

Originalni naučni rad

LEUKOCITARNA FORMULA WISTAR PACOVA TRETIRANIH ALOKSANOM

Valentina Slijepčević¹, Maja Manojlović^{1*}, Radoslav Dekić¹, Svjetlana Lolić¹, 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, 78000 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. Dijabetes se ubraja među najčešća endokrinološka oboljenja sa prevalencom u stalnom porastu te predstavlja stalan predmet istraživanja. Aloksanski dijabetes kod pacova odgovara dijabetesu tipa 1 kod ljudi. Radi praćenja uticaja dijabetesa na leukocitarnu formulu izvršena je intoksikacija Wistar pacova aloksanom (100 mg/kg). Četrnaest dana od postizanja stabilne hiperglikemije jedinkama je uzeta krv kardijalnom punkcijom. Kod svih tretiranih grupa došlo je do signifikantnog ($p=0,000$) povećanja broja leukocita po litri krvi u odnosu na jedinke kontrolnih grupa. Znatno niži udio bazofilnih granulocita ($r=0,002$) uočen je u diferencijalnoj krvnoj slici tretiranih jedinki. Udio neutrofilnih granulocita u krvi tretiranih jedinki bio je niži, a eozinofilnih granulocita i limfocita viši nego kod kontrolnih jedinki, bez statistički značajne razlike ($p>0,050$).

Ključne riječi: Wistar pacov, aloksan, dijabetes, diferencijalna krvna slika.

UVOD

Šećerna bolest predstavlja najčešću endokrinološku bolest u svijetu, koja je istovremeno i metabolička bolest sa višestrukom etiologijom, obilježena hroničnom hiperglikemijom i poremećajem metabolizma ugljenih hidrata, masti i proteina. Javlja se kao posljedica poremećaja lučenja i djelovanja insulina (Magaš, 2010). Dijabetes se danas ubraja među najčešća endokrinološka oboljenja sa prevalencom u stalnom porastu, naročito u razvijenim zemljama svijeta (Rolo i Palmeira, 2006). Prema Svjetskoj zdravstvenoj

organizaciji (WHO, 2011) šećerna bolest je odgovorna za oko 2,2% smrtnih ishoda uzrokovanih bolešću među ljudima. Dijabetes svakih deset sekundi odnese jedan život, a dvije osobe obole od ove bolesti. To je oboljenje evolutivnog toka, velike učestalosti, zbog čega se u savremenoj literaturi označava kao pandemijski problem morbiditeta i mortaliteta. Današnja statistika dijabetesa poražavajuća je jer govori da se dijabetes ubraja među pet najčešćih nezaraznih uzroka smrti u svijetu (Stilinović, 2013). Biohemijske promjene koje leže u patogenezi dijabetesa dovode do pojave oksidativnog stresa, a praćen je povećanim prisustvom slobodnih radikala i smanjenom antioksidativnom odbranom organizma. Oksidativni stres koji nastaje kao posljedica hiperglikemije predstavlja glavnog uzročnika patoloških komplikacija karakterističnih za dijabetes. Tokom hiperglikemije u mitohondrijama dolazi do prekomjerne produkcije superoksidnog radikala, koji u daljim koracima može biti konvertovan u druge oblike reaktivnih oksidativnih vrsta, koje doprinose opštem oksidativnom stresu (Green i sar., 2004).

Kod životinja dijabetes može biti indukovano organskim jedinjenjem, aloksanom, koji dovodi do uništenja β -ćelija Langerhansovih ostrvaca pankreasa (Szkudelski, 2001). Aloksan je originalno izolovao Brugnatelli 1818. godine, a Wöhler i Liebig su 1838. godine sintetisali pirimidinski derivat koji je kasnije nazvan aloksan (Lenzen i Panten, 1988), ali tek 1943. godine dobija na značaju u istraživanju dijabetesa pošto su Dunn, Sheehan i McLetchie saopštili da pomoću njega mogu da izazovu specifičnu nekrozu β -ćelija pankreasa kod kunića (Dunn i sar., 1943). Ovo otkriće potvrdili su drugi istraživači i uveden je termin „aloksanski dijabetes“ (Mrozikiewicz i sar., 1994). Aloksan ima strukturnu formulu veoma sličnu molekuli glukoze. Sličnost ide do te mjere da ih GLUT-2 glukozni transporter prihvata i ubacuje direktno u citoplazmu β -ćelija, pri čemu ne oštećuje i ne inhibira GLUT-2 receptore (Lenzen, 2007). U prisustvu intraćelijskih tiola, posebno glutationa, stvara reaktivna kiseonična jedinjenja (slobodne radikale) koji su odgovorni za smrt β -ćelija koje imaju izrazito nizak autooksidativni kapacitet.

Tjelesne tečnosti su najbolji pokazatelj promjena u organizmu. S tim u vezi, određena je diferencijalna krvna slika tretiranih pacova radi utvrđivanja promjena nastalih dejstvom aloksana, odnosno razvojem *diabetes mellitus*a tip 1.

MATERIJAL I METODE

Za potrebe eksperimenta izdvojeno je 40 jedinki Wistar pacova oba pola približne starosti i tjelesne mase. Držane su u pleksiglas kavezima na dvanaestočasovnom režimu svjetlosti (12 časova na svjetlu i 12 časova u mraku), na temperaturi $22 \pm 2^\circ\text{S}$ i hrani i vodi *ad libitum*. Nakon dvonedeljne aklimacije, jedinke su podijeljene u grupe (kontrolne K ♂ i K ♀ i tretirane A ♂ i A ♀) i podvrgnute tretmanu.

Prema podacima iz literature uobičajeno doziranje aloksana u svrhu izazivanja hiperglikemije kod Wistar pacova kreće se od 40 mg/kg, i. v. (Mude i sar., 2012), 42 mg/kg, i. v. (Lucchesi i sar., 2013, 2015), 70 mg/kg, i. v. (Akah i sar., 2009), 100 mg/kg, i. p. (Đeri, 2014, Saba i sar., 2010), 120 mg/kg, s. c. (Ahmadvand i sar., 2012), 125 mg/kg, i. p. (Georgewill i Georgewill, 2009), 140 mg/kg, i. p. (Olurische i sar., 2013) 150 mg/kg, i. p. (Dallatu i sar., 2010; Ahmed i sar., 2010; Kim i Ha, 2013; Ebong i sar., 2014), 160 mg/kg, i. p. (Muhammad i sar., 2012), do

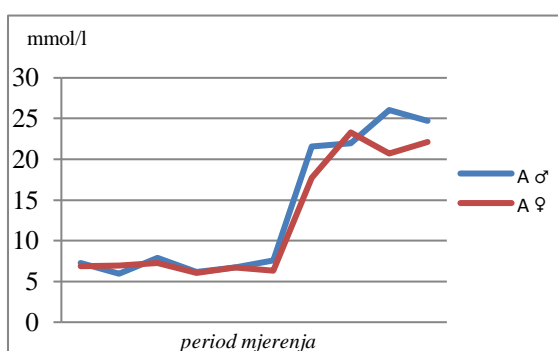
200 mg/kg, i. p. (Indradevi i sar., 2012) i više. Odabrana doza aloksana iznosila je 100 mg/kg, i. p. Kako manje doze aloksana unesenog intraperitonealno mogu rezultovati autoreverzijom u normalno glikemijsko stanje, zahvaljujući regenerativnom kapacitetu ćelija Langerhansovih ostrvaca (Jain i Arya, 2011), nivo glukoze u krvi kontrolisan je 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 hiperglikemije (>11 mmol glukoze po litri krvi). Dvadeset jedinki oba pola sa izraženom hiperglikemijom je žrtvovano nakon 14 dana.

Životinje su, prije uzimanja krvi, anestezirane intramuskularnim ubrizgavanjem ketamina koncentracije 50 mg/kg (Ketaminol 10 100 ml/mg, Intervet, razrijeđen fiziološkim rastvorom u omjeru 1:10). Po anesteziranju (15-20 minuta od aplikacije) uzeta je krv kardijalnom punkcijom u vakutenere sa antikoagulansom K₃EDTA, radi određivanja broja leukocita /l krvi, metodom brojanja u Thoma komori i diferencijalne krvne slike, pravljenjem razmaza bojenih metodom po Pappenheim-u (kombinovano bojenje po May-Grünwald-u i Giemsa-i) (Ivanc i Dekić, 2006). Gotovi preparati su mikroskopirani pomoću imerzionog objektiva i imerzionog ulja radi diferenciranja elemenata.

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) u jutarnjim časovima, u periodu od 08.00-10.00, kako bi se izbjegle moguće varijacije dobijenih rezultata.

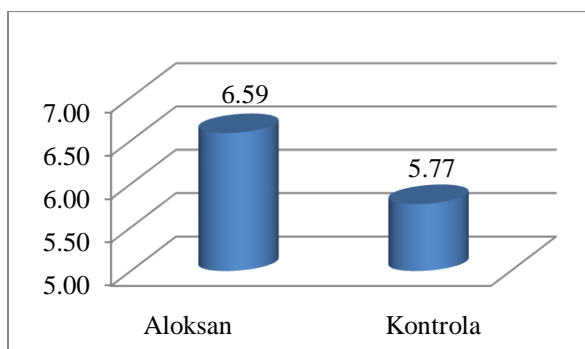
Svi rezultati istraživanja su analizirani softverski u Office Excel 2010, uz parametre srednja vrijednost, minimum, maksimum, standardna devijacija i koeficijent variranja. Podaci su međusobno upoređeni Studentovim t-testom sa minimalnom statistički signifikantnom razlikom od $r < 0.050$. Svi rezultati istraživanja su obrađeni i pomoću statističkog paketa SPSS 20.0 (ANOVA i LSD test). Prilikom obrade podataka korišten je nivo pouzdanosti od 95 %.

REZULTATI I DISKUSIJA

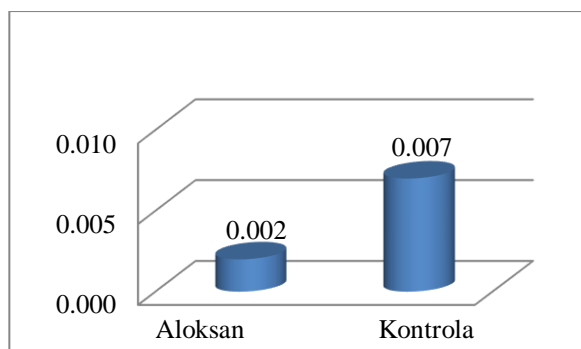


Slika 1. Vrijednosti koncentracije glukoze u krvi tretiranih jedinki

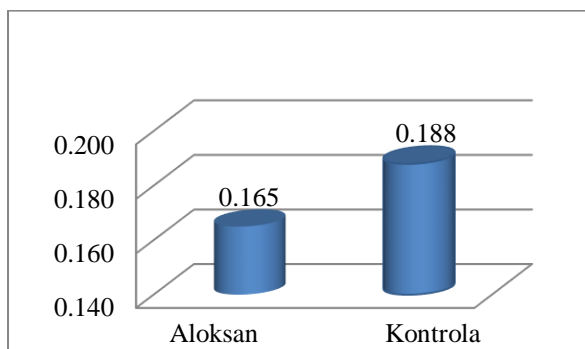
U toku eksperimenta 20 jedinki pacova Wistar soja je tretirano aloksanom, uz redovnu kontrolu koncentracije glukoze u krvi (Slika 1). Ustanovljen je porast koncentracije glukoze u odnosu na početnu vrijednost, što je jedan od osnovnih simptoma dijabetesa, pri čemu se hiperglikemijom smatraju vrijednosti iznad 11 mmol/l. Stabilan dijabetes razvijen je kod svih eksperimentalnih jedinki, pri čemu su prosječne vrijednosti koncentracije glukoze u krvi mužjaka iznosile 24,75 mmol/l, odnosno kod ženki 22,1 mmol/l na kraju eksperimenta. Kod svih tretiranih grupa, kojima je aplikovan aloksan, došlo je do signifikantnog ($p=0,000$) povećanja broja leukocita po litri krvi u odnosu na jedinke kontrolnih grupa (Slika 2).



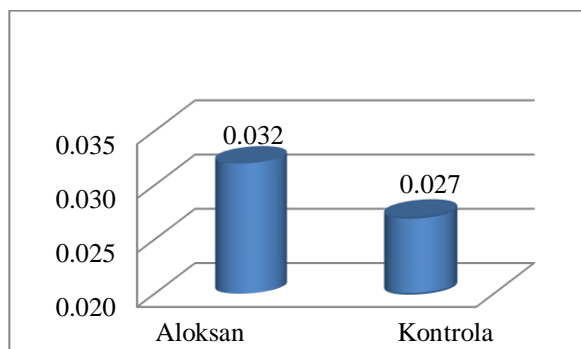
Slika 2. Broj leukocita ($10^9/l$) u krvi tretiranih i kontrolnih jedinki



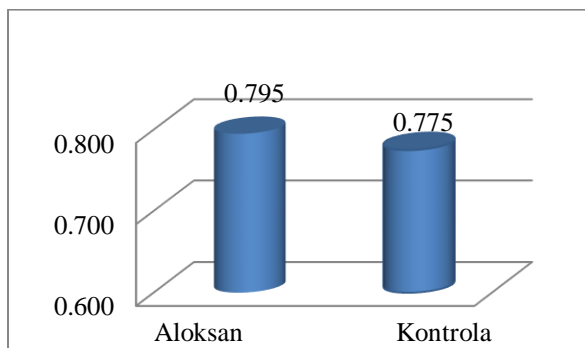
Slika 3. Udio bazofila u diferencijalnoj krvnoj slici tretiranih i kontrolnih jedinki



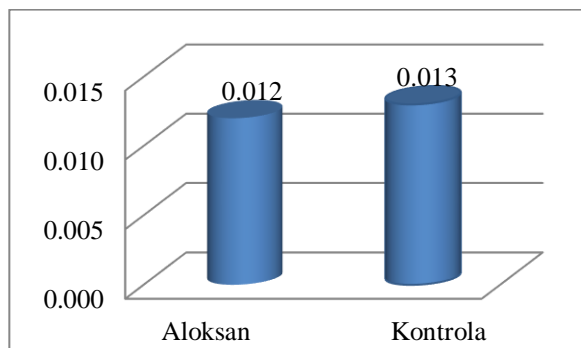
Slika 4. Udio neutrofila u diferencijalnoj krvnoj slici tretiranih i kontrolnih jedinki



Slika 5. Udio eozinofila u diferencijalnoj krvnoj slici tretiranih i kontrolnih jedinki



Slika 6. Udio limfocita u diferencijalnoj krvnoj slici tretiranih i kontrolnih jedinki



Slika 7. Udio monocita u diferencijalnoj krvnoj slici tretiranih i kontrolnih jedinki

Analizom leukocitarne formule tretiranih životinja uočava se sličnost sa kontrolnom grupom jedinki, s tim da je došlo do blagog povećanja udjela limfocita i smanjenja udjela neutrofila ($p > 0,050$), dok je proporcija bazofila značajno smanjena kod dijabetičnih jedinki ($p = 0,002$) (Slike 3, 4 i 6). Ne uočava se značajna razlika ni između zastupljenosti eozinofila i monocita ($p > 0,050$) kontrolnih i tretiranih jedinki (Slike 5 i 7). Prisutne su i manje razlike u vrijednostima u odnosu na pol, bez statističkog značaja.

Komparacijom dobijenih rezultata sa podacima iz literature može se konstatovati da je leukocitarna formula kontrolnih jedinki u granicama fizioloških vrijednosti (Lindstrom i sar., 2015; Sharp i Villano, 2013; Thrall i sar., 2012; Antai i sar., 2009; Moriyama i sar., 2008; Rusov, 1984). Rezultati dobijeni analizom krvi tretiranih jedinki u skladu su sa istraživanjem

Muhammada i saradnika (2012), koji su zabilježili povećanje ukupnog broja leukocita, ali i promjene procentualne zastupljenosti pojedinih formi leukocita u odnosu na kontrolne jedinice. Takođe, došlo je do smanjenja procenta neutrofilnih granulocita, dok se broj limfocita kod dijabetogenih pacova povećao u odnosu na zdrave jedinice. Asanga i saradnici (2013), navode da su pacovi u stanju aloksanskog dijabetesa podložni alergijskim reakcijama, ali i čestim infekcijama. Takođe, iznose činjenicu da se osjetljivost pacova javlja kao rezultat slobodnih radikala nastalih tokom metabolizma aloksana, koji dalje utiču na različita tkiva u organizmu. Prema Pankaju i Varmai (2013), varijabilan broj neutrofila može se pripisati promjeni broja ukupnih leukocita, što negativno utiče na imuni sistem i fagocitoznu aktivnost organizma. Kao posljedica neutropenije javlja se smanjena sposobnost odbrane organizma od bakterija, što povlači za sobom i pojavu čestih infekcija (Stanković, 2014).

Aloksan djeluje proinflamatorno povećanjem broja ukupnih leukocita, kao i promjenom odnosa pojedinih tipova u leukocitarnoj formuli u korist limfocita.

Jedan od osnovnih razloga za smanjenje broja bazofila u perifernoj krvi, registrovan u našem istraživanju, predstavlja stres, koji je evidentno prisutan tokom eksperimenta. Na broj bazofila u krvi utiče i reakcija na hemijsku supstancu aloksan, ali i anemija do koje dolazi u stanju vještački izazvanog dijabetesa.

Registrovano je blago povišenje eozinofilnih granulocita bez statističkog značaja kod pacova u stanju dijabetesa u odnosu na kontrole. Eozinofili učestvuju u alergijskim reakcijama tako što vrše fagocitozu i odstranjivanje kompleksa antigen–antitijelo. Broj monocita nije se značajnije promijenio, ali je došlo do neznatnog pada u odnosu na netretirane pacove. Pošto se monociti produkuju u koštanoj srži, bilo koja bolest koja utiče na koštanu srž može izazvati niži nivo monocita. Povećana koncentracija glukoze nastala kao rezultat djelovanja aloksana na Langerhansova ostrvca pankreasa dovodi do oksidativnog stresa. Stres je rezultat slobodnih radikala, koji narušavaju normalno funkcionisanje ćelija i izazivaju mnoga patološka stanja i bolesti. Tipičan primarni odgovor na stres jeste povećana sekrecija kateholamina (adrenalin) i kortikosteroida (kortizol). Kod pacova najveće promjene usljed djelovanja adrenalina jesu povećanje koncentracije glukoze i broja limfocita. Može se očekivati da će nakon djelovanja stresora na organizam doći do povećanja broja neutrofilnih granulocita, jer je opšteprihvaćeno da je neutrofilija fiziološki odgovor organizma na stres. Međutim, dominantna forma leukocita kod pacova su limfociti, te se može očekivati da će organizam djelovati promjenom broja limfocita. Limfocitoza predstavlja jednu od pratećih pojava stresa, a proporcionalno tome je i smanjenje procentualnog udjela ostalih formi leukocita tretirane grupe (Mahmutović i sar., 2013).

ZAKLJUČCI

U radu je ispitano djelovanje aloksanom indukovanih dijabetesa na hematološke parametre oba pola albino pacova Wistar soja. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti sljedeće:

- uspješno je izvršena indukcija dijabetesa intraperitonealnom aplikacijom aloksana,
- dijabetički organizmi imaju znatno više leukocita po litri krvi u odnosu na zdrave organizme,

- veći je broj limfocita kod tretiranih jedinki u odnosu na kontrolne,
- broj neutrofila i bazofila pokazuje tendenciju opadanja kod tretiranih jedinki u poređenju sa kontrolnom grupom,
- aloksanom indukovani dijabetes pacovima Wistar soja nije imao značajnijeg efekta na proporcionalnu zastupljenost eozinofila i monocita u ukupnom uzorku krvi.

ZAHVALNICA

Autori se zahvaljuju Ministarstvu za naučnotehnoški razvoj, visoko obrazovanje i informaciono društvo Republike Srpske i Prirodno-matematičkom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci (Republika Srpska, Bosna i Hercegovina) na finansijskoj pomoći.

LITERATURA

- 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), 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.
- 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), str.79–83.
- Asanga, E.E., Ebong, E.P., Eseyin, A.O., 2013. Hematological parameters of alloxan-induced diabetic rats treated with ethanol extracts and fractions of *Nauclea latifolia* leaf. *European Scientific Journal*, 9(27), str.203–210.
- Dallatu, M.K., Anaja, P.O., Bilbis, L.S., Mojiminiyi, F.B.O., Mohammed, A., Tanko, Y., 2010. Haematological and Antioxidant Properties of Alloxan-Induced Diabetes Rats Supplemented with Antioxidant Micronutrients. *Nigerian Journal of Basic and Applied Science*, 18(1), str.106–111.
- Dunn, J.S., Sheehan, H.L., McLetchie, N.G.B., 1943. Necrosis of islets of Langerhan's produced experimentally. *The Lancet*, 241(6242), str.484–487.
- Đeri, A., 2014. Efekti mineral trioksid agregata i kalcijum hidroksida na pulpu zuba pacova sa eksperimentalno izazvanim diabetes mellitusom tipa 1. Doktorski rad. Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci.
- 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.
- Georgewill, U.O., Georgewill, O.A., 2009. Effect of extract of *Pseudocedrela kotschyi* on blood glucose concentration of alloxan induced diabetic albino rats. *Eastern Journal of Medicine*, 14, str.17–19.
- Green, K., Brand, M.D., Murphy, M.P., 2004. Prevention of Mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes*, 53(1), str.110–118.
- 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 alloxan induced experimental diabetic rats. *Journal of King Saud University – Science*, 24, str.171–177.
- Ivanc, A., Dekić, R. 2006. *Praktikum opšte fiziologije životinja*. Banja Luka: Prirodno-matematički fakultet.
- Jain, D.K., Arya, R.K., 2011: Anomalies in alloxan-induced diabetic model: It is better to standardize it first. *Indian Journal of Pharmacology*, 43(1), str.91, Sažetak. DOI:10.4103/0253-7613.75684, Dostupno na: <https://www.ijp-online.com/text.asp?2011/43/1/91/75684>. [Pristupljeno 15. 03. 2019.].
- 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.
- Lenzen, S., 2008. The Mechanisms of Alloxan- and Streptozotocin-induced Diabetes. *Diabetologia*, 51(2), str.216–226.
- Lenzen, S., Panten, U., 1988. Alloxan: history and mechanism of action. *Diabetologia*, 31(6), str.337–342.
- 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. *The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice*, 18(1), str.21–32.
- 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. *Journal of Diabetes Research*, 2015(5), str.1-11, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/494578>.
- 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 alloxan-treated rats: a mechanisms for diabetic chronic liver disease. *Acta Cirurgica Brasileira*, 28(7), str.502–508.
- Magaš, S., 2010. Razvoj kroničnih komplikacija u dijabetičara i potencijalni učinak antioksidansa u hrani. *Kardio list*, 5(5-6), str.69-75.
- Mahmutović, L., Hasković, E., Suljević, D., Mitrašinović-Brulić, M., 2013. Efekt hipertermije na diferencijalnu krvnu sliku štakora (*Rattus norvegicus*). *Veterinaria*, 62(1–2), str.47–54.
- 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*, 33(5), str.537–547.

- 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.
- 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.
- Olurishe, C.O., Salawu, O.A., Zezi, A.U., Olurishe, T.O., Bisalla, M., 2013: Metformin-Cefixime Co-administration affects Glucose Regulation and Reno-Pancreatic Histology in Alloxan-induced Hyperglycemic Rats. *Journal of PharmaSciTech*, 3(1), str.43–50.
- Pankaj, P.P., Varma, M.C., 2013. Potential role of *Spirulina platensis* in maintaining blood parameteres in alloxan induced diabetic mice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), str.450–456.
- Rolo, A.P., Palmeira, C.M., 2006. Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 212(2), str.167–178.
- Rusov, Č., 1984: *Osnovi hematologije životinja*. Beograd: Naučna knjiga, Beograd.
- 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.
- Sharp, P., Villano, J., 2013. *The Laboratory Rat*, 2nd Edition. New York: CRC Press.
- Stanković, V.T., 2014: Uticaj kumarina (1,2-benzopirona) na krvnu sliku i histološku građu jetre Wistar pacova. Master rad. Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Nišu.
- Stilinović, N., 2013. Farmakološke, toksikološke i biohemijske osobine preparata gljive *Coprinus comatus*. Doktorski rad. Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet.
- Szkudelski, T., 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiological Research*, 50(6), str.537–546.
- Thrall, M.A., Weiser, G., Allison, R., Campbell, T.W., 2012. Mammalian hematology: laboratory animals and miscellaneous species. In: TW Campbell, ed. 2012. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Malden, Mass, USA: Blackwell Publishing; str. 225–237.
- WHO, 2011. Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in the diagnosis of *diabetes mellitus*. Abbreviated report of a WHO consultation. Dostupno na: http://www.who.int/diabetes/publications/report-hba1c_2011.pdf?ua=1.

Primljeno 07. 02. 2019.
Prihvaćeno 15. 05. 2019.