sredstvo za izazivanje eksperimentalnog dijabetesa kod laboratorijskih životinja (pacova, miševa, kunića). Selektivno oštećuje beta ćelije, pokazujući ekstremno potentan diabetogeni efekat (Muhammad i sar., 2012). Eksperimentalno izazvan dijabetes kod životinja pokazuje tipične simptome karakteristične za *diabetes mellitus* kod ljudi: gubitak tjelesne mase, polidipsija, poliurija, glukozurija, ketonurija, hiperglikemija i ketonemija. Rohilla i Ali (2012) uočili su da injektovanjem aloksana dolazi do karakteristične slike insulin zavisnog tipa I dijabetesnog sindroma. 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). Otkriće da je aloksan prisutan i u krvi ljudi, tačnije djece sa utvrđenim dijabetesom, dovodi u pitanje tvrdnje da ne ispoljava toksičan efekat na beta ćelije Langerhansovih ostrvaca ljudi (Mrozikiewicz i sar., 1994).

Escherichia coli univerzalni je stanovnik intestinalnog trakta čovjeka i toplokrvnih životinja, gdje čini normalnu floru crijeva u kojima je dominantna vrsta. Zajedno sa srodnim bakterijama čini 0,1% crijevnog flore (Eckburg i sar., 2005). Bakterijska infekcija uzrokovana inokulacijom *Escherichia coli* može da dovede do ozbiljnih patoloških procesa u organizmu

poput sepse i meningitisa u neonatalnom periodu (Korhonen i sar., 1985; Martindale i sar., 2000), te raznih sistemskih infekcija kao što su infekcija urinarnog trakta i kolonizacija gastrointestinalnog trakta u svim periodima ontogeneze (Sarff i sar., 1975; Orsakov i Orsakov, 1985; Plos i sar., 1995; Karch i sar., 2005). Ekstraintestinalna infekcija uzrokovana ešerihijom uključuje septikemiju i poliserotozu, neonatalni meningitis i infekciju urinarnog trakta kod ljudi i životinja (Ngeleka i sar., 1993).

Kako su dijabetičari usljed narušenog zdravstvenog stanja podložniji infekcijama i toksičnom efektu raznih polutanata, cilj rada bio je utvrditi zajedničko dejstvo olovo-acetata i aloksana na morfometrijske parametre (u ovom slučaju prirast tjelesne mase i organosomatski indeks jetre) Wistar pacova inficiranih ešerihijom.

MATERIJAL I METODE

Eksperimentalni dio rada proveden je u Laboratoriji za obavljanje eksperimenata na životinjama Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci na 160 jedinki Wistar pacova jednake starosti, približnih masa tijela, jednake zastupljenosti polova. Jedinke su držane u grupnim pleksiglas kavezima, na 12-časovnom režimu svjetlosti (07.00–19.00), temperaturi vazduha 22°C (±2), sa hranom (proizvod Veterinarskog zavoda Subotica, Subotica, Srbija) i vodom *ad libitum*.

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 komparirane su sa istim kod kontrolnih jedinki (oznaka K).

Infekcija ešerihijom izazivana je intraperitonealnom inokulacijom 0,2 ml bakterijske suspenzije *Escherichia coli*, soj ATCC 11775, serotip O1:K1:H7, koja je sadržala 3x10⁷ CFU/ml, određeno spektrofotometrijski, određivanjem optičke gustine po standardnoj metodi (Reynolds, 2011).

Aloksan (Alloxan monohydrate 98%, Sigma, New Jersey, USA) je aplikovan peritonealno u dozi od 100 mg/kg u cilju izazivanja *diabetes mellitus* tip 1. Nivo glukoze u krvi kontrolisan je svakih 48 sati uzorkom krvi iz repne vene i upotrebom digitalnog glukometra Accu Check Active (Roche).

Životinje su prije uzimanja krvi anestezirane (intramuskularno) ketaminom koncentracije 50 mg/kg (Ketaminol 10 100 mg/ml, Intervet, razrijeđen fiziološkim rastvorom u omjeru 1:10). U skladu sa uputstvima etičkih komisija i komiteta za brigu o laboratorijskim životinjama sve jedinke su žrtvovane dekapitacijom pod dubokom anestezijom (Zakon o zaštiti i dobrobiti životinja Republike Srpske).

Masa jedinki i izdvojenih unutrašnjih organa u gramima određena je mjerenjem na tehničkoj vagi (KERN, PFB 1200-2). Organosomatski indeksi predstavljaju odnos ukupne mase tijela u odnosu na masu određenog organa (Busacker *et al.*, 1990).

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

Relativni prirast mase – Percentage of body weight gain, predstavlja odnos tjelesne mase nakon praćenog vremena u odnosu na masu zabilježenu na početku eksperimenta (Mamikutty i sar., 2014).

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

Rezultati istraživanja analizirani su softverski u Office Excel 2010 pomoću parametara: srednja vrijednost, minimum, maksimum, standardna devijacija i standardna greška i obrađeni pomoću statističkog paketa SPSS 20.0. (ANOVA i LSD test) za nivo pouzdanosti od 95 %.

REZULTATI RADA I DISKUSIJA

Dobijene vrijednosti praćenih morfometrijskih parametara jedinki podvrgnutih različitom tretmanu upoređene su sa dobijenim vrijednostima za jedinice kontrolnih grupa, K–0 i K–E (Tabela 1, Slike 1 i 2).

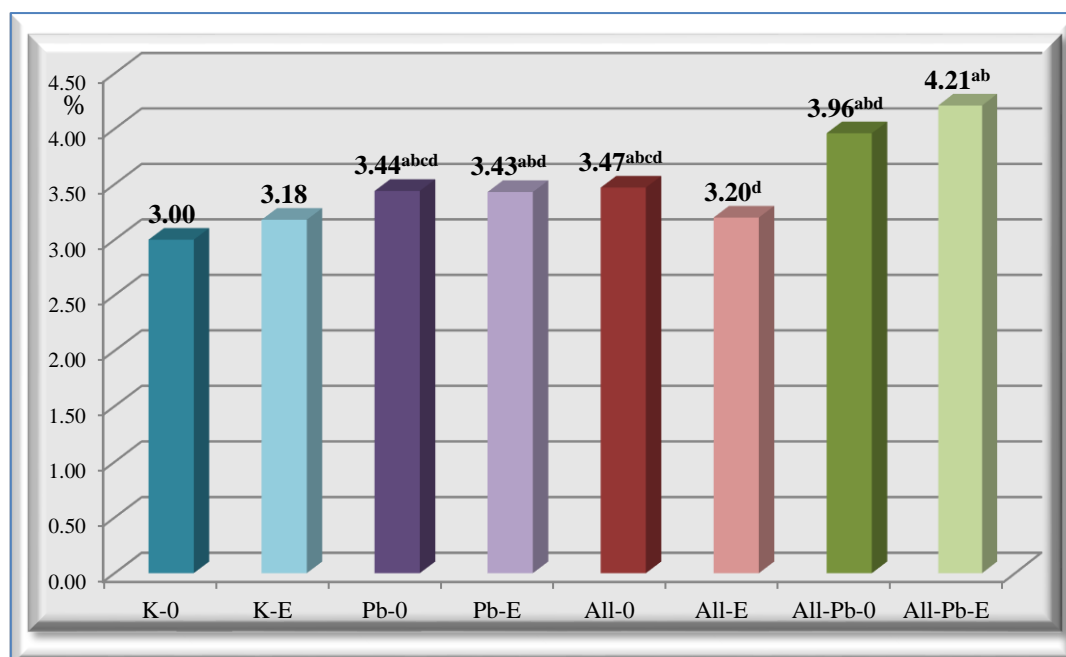
Tabela 1. Vrijednosti statističkog značaja u komparaciji rezultata morfometrijskih parametara indeksa mase jetre i prirasta tjelesne mase kontrolnih i tretiranih jedinki

	Statistički značaj indeksa mase jetre	Statistički značaj prirasta tjelesne mase	
K–E	0.162	0.099	K–0
Pb–0	0.001	0.000	K–0
	0.035	0.000	K–E
Pb–E	0.001	0.000	K–0
	0.040	0.000	K–E
All–0	0.000	0.000	K–0
	0.018	0.000	K–E
All–E	0.120	0.000	K–0
	0.874	0.000	K–E
All–Pb–0	0.000	0.000	K–0
	0.000	0.000	K–E
All–Pb–E	0.000	0.000	K–0
	0.000	0.000	K–E
All–Pb–0	0.000	0.000	Pb–0
	0.000	0.000	All–0
All–Pb–E	0.000	0.000	Pb–0
	0.000	0.000	Pb–E
	0.000	0.000	All–0
	0.000	0.000	All–E
	0.042	0.369	All–Pb–0

Konstatovane vrijednosti praćenih parametara jedinki izloženih dejstvu pojedinačnih agenasa komparirane su sa vrijednostima dobijenim za jedinke dvojnog i trojnog tretmana. Vrijednosti statističke signifikantnosti izložene su u Tabeli 1.

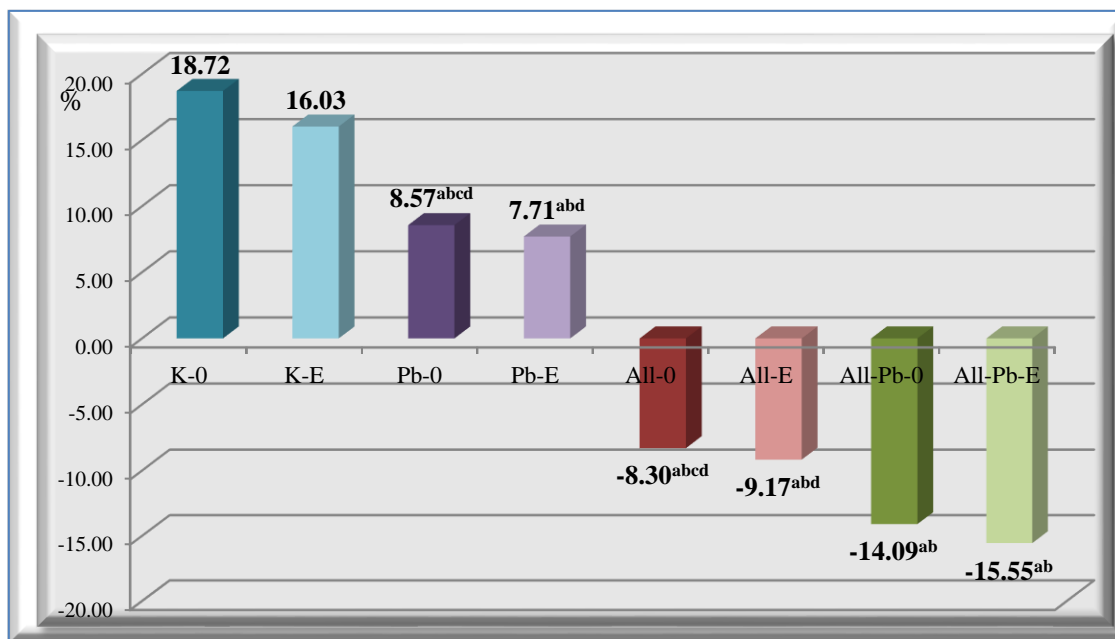
Kao što je i očekivano, prosječne vrijednosti indeksa jetre (Slika 1, Tabela 1) kod svih su testnih grupa, inficiranih i neinficiranih ešerihijom, uvećane u odnosu na prosjek negativne i pozitivne kontrole (K-0 i K-E), mada u slučaju grupe All-E razlika nije statistički značajna ($p > 0.050$). Infekcija 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 izazvali su 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 (Slika 1, Tabela 1).

Jedinke kontrolnih grupa, kao i jedinke intoksikovane samo olovo-acetatom, sa infekcijom i bez, ostvarile su pozitivan prirast mase (Slika 2), signifikantno slabiji kod tretiranih jedinki u odnosu na netretirane. Sve jedinke intoksikovane aloksanom pretrpjele su značajan gubitak tjelesne mase, najveći kod jedinki podvrgnutih sinergističkom dejstvu aloksana, olovo-acetata i bakterijske infekcije, iz grupe All-Pb-E. Značajan gubitak tjelesne mase ostvarile su i jedinke podvrgnute dvojnjoj intoksikaciji u odnosu na pojedinačne tretmane i jedinke kontrolnih grupa (Tabela 1).



Slika 1. Srednje vrijednosti indeksa jetre kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu

*



Slika 2. Srednje vrijednosti prirasta mase kontrolnih i jedinki podvrgnutih različitom tretmanu*

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

Zou i saradnici (2006) konstatovali su da infekcija izazvana bakterijom *Escherichia coli* ne dovodi do promjene organosomatskih indeksa jetre, slezene, tankih crijeva i pluća laboratorijskih pacova, kao što je u slučaju jedinki pozitivne kontrole i u našem eksperimentu potvrđeno.

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

Amjad i saradnici (2013) uočili su da pri većim koncentracijama olovo-acetata dolazi do značajnog pada vrijednosti tjelesne mase Wistar pacova, što u našem eksperimentu nije uočeno usljed kraćeg vremena izlaganja i nižih koncentracija toksikanta. Konstatovano je značajno manje povećanje tjelesne mase jedinki pojenih olovo-acetatom u odnosu na jedinke kontrolne grupe ($p < 0.005$), ali ne i gubitak tjelesne mase kako su Amjad i saradnici naveli.

Ibrahim i saradnici (2012) konstatovali su povećanje organosomatskih indeksa bubrega, jetre, srca i slezene kod jedinki Wistar pacova izloženih olovo-acetatu, što je uočeno

*Značajna razlika u odnosu na vrijednost ^a negativne kontrole; ^b pozitivne kontrole, ^c grupe All-Pb-0, ^d grupe All-Pb-E

i kod jedinki obuhvaćenih ovim eksperimentom, pri čemu su izloženi podaci za organosomatski indeks jetre.

Isaac i saradnici (2013) konstatovali su da se pri svakodnevnoj intoksikaciji Wistar pacova olovo-acetatom (6 mg/kg tjelesne mase) tokom četrnaest dana javlja izražen gubitak tjelesne mase. Deveci (2006), kao i Deveci i sar. (2011) uočili su 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%, dobili su 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) u periodu od 7 do 14 dana (Olchowik i sar., 2014).

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 značajno se povećava s povećanjem koncentracije olovo-acetata i vremena izloženosti.

Ebong i saradnici (2014) uočili su da pri tretmanu aloksanom u dozi od 150mg/kg tjelesne mase, nakon 14 dana dolazi do značajnog gubitka tjelesne mase, povećanja vrijednosti indeksa bubrega i smanjenja vrijednosti indeksa mase jetre. Gubitak tjelesne mase povezan je sa hiperglikemijom, kako kod eksperimentalnih modela, tako i kod čovjeka. Propadanje tkiva karakteristično je 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.

Indradevi i saradnici (2012) izazvali su 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) takođe su 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) ispitivali su 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 hepatocitima, dilatiranim sinusoidima i progresivnim gubitkom opšte strukture organa. Praćene lezije na jetri dijabetičnih životinja zahvatile su sve strukture organa, od portalnih područja i sinusoida, do hepatocita i citoplazmatskih organela, prvenstveno mitohondrija, endoplazmatskog retikuluma i jedra.

Tokom dijabetesa, usljed nedostatka 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 dovodi do smanjenja tjelesne mase, usljed sagorijevanja masti i proteina (Onwuli i sar., 2014).

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

Mude i saradnici (2012) konstatovali su 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 vrijednosti indeksa mase bubrega i jetre kod Wistar pacova (Ewenighi i sar., 2015). Gubitak tjelesne mase dijabetičnih pacova ukazuje na degradaciju strukturnih proteina usljed dijabetesa (Ananthi i sar., 2003).

Saba i saradnici (2010) uočili su da pri četveronedjeljnoj hiperglikemiji izazvanoj aloksanom (100 mg/kg tjelesne mase, *i.p.*) dolazi do značajnog smanjenja tjelesne mase tretiranih jedinki, povećanja indeksa mase jetre i bubrega i smanjenja indeksa sljezine i srca. S druge strane, takođe nakon dvadesetosmodnevne izloženosti aloksanskoj hiperglikemiji (150 mg/kg tjelesne mase, *i.p.*) Kim i saradnici (2013) konstatovali su 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.

Pacijenti sa šećernom bolešću skloniji su infekcijama od nedijabetičara (Larkin i sar., 1985). Kod njih se učestalije javljaju neuobičajene infekcije kao što su rinocerebralna i plućna mukormikoza, emfizemni holecistis i pielonefritis, nekrotizirajući celulitis ili fascitis i maligni ekstermi otitis (Seidel i sar., 2003).

Potvrđeno je da umjerena i jaka glukozurija povećava 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 i sar., 1999).

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. (Yeh i sar., 2014).

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 primijenjenu terapiju. Smatra se da dijabetičari treba da izbjegavaju svaki kontakt s ovim toksikantom i ukoliko u svom organizmu imaju koncentraciju olova veću od 80 µg, neophodno je primijeniti helatnu terapiju.

ZAKLJUČCI

Sa morfometrijskog aspekta u laboratorijskim uslovima ispitano je dejstvo intoksikacije olovo-acetatom i aloksanom na Wistar pacove inficirane ešerihijom intraperitonealnim ubrizgavanjem. Došlo je do značajnih promjena posebno pri sinergističkom efektu olovo-acetata i aloksana sa dejstvom infekcije u odnosu na jedinke kontrolnih grupa. Značajno je povećanje organosomatskog indeksa jetre, 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 sagorijevanja masti i proteina.

Intoksikacija olovo-acetatom takođe dovodi do značajnih promjena u tjelesnoj masi eksperimentalnih jedinki, kao i udjelu pojedinih organa. Pri dvonedjeljnoj intoksikaciji eksperimentalnih jedinki olovo-acetatom prirast mase znatno je manji 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, pa dijabetičari treba da izbjegavaju svaki kontakt sa ovim toksikantom.

ZAHVALNICA

Autori se zahvaljuju Ministarstvu nauke i tehnologije Republike Srpske i Prirodno-matematičkom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci (Republika Srpska, Bosna i Hercegovina) na finansijskoj pomoći.

LITERATURA

- 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), str.1219–1226.
- 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. *International Journal of Endocrinology*, 2010(1), str. 6. <https://doi.org/10.1155/2010/841090>.
- 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), str.108–113.

- Allouche, L., Hamadouche, M., Touabti, A., Khennouf, S., 2011. Effect of Long-term Exposure to Low or Moderate Lead Concentrations on Growth, Lipid Profile and Liver Function in Albino Rats. *Advances in Biological Research*, 5(6), str.339–347.
- 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). *Biochemistry & Physiology*, 2(2), 4 str. <http://dx.doi.org/10.4172/2168-9652.1000112>.
- Ananthi, J., Prakasam, A., Pugalendi, K.V., 2003. Antihyperglycemic activity of *Eclipta alba* Leaf on alloxan-induced diabetic rats. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 76(3), str.97–102.
- 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. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*. 29(3-4), str. 571–582. <https://doi.org/10.1159/000338511>.
- Blamey, R.W., Evans, D.M.D., 1971. Spleen weight in rats during tumour growth and in homograft rejection. *British Journal of Cancer*, 25(3), str.527–532. <https://doi.org/10.1038/bjc.1971.67>.
- Busacker, G.P., Adelman, I.R., Goolish, E.M., 1990. Growth. U: C.B. Schreck i P.B. Moyle, ur. *Methods for fish biology*. 1st Edition. Bethesda, MD: American Fisheries Society.str. 363–387.
- Cesta, M.F., 2006: Normal Structure, Function, and Histology of the Spleen. *Toxicologic Pathology*, 34(5), str.455–465. <https://doi.org/10.1080/01926230600867743>.
- 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*, 2014:571065, 5 str. <https://doi.org/10.1155/2014/571065>.
- Deveci, E., 2006. Ultrastructural effects of lead acetate on brain of rats. *Toxicology and Industrial Health*, 22(10), str.419–422. <https://doi.org/10.1177/07482337060220100101>.
- 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. *International Journal of Morphology*, 29(3), str.1058–1061. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022011000300067>.
- 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 Alloxan-induced Diabetic Albino Wistar Rats. *IOSR Journal of Pharmacy*, 4(1), str.37–43.
- Eckburg, P.B., Bik, E.M., Bernstein, C.N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S.R., Nelson, K.E., Relman, D.A., 2005. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 308(5728), str.1635–1638. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1110591>.

- 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. *The Ulutas Medical Journal*, 1(2), str.26–30. <https://doi.org/10.5455/umj.20150507042420>.
- Flora, G, Gupta, D, Tiwari, A., 2012. Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdisciplinary Toxicology*, 5(2), str.47–58. <https://doi.org/10.2478/v10102-012-0009-2>.
- 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*, 1(1), str.39–45. <https://doi.org/10.4314/cajeb.v1i1.37926>.
- 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. *Journal of Medical Microbiology*, 48(6), str.535–539. <https://doi.org/10.1099/00222615-48-6-535>.
- 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*, 2013(3), 742545, 9 str. <https://doi.org/10.1155/2013/742545>.
- 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*, 2(1), str.41–46. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60187-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60187-1).
- Indradevi, S., Ilavenil, S., Kaleeswaran, B., Srigopalram, S., Ravikumar, S., 2012. Ethanolic 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(2), str.171–177. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2010.12.007>.
- 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*, 5(7), str.121–130. <https://doi.org/10.5897/JTEHS2013.0262>.
- Karch, H., Tarr, P., Bielaszewska, M., 2005. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *International Journal for Medical Microbiology*, 295(6–7), str.405–418. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2005.06.009>.
- Kim, M.Y., Ha, B.J., 2013. Antihyperglycemic and Antihyperlipidemic Effects of Fermented *Rhynchosia nulubilis* in Alloxan-induced Diabetic Rats. *Toxicological Research*, 29(1), str.15–19. <https://doi.org/10.5487/TR.2013.29.1.015>.
- 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*, 48(2), str.486–491. <https://doi.org/10.1128/IAI.48.2.486-491.1985>.

- Lagerkvist, B.J., Sandberg, S., Frech, W., Jin, T., Nordberg, G.F., 1996. Is placenta a good indicator of cadmium and lead exposure? *Archives of Environmental Health*, 51(5), str.389–394. <https://doi.org/10.1080/00039896.1996.9934427>.
- Larkin, J.G., Frier, B.M., Ireland, J.T., 1985. Diabetes mellitus and infection. *Journal of Postgraduate Medicine*, 61(713), str.233–237. <http://dx.doi.org/10.1136/pgmj.61.713.233>.
- Lucchesi, A.N., Cassettari, L.L., Spadella, C.T., 2015. Alloxan-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*, 2015:494578, 11 str. <https://doi.org/10.1155/2015/494578>.
- 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*, 2014(4): 263897, 8 str. <https://doi.org/10.1155/2014/263897>.
- Martindale, J., Stroud, D., Moxon, E.R., Tang, C.M., 2000. Genetic analysis of *Escherichia coli* K1 gastrointestinal colonization. *Molecular Microbiology*, 37(6), str.1293–1305. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.02088.x>.
- Mornjaković Z., Kadić, M., Šuško, I., 2000. Uticaj olova na neke reproduktivne odlike i potomstvo kod primigravidnih Wistar pacova. *Veterinaria*. 49(3-4), str.333–341.
- Mornjaković, Z., 1994. Uticaj olovnog acetata na neke kvalitativne i kvantitativne karakteristike mamarnih mastocita kod primigravidnih pacova. *Medical Archives* 48(1-2), str.13-16.
- 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), str.71–74.
- Mrozikiewicz, A., Kielczewska-Mrozikiewicz, D., Lowicki, Z., Chmara, E., Korzeniowska, K., Mrozikiewicz, P.M., 1994. Blood levels of alloxan in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Acta Diabetologica*, 31(4), str.236–237. <https://doi.org/10.1007/BF00571958>.
- Mude, R.N., Somesula, S.R., Adi, P.J., Matcha, B., 2012. Diabetic regulation through blood constituents modulations on treatment with *Aloe vera* in alloxan induced diabetic rats. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 7(2), str.649–655.
- Muhammad, N.O., Akolade, J.O., Usman, L.A., Oloyede, O.B., 2012. Haematological parameters of Alloxan-induced diabetic rats treated with leaf essentials oil of *Hoslundia opposita* (Vahl). *EXCLI Journal*, 11, str.670–676. <http://dx.doi.org/10.17877/DE290R-10352>.
- Mulla, M.S.A., Goyal, V.K., Jana, S., Nirogi, R., 2010. Safety Evaluation of Sibutramine in Wistar Rats. *African Journal of Basic & Applied Sciences*, 2(5-6), str.128–134.
- 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*, 62(2), str.398–404.

- Obradović, S., Đekić, V., 2012: Ekološki menadžment teških metala u agroekosistemu. Zbornik radova, *Međunarodna naučna konferencija MENADŽMENT 2012*, Mladenovac, Srbija, 20-21.04.2012. Fakultet za poslovno industrijski menadžment, Mladenovac, str.509–515.
- 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*, 21(2), str.278–281. <https://doi.org/10.5604/1232-1966.1108591>.
- Onwuli, D.O., Brown, H., Ozoani, H.A., 2014. Antihyperglycemic Effect of *Tetracarpidium conophorum* Nuts in Alloxan Induced Diabetic Female Albino Rats. *ISRN Endocrinology*, 2014(11):124974, 4 str. <https://doi.org/10.1155/2014/124974>.
- 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 Savanna Zone: the Morphometric Aspect. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(7), str.1040–1042. <https://doi.org/10.3923/pjn.2009.1040.1042>.
- Orsakov, I., Orsakov, F., 1985. *Escherichia coli* in extra-intestinal infection. *Journal of Hygiene (Camb.)*, 95(3), str.551–575. <https://doi.org/10.1017/S0022172400060678>.
- 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), str.219–230. <https://doi.org/10.1093/jn/51.2.219>.
- Piao, Y., Liu, Y., Xie, X., 2013. Change Trends of Organ Weight Background Data in Sprague Dawley Rats at Different Ages. *Journal of Toxicologic Pathology*, 26(1), str.29–34. <https://doi.org/10.1293/tox.26.29>.
- Plos, K., Conneli, H., Jodal, U., Markulund, B., Maild, S., Wettergren, B., 1995. Intestinal carriage of P fimbriated *Escherichia coli* and the susceptibility to urinary tract infection in young children. *The Journal of Infectious Diseases*, 171(3), str.625–631. <https://doi.org/10.1093/infdis/171.3.625>.
- Reynolds, J., 2011. *Counting Bacteria*. Dostupno na http://www.delrio.dcccd.edu/jreynolds/microbiology/2421/lab_manual/counts.pdf. [Pristupljeno 20. 12. 2018.].
- Rohilla, A., Ali, S., 2012. Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3(2), str.819–823.
- Saba, A.B., Oyagbemi, A.A., Azeez, O.I., 2010. Antidiabetic and haematinic effects of *Parquetina nigrescens* on alloxan induced type-1 diabetes and normocystic normochromic anemia in Wistar rats. *African Health Sciences*, 10(3), str.276–282.
- 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. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 32(2), str.146–154. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.04.005>.
- 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. *The Lancet*, 1(7916), str.1099–1104. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(75\)92496-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(75)92496-4).
- 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*, 6(2), str. 67.
- 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*, 42(1), str.139–151.
- 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 alloxan-diabetic rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36(3), str.287-290. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2003000300001>.
- Soodi, M., Naghdi, N., Sharifzadeh, M., Ostad, S.N., Abdollahi, M., 2008. Effect of Lead (Pb^{2+}) Exposure in Female Pregnant Rats and Their Offspring on Spatial Learning and Memory in Morris Water Maze. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7(1), str.43-51. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2010.743>.
- 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), str.147–154. <http://dx.doi.org/10.19026/bjpt.4.5393>.
- 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(2), str.393–402. <https://doi.org/10.1006/toxs.1998.2556>.
- 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. *Journal of Diabetes & Metabolism*, 5(8), 6 str. <https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000417>.
- 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. *Transplantation Proceedings*, 38(5), str.1569–7152. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2006.03.025>.

Primljeno 19. 02. 2019.
Prihvaćeno 11. 12. 2019.