

UNIVERZITET U NOVOM SADU

Medicinski fakultet

Doktorske studije



**EFEKAT AKUTNOG IZLAGANJA PERORALNO UNETO
G AKRILAMIDA NA HISTOLOŠKE STRUKTURE ŽELUCA
PACOVA SOJA WISTAR**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor: prof. dr Matilda Djolai

Kandidat: asist. dr Jelena Ilić Sabo

Novi Sad, 2016. godina

UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Jelena Ilić Sabo
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	prof. dr Matilda Djolai, vanredni profesor Medicinskog fakulteta u Novom Sadu
Naslov rada: NR	Efekat akutnog izlaganja peroralno unetog akrilamida na histološke strukture želuca pacova soja Wistar
Jezik publikacije: JP	srpski/ latinica
Jezik izvoda: JI	srpski / engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2016.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Novi Sad, Hajduk Veljkova 3
Fizički opis rada: FO	7 poglavlja, 139 stranica, 10 slika, 20 grafikona, 43 tabele i 218 referenci
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Patologija, Histologija

Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Akrilamid + toksičnost; Karcinogeni; Pacovi soja Wistar; Epitelne ćelije; Gastrična mukoza; Inflamacija; Nervna degeneracija; Ćelijska Degranulacija; Mucini
UDK	616.34-091.8:612.085.1 614.878:547.398.111
Čuva se: ČU	U biblioteci Medicinskog fakulteta, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad
Važna napomena: VN	

Izvod: IZ	Akrilamid je toksična hemijska supstanca koja ima vrlo široku primenu u hemijskoj industriji, a 2002. godine otkriveno je njegovo prisustvo u namirnicima bogatim škrobom koje se pripremaju na visokim temperaturama. U poslednjih desetak godina primećen je veliki porast gastrointestinalnih tegoba u ljudskoj populaciji. Cilj istraživanja bio je ispitati patohistološke promene u tkivu želuca pacova soja Wistar izazvanih peroralnim aplikovanjem akrilamida i na taj način povući paralelu sa mogućim gastrointestinalnim tegobama nastalim kao posledica konzumiranja hrane bogate akrilamidom. U istraživanju je ispitivano 6 grupa od po 5 eksperimentalnih životinja (pacovi soja Wistar). Dve kontrolne grupe kojima je peroralno aplikovana destilovana voda i koje su žrtvovane posle 24h i 72h; dve eksperimentalne kojima je peroralno aplikovan akrilamid u dnevnoj dozi od 25 mg/kg i koje su žrtvovane posle 24h i 72h; dve eksperimentalne grupe kojima je peroralno aplikovan akrilamid u dnevnoj dozi od 50 mg/kg i koje su žrtvovane posle 24h i 72h. Na histološkom materijalu tkiva želuca primenjena je kvalitativna histološka analiza pod svetlosnim mikroskopom, semikvantitativna procena tipa mucina u epitelnim ćelijama sluznice želuca, prisustvo limfocita i granulocita u sluznici želuca, stereološka merenja pojedinih kompartmana zida želuca, linearna merenja broja i veličine ganglijskih ćelija u Maissner-ovom i Auerbach-ovom nervnom pleksusu,
----------------------	--

	kao i broj mastocita u lamini propriji sluznice i podsluznici želuca. Dobijene vrednosti merenih parametara su potom statistički obrađene. Nastale promene na tkivu želuca pacova soja Wistar se ogledaju u vidu blagog direktnog oštećenja površnog epitela sa propratnom blagom inflamatornom reakcijom i blagom degranulacijom mastocita. U Maissner-ovom i Auerbach-ovom nervnom pleksusu su smanjene volumenske gustine nervnih vlakana i ganglijskih ćelija, kao i broj i veličina ganglijskih ćelija. Direktno toksično delovanje na epitel dovodi do posledične obnove epitela, te je potvrđeno prisustvo nezrelih oblika mukoproduktivnih ćelija koje sadrže kisele, AB pozitivne mucine. Ispitani inflamatorni i degenerativni parametri pokazuju pozitivnu korelaciju u odnosu na dozu i/ili dužinu ekspozicije akrilamidu. Primena akrilamida peroralno pokazala je da postoje patohistološke promene na tkivu želuca u vidu direktnog toksičnog oštećenja epitela, inflamatorne reakcije i oštećenja nervnih pleksusa. Poznavanjem mehanizma delovanja ove toksične materije moguće je primeniti adekvatnu prevenciju u ishrani i izvršiti odgovarajući izbor terapijskih metoda.
Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	27.03.2015.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: član: član: član: član:

University of Novi Sad
CIMSI
Key word documentation

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	Ph.D Thesis, Medical faculty
Author: AU	Jelena Ilić Sabo
Mentor: MN	Prof. Matilda Djolai, MD, PhD
Title: TI	The effect of acute exposure to orally ingested acrylamide on histological structure of stomach in Wistar rats
Language of text: LT	Serbian (latin)
Language of abstract: LA	english / serbian
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2016
Publisher: PU	Author reprint
Publication place: PP	Novi Sad, Hajduk Veljkova 3
Physical description: PD	Ph.D Thesis contents: chapters: 7; pages: 139; pictures 10; graphs: 20; tables: 43; literature 218
Scientific field SF	Medicine

Scientific discipline SD	Pathology, Histology
Subject, Key words SKW	Acrylamides + toxicity; Carcinogens; Rats, Wistar; Epithelial Cells; Gastric Mucosa; Inflammation; Nerve Degeneration; Cell Degranulation; Mucins
UC	616.34-091.8:612.085.1 614.878:547.398.111
Holding data: HD	Library of Medical Faculty Novi Sad, Serbia, Hajduk Veljkova 3
Note: N	
Abstract: AB	Acrylamide is a toxic chemical substance with wide implementation in chemical industry. In 2002 it was discovered the presence of acrylamide in foods rich in starch which are prepared at high temperatures. In the last ten years there is a large increase in gastrointestinal illnesses in human population. The aim of this study was to investigate the histopathological changes in the gastric tissue in Wistar rats induced with injection of oral acrylamide and thus draw a parallel with possible gastrointestinal problems arising as a result of the consumption of foods rich in acrylamide. The research was carried out 6 groups of 5 experimental animals (Wistar rats). Two control groups that are orally concomitant application of distilled water and which were sacrificed after 24h and 72h; two experimental groups which are orally administrated acrylamide in a daily dose of 25 mg / kg and that were sacrificed after 24h and 72h; two experimental groups which were orally administrated acrylamide in a daily dose of 50 mg / kg and that were sacrificed after 24h and 72h.

	On histological gastric tissue material is applied qualitative histological analysis by light microscopy, semi-quantitative assessment of the type of mucin in epithelial cells of the stomach lining, the presence of lymphocytes and granulocytes in gastric mucosa, stereological measurements of individual compartments of the stomach wall, linear measuring the number and size of ganglion cells in the Meissner and Auerbach's nerve plexus, and the number of mast cells in the lamina propria of the mucosa and in the submucosis of the stomach. Obtained values of measured parameters were statistically processed. Histological changes in the stomach tissue of Wistar rats are seen as a direct slight damage of the surface epithelium, with accompanying mild inflammatory reaction and the degranulation of mast cells. The Meissner's and Auerbach's nerve plexus decreased volume density of nerve fibers and ganglion cells, as well as the number and size of the ganglion cells. Directly toxic effect on epithelium leads to the result of the reconstruction of the epithelium, which is confirmed by the presence of immature form of mucoproduktive cells which contain acid, AB positive mucins. Examined inflammatory and degenerative parameters show a positive correlation with respect to dose and / or a time of exposition to acrylamide. Acrylamide oral application revealed that there are histologic changes in the stomach tissue in the form of a direct toxic damage to the epithelium, inflammatory reaction and damage to the nerve plexus. Knowing the mechanism of action of these toxic substances allows to apply adequate prevention in nutrition and make an appropriate choice of therapeutic methods.
Accepted on Scientific Board on: AS	27.03.2015.
Defended: DE	

Thesis Defend Board: DB	<u>president:</u> <u>member:</u> <u>member:</u> <u>member:</u> <u>member:</u>
----------------------------	---

SINE MOJ

Bistar pogled gleda pravo.
„Sine, ne smeš to dirati!“
„Da, da, da!“ ,odgovor je njegov,
čeka pljesak i uzvik „Bravo!“

Sine, kad se voli jako,
nekada se mora reći: „Ne!“
Ima zašto je to tako...

Jer, život nije samo sreća čista,
tuga je ta koja tera čoveka da zablista.
Teško se uči bez muke i znoja,
a kad se pomuči, zasluga je tvoja.

Jing plus jang, to je mera prava,
jedno bez drugog nije situacija zdrava.
Bitno je gledat u pravi putokaz,
tako ćeš izbeći u životu jaz.

Sine moj, posrnuti i pasti nije sramota,
ustati ponovo, na noge stati, to je divota!
Veru u srcu imati, jako je važno,
i onda ništa nije neostvarivo i lažno.

Granice svega postavljamo sami,
sa suviše barijera, čučaćemo u tami.
Oslobodi duh i telo, leti visoko,
na te će uvek paziti mamino i tatino, ljubavi puno oko.

Budi šta god želiš,
ali ne zaboravi ljubav i dobrotu da deliš.
Jer, titule i zvanja mnoga,
nisu ništa bez poštenja i morala tvoga!

Posvećeno mom Albertu, izvoru moje snage i inspiracije

Zahvalnost pre svih dugujem mojoj majci, jer smo zajedno pisale ovaj rad, ona čuvajući moje dete, a ja mirna i skonnscentrisana, jer znam da je dete u sigurnim rukama;

Mom ocu, jer ima razumevanja i strpljenja;

Mojoj mentorki, za uloženo znanje i trud;

Doc. Vesni Rajković za izuzetnu spremnost da mi pruži mentorsku podršku, koju sam imala prilike da osetim za vreme kratke saradnje s njom;[†]

Mom šefu katedre, prof. dr Dušanu Laloševiću za podršku koju pruža svim mlađim članovima katedre;

Prof. Milici Matavulj za svaki razgovor koji me je stručno inspirisao i dao još veći polet;

Svim mojim kolegama i prijateljima koji su bili tu za mene i kad zapnem da se našalimo, nasmejemo i „napunimo baterije“ za novi korak napred!

Veti, jer mi je rekla: „Dobro Jelena, a kad misliš doktorat?!“

I na kraju mom saborcu i drugu, mojoj najvećoj ljubavi, mom Robertu, s kojim delim svo dobro i zlo, jer je uvek tu; za taj zumbul što miriše u vazi i za kafu koju ne pije, ali je naučio da napravi samo za mene...

HVALA VAM

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
1.1.	Anatomska građa želuca.....	1
1.2.	Histološka građa želuca.....	2
1.2.1.	Fundus et corpus ventriculi.....	3
1.2.2.	Cardia	6
1.2.3.	Pylorus.....	7
1.3.	Regeneracija sluznice želuca.....	8
1.4.	Mastociti.....	9
1.5.	Osnovni pojmovi o akrilamidu.....	11
1.5.1.	Fizičke i hemijske karakteristike akrilamida.....	11
1.5.2.	Proizvodnja i upotreba akrilamida.....	14
1.5.3.	Otkriće akrilamida u namirnicama	14
1.5.4.	Malardova reakcija.....	17
1.5.5.	Postojanost akrilamida u prirodi.....	19
1.5.6.	Načini izlaganja akrilamidu.....	19
1.5.7.	Metabolizam akrilamida.....	20
1.5.8.	Efekti akrilamida na organizam.....	21
1.5.9.	Biomarkeri za detekciju izlaganja akrilamidu.....	25
1.6.	Ispitano dejstvo akrilamida na želudac i značaj studije.....	26
1.7.	Kvantitativna merenja u histologiji i patohistologiji.....	28
1.7.1.	Linearna merenja u mikroskopiji.....	28
1.7.2.	Stereološka merenja u mikroskopiji.....	29

2.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE.....	31
2.1.	Ciljevi.....	31
2.2.	Hipoteze.....	33
3.	MATERIJAL I METODE.....	34
3.1.	Preparat akrilamida.....	34
3.2.	Eksperimentalne životinje.....	34
3.3.	Uzorkovanja i histološka obrada materijala.....	35
3.4.	Analize.....	37
3.4.1.	Histološka analiza uzoraka svetlosnim mikroskopom.....	37
3.4.2.	Semikvantitativna analiza.....	37
3.4.3.	Stereološka analiza.....	38
3.4.4.	Linearna merenja.....	39
3.5.	Statistička obrada podataka.....	40
4.	REZULTATI.....	41
4.1.	Kvalitativna histološka analiza.....	41
4.2.	Semikvantitativna histološka analiza.....	47

4.2.1. Semikvantitativna histohemijska procena tipa mucina.....	47
4.2.2 Semikvantitativna procena inflamatornog odgovora.....	50
4.2.2.1. Semikvantitativna procena prisustva limfocita.....	50
4.2.2.2. Semikvantitativna procena prisustva granulocita.....	51
4.3. Rezultati stereoloških merenja.....	53
4.3.1. Volumenska gustina sluznice (tunike mukoze).....	53
4.3.2. Volumenska gustina površnog epitela.....	55
4.3.3. Volumenska gustina žlezda.....	57
4.3.4. Volumenska gustina lamine proprije.....	59
4.3.5. Volumenska gustina lamine muskularis.....	61
4.3.6. Volumenska gustina podsluznice.....	63
4.3.7. Volumenska gustina mišićnog sloja.....	65
4.3.8. Volumenska gustina ćelija u mitozu.....	67
4.3.9. Volumenska gustina nervnih pleksusa.....	69
4.3.9.1. Volumenska gustina submukoznog nervnog pleksusa.....	69
4.3.9.2. Volumenska gustina mienteričnog nervnog pleksusa.....	71
4.3.10. Volumenska gustina ganglijskih ćelija.....	73
4.3.10.1. Volumenska gustina ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu.....	73
4.3.10.2. Volumenska gustina ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu.....	75
4.3.11. Volumenska gustina pgp-pozitivnih endokrinih ćelija.....	77
4.4. Numerička gustina pgp-pozitivnih endokrinih ćelija.....	79
4.5. Linearna merenja.....	81
4.5.1. Prosečan broj ganglijskih ćelija po jedinici linearne dužine.....	81
4.5.1.1. Prosečan broj ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu.....	81
4.5.1.2. Prosečan broj ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu.....	83
4.5.2.1. Prosečna veličina ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu.....	85

4.5.2.2. Prosečna veličina ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu...	87
4.5.3. Prosečan broj intaktnih mastocita po jedinici površine.....	89
4.5.3.1. Prosečan broj intaktnih mastocita u lamini propriji mukoze po jedinici površine.....	89
4.5.3.2. Prosečan broj intaktnih mastocita u submukozi po jedinici površine.....	90
4.5.4. Prosečan broj degranulisanih mastocita po jedinici površine.....	91
4.5.4.1. Prosečan broj degranulisanih mastocita u lamini propriji mukoze po jedinici površine.....	91
4.5.4.2. Prosečan broj degranulisanih mastocita u submukozi po jedinici površine.....	92
4.6. Korelacije.....	93
4.6.1 Korelacije parametara dobijenih semikvantitativnom histološkom analizom.....	93
4.6.2. Korelacije vrednosti semikvantitativnih parametara u odnosu na parametre analizirane stereološkim i linearnim merenjima.....	94
4.6.3. Međusobna korelacija parametara dobijenih stereološkim merenjima.....	98
4.6.4. Korelacija parametara dobijenih stereološkim merenjima sa parametrima linearnih merenja.....	100
4.6.5. Međusobna korelacija parametara dobijenih linearnih merenjima.....	104
 5. DISKUSIJA.....	105
 6. ZAKLJUČAK.....	116
 7. LITERATURA.....	117
 LISTA SKRAĆENICA.....	137

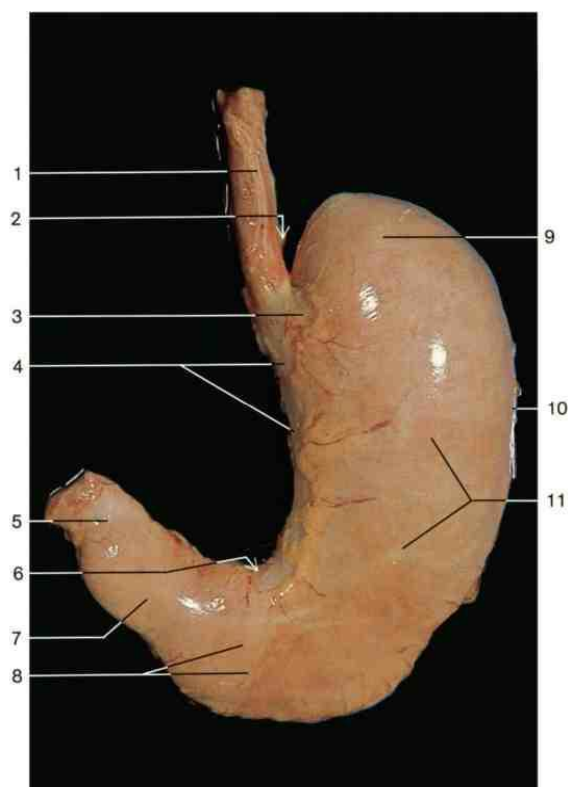
1. UVOD

1.1. ANATOMSKA GRAĐA ŽELUCA

Želudac je organ koji pripada digestivnom sistemu. Anatomske je predstavljen kesastim proširenjem koje se nastavlja na jednjak svojim proksimalnim delom, dok se distalnim delom nastavlja početnim delom tankog creva- duodenumom.

Anatomske, želudac je građen iz četiri regije (slika 1):

- kardija
- fundus (dno)
- korpus (telo)
- pilorus



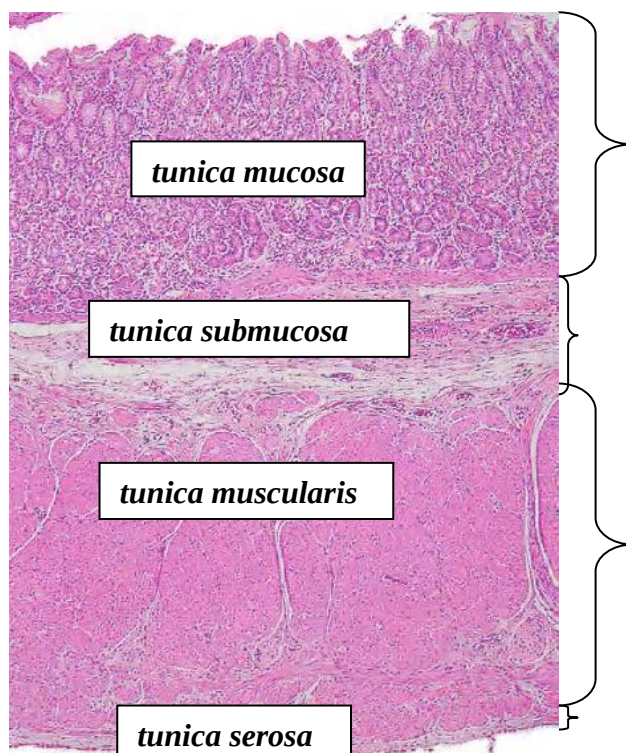
Slika 1. Anatomska građa želuca (1)

1. Jednjak
2. Kardijalni urez
3. Kardija
4. Mala krivina želuca
5. Pilorični sfinkter
6. Angularna incizura
7. Pilorični kanal
8. Pilorični antrum
9. Fundus (dno) želuca
10. Velika krivina želuca
11. Telo želuca

Kardija je početni deo želuca predstavljen prstenom. Pilorični deo želuca, koji je ujedno i njegov završni deo, sastoji se od proširenja-antruma i piloričnog kanala. Anatomske ivice želuca su velika i mala krivina (*curvatura ventriculi major et minor*). Posmatrajući unutrašnju površinu želuca, na njoj se razlikuju nabori (*rugae*), posebno izraženi u predelu fundusa. Nabori iščezavaju sa prisustvom želudačnog sadržaja. Na površini želuca se uočavaju i bradavičasta ispupčenja (*areae gastricae*), kao i brazde između njih u vidu jamica (*foveolae gastricae*) (2, 3).

1.2. HISTOLOŠKA GRAĐA ŽELUCA

Pojedini anatomski delovi želuca imaju i specifičnu histološku građu, te tako u opisu histološke građe želuca razlikujemo: *fundus* i *corpus* želuca (koji imaju isti tip histološke građe), *cardiu* i *pilorus*. Osnova građe svih anatomskih delova želuca se sastoji iz centralne šupljine i zida koga izgrađuju četiri sloja (slika 2.):



Slika 2. Histološka građa zida želuca-osnovni slojevi (4)

1. Sluznica (tunica mucosa), izgrađena od podslojeva:

- lamina epithelialis mucosae (epitel)
- lamina propria mucosae (rastresito vezivno tkivo)
- lamina muscularis mucosae (mišićni sloj sluznice)

2. Podsluznica (tunica submucosa)

3. Mišićni sloj (tunica muscularis)

4. Spoljašnji sloj (tunica serosa)

1.2.1. FUNDUS ET CORPUS VENTRICULI

Sluznica (tunica mucosa)- kao što je već ranije predstavljeno izgrađena je od tri sloja koje čine epitel, lamina propria i mišićni sloj sluznice. Posmatrajući površinu sluznice, uočavaju se želudačne jamice (*foveolae gastricae*), levkasta udubljenja, kojih na površini želuca ima oko 3,5 miliona. Ova levkasta udubljenja zauzimaju do 1/4 debljine sluznice želuca, i u njihovom dnu otvaraju se glavne želudačne žlezde. Najčešće se u jednoj jamici otvara 3-5 glavnih želudačnih žlezda (*glandulae gastricae propriae*), kojih ima oko 15 miliona.

Glavne želudačne žlezde su proste tubularne žlezde, sa dve do tri grane. Građa žlezde je predstavljena sledećim delovima:

- vrat-suženi deo kojim se žlezda otvara u dno foveole
- telo- najveći deo žlezde, idući od vrata naniže ka bazi
- baza-donji deo žlezde koji naleže na laminu muskularis mukoze.

Površina želuca i želudačnih jamica prekrivena je prostim jednoslojnim cilindričnim epitelom, sastavljenim od jedne vrste ćelija-površne mukusne ćelije.

Površne mukusne ćelije su cilindričnog oblika, visine između 20 i 40 μm , sa ovalnim heterohromatičnim jedrom, postavljenim bliže bazalnom sloju. Apikalna površina ćelije ispunjena je osmofilnim i PAS (Periodic Acid Schiff) pozitivnim mucigenim kapljicama, koje na apikalnom polu ćelije otpuštaju glikozaminoglikane. Mucin u debelom sloju oblaže površinu sluznice, štiteći je na taj način od mehaničkog dejstva hrane i HCl (hlorovodonične kiseline) iz želudačnog soka. Život površnih mukusnih ćelija je oko četiri dana.

Glavne želudačne žlezde izgrađene su od epitela sastavljenog iz sledećih vrsta ćelija:

- vratne mukusne ćelije
- matične ćelije
- glavne (pepsinogene) ćelije
- ivične (parijetalne) ćelije
- endokrine (enteroendokrine) ćelije

Vratne mukusne ćelije lokalizovane su u najvećim delom u predelu vratu i delom u telu glavnih gastričnih žlezda. Po građi i sadržaju vrlo su slične površnim mukusnim ćelijama, ali su nešto kraće i nezrelije od njih. Mukus je rastvorljiv, bogat sulfatisanim glikoproteinima. Život vratnih mukusnih ćelija je oko sedam dana.

Matične ćelije smeštene su u vratu glavnih želudačnih žlezda. Proliferacijom i diferencijacijom ovih ćelija nastaju sve ostale ćelije, kako žlezdanog, tako i površnog epitela želuca. Njihov broj je mali. Citoplazma matičnih ćelija je bogata poliribozomima, a jedro sadrži prominentno jedarce.

Glavne (pepsinogene) ćelije najbrojnije su ćelije žlezdanog epitela želuca. Kockastog su oblika, smeštene su u donjim polovinama glavnih želudačnih žlezda. Poseduju okruglo jedro, bazalno postavljeno. Bazofilne su ćelije, a bazofilnost vodi poreklo od velike količine, kako

slobodnih ribozoma, tako i granulisanog endoplazmatskog retikuluma u citoplazmi ovih ćelija. Ove ćelije proizvode zimogene granule, koje se oslobađaju na apikalnom polu i sadrže neaktivan proenzim pepsinogen. Pepsinogen se konvertuje u pepsin uz sadejstvo HCl iz želučanog soka. Pepsin je proteolitički enzim. Glavne ćelije proizvode i malu količinu lipaze (enzima koji razlaže masti).

Ivične (parijetalne) ćelije su smeštene u gornjoj polovini glavnih želučnih žlezda. Okruglastog su ili piramidalnog oblika, veličine 20-35 µm. Apikalni polovi ovih ćelija uklješteni su između susednih ćelija. Poseduju veliki broj mitohondrija (što daje osmifilnost ćelijama), kao i jedno do dva centralno postavljena jedra. Invaginacijom apikalne plazmaleme formiraju se intracelularni kanalići širine 1 do 2 µm, koji komuniciraju sa lumenom želučne žlezde. Ispod apikalne plazmaleme nalaze se tubulovezikularne strukture. Aktivacijom parijetalnih ćelija tubulovezikularne strukture se fuzionišu sa apikalnom membranom, stvarajući brojne mikrovile koje povećavaju površinu sekretornog dela ćelije. Glavna funkcija parijetalnih ćelija jeste u lučenju HCl i unutrašnjeg faktora. Uloga HCl je baktericidna i u postizanju sterilizacije želučanog sadržaja. Unutrašnji (*intrinsic*) faktor je glikoprotein neophodan za apsorpciju vitamina B12. Nedostatak unutrašnjeg faktora dovodi do perniciozne anemije.

Endokrine (enteroendokrine) ćelije su po obliku, veličini i sastavu granula varijabilne. U glavnim želučanim žlezdama se najčešće nalaze u bazi. Poligonalnog su ili ovalnog oblika, jдро im je smešteno u apikalnom delu ćelije. Ove ćelije u apikalnom delu mogu biti uklještene između susednih ćelija (ćelije zatvorenog tipa) ili im apikalni deo doseže do lumena žlezda (ćelije otvorenog tipa). U bazalnom delu ćelije nalaze se osmifilne granule koje svoj sadržaj ubacuju u kapilare lamine proprie. Produkti ovih ćelija su hormoni, neurotransmiteri, kao i druge supstance sa parakrinim delovanjem. U antrumu želuca se u najvećem procentu luči gastrin, serotonin i somatostatin, dok se u telu želuca u najvećoj meri luči histamin.

Lamina propria mucosae je sloj rastresitog vezivnog tkiva koji se nalazi oko želučnih žlezda. Sastoji se od retikulinskih vlakana u najvećoj meri, od bogate mreže krvnih sudova, fibroblasta, limfocita, plazmocita i makrofaga.

Lamina muscularis mucosae je glatkomišićni sloj koji ulazi u sastav sluznice. Sastoji se od dva podsloja, od kojih je unutrašnji kružni, a spoljašnji sa uzdužno orijentisanim mišićnim vlaknima.

Podsluznica (*tunica submucosa*) predstavlja sloj gušćeg rastresitog vezivnog tkiva koje se nalazi između sluznice i mišićnog sloja. U njoj se nalaze i veći krvni i limfni sudovi, kao i submukozni (*Maissneir*) nervni splet koji inerviše krvne sudove podsluznice i glatke mišiće sluznice.

Mišićni sloj (*tunica muscularis*) predstavlja sloj glatkog mišićnog tkiva organizovanog u tri sloja. Unutrašnji sloj čine mišićna vlakna postavljena koso, središnji sloj su cirkularno postavljena mišićna vlakna, a spoljašnji su uzdužno orijentisana. Spoljašnji sloj glatkomišićnih vlakana najbolje je razvijen u predelu krivina želuca, dok ne prednjoj i zadnjoj strani pretežno nedostaje. Muskularni sloj oživčava mienterični splet (*Auerbach*), koji se nalazi u vezivnom tkivu između slojeva mišićnih ćelija.

Seroza je visceralni list peritoneuma.

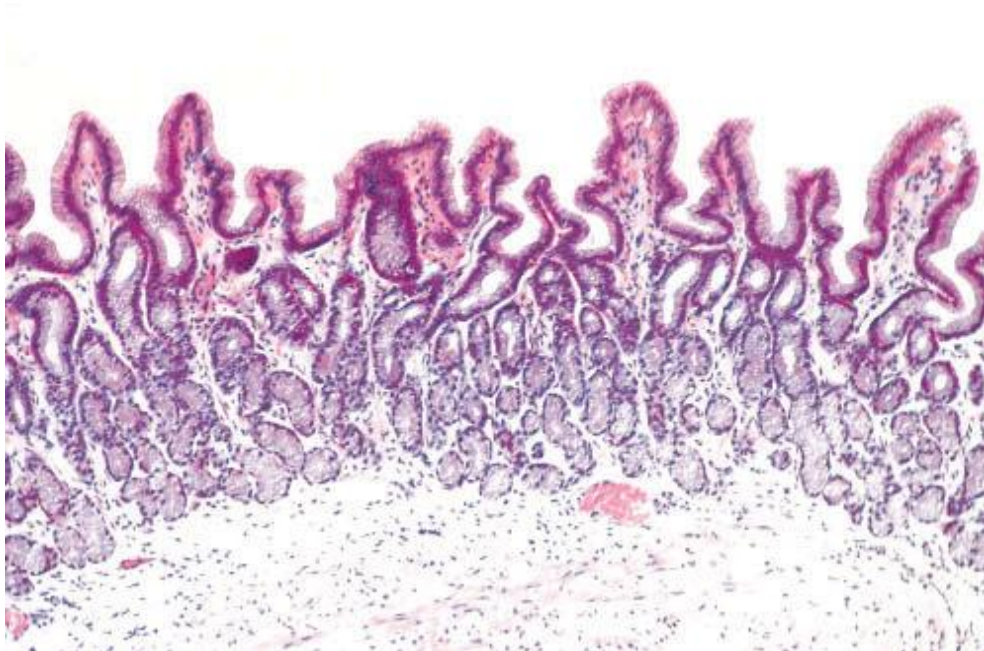
1.2.2. **CARDIA**

Pars cardiaca ventriculi predstavlja deo želuca koji se nastavlja na jednjak. Prelaz se na sluznici prikazuje nazupčenom linijom (*ora serrata*), čija je odlika nagla smena pločasto slojevitog epitela bez orožavanja u jednoslojan cilindrični epitel želuca. Ovaj anatomski deo želuca predstavljen je prstenastim poljem dužine od 1 do 3 cm. Histološka građa zida je skoro u potpunosti ista, kao i građa ostalih delova zida želuca, ali ima pojedinih osobenosti koje se odnose na građu sluznice.

U sluznici kardijske prisutne su kardijalne žlezde (*glandulae cardiacae*). Ove žlezde su tubularne, razgranate i izuvijane, dobro razvijenog lumena. Izlučuju svoj sadržaj u želudačne foveole, dosta su plitke u odnosu na debljinu sluznice. Produkt kardijalnih žlezda je mukus bogat lizozimom i neorganskim jonima. Kardijalne žlezde su izgrađene od mukusnih ćelija, retkih endokrinih i ivičnih ćelija.

1.2.3. PYLORUS

Pars pylorica ventriculi predstavlja završni deo želuca koji se nastavlja duodenumom. Anatomski se sastoji iz pilorusnog antruma i piloričnog kanala. Histološka građa pilorusnog antruma i kanala je ista, sa razlikom da je cirkularni mišićni sloj (*m. sfincter pylori*) u zidu piloričnog kanala izuzetno naglašen, izgrađujući pilorični sfinkter.



Slika 3. Sluznica antralnog dela želuca (4)

Specifičnost u građi sluznice je u prisustvu specifičnih piloričnih žlezda (*glandulae pyloricae*). Pilorične foveole zauzimaju čak i do 2/3 debljine sluznice, a pilorične žlezde su po obliku tubularne, razgranate i izuvijane, slične kardijalnim. Epitel žlezda grade mukusne, endokrine ćelije i matične ćelije. Sekret piloričnih žlezda su mukus i lizozim, dok endokrine ćelije pretežno proizvode gastrin, jedan od glavnih stimulatora sekrecije HCl (5, 6, 7).

1.3. REGENERACIJA SLUZNICE ŽELUCA

U okviru normalnih funkcija sluznice želuca prisutna je stalna obnova epitela. Obnova celokupnog epitela moguća je zahvaljujući postojanju matičnih-stem ćelija. Matične ćelije su lokalizovane u predelu vrata želudačne žlezde, u takozvanoj proliferativnoj, odnosno regenerativnoj zoni. Iz proliferativne zone, novonastale ćelije površnog epitela migriraju ka površini, dok ćelije žlezdanog epitela migriraju naniže. Za obnovu i sazrevanje ćelija površnog epitela potrebno je svega nekoliko dana, dok je za obnovu žlezdanog epitela potrebno više vremena: endokrine ćelije- nekoliko nedelja, glavne i parijetalne ćelije-nekoliko stotina dana.

Jedna od osnovnih uloga foveolarnog epitela i vratnih mukusnih ćelija je produkcija mucina. Mucin je glikoprotein izgrađen iz centralnog proteinskog jezgra i bočnih lanaca ugljenih hidrata. U normalnom želucu, mucini su neutralni, PAS pozitivni i Alcian plavo negativni. Ipak vratne mukusne ćelije mogu sadržati malu količinu kiselih mucina, koji se svetlo boje Alcian plavo, s obzirom da je to proliferativna zona u kojoj se stvaraju nove epitelne mukusne ćelije, a nezreli mucini su kiselog karaktera i boje se Alcian plavo. Kvalitet mucina se menja u zavistnosti od stanja sluznice želuca-kod pojačane regeneracije površnog epitela zbog povećanja obnove, ćelije ne mogu tolikom brzinom da sazrevaju te se povećava količina nezrelih ćelija i samim tim pojava kiselih mucina u njima. Patološka stanja, kao što su metaplazija i pojava karcinoma takođe je praćena pojavom kiselih mucina (23).

1.4. MASTOCITI

Mastociti su grupa imunih ćelija koje vode poreklo iz kostne srži, od prekursora ćelija koje vrše ekspresiju CD34 molekula (8,9). Veličine su između 15µm i 25 µm, ovalnog do okruglog oblika, sa tipično ekscentrično postavljenim jedrom (8). Najveći volumen ćelije zauzimaju metahromatske citoplazmatske granule veličine između 0,3-0,8 µm (8,10). Funkcija mastocita ispoljava se nakon njihove aktivacije, posle čega oni u okolno tkivo oslobađaju sadržaj svojih granula. Degranulacija mastocita može biti stimulirana direktnom povredom, opioidima, alkoholom, određenim antibioticima (polimiksin), anti-IgE (imunoglobulin E), jonoforima, supstancom P, VIP (vazoaktivni intestinalni peptid), C5a, C3a, somatostatinom, morfinom, pepstatinom, proteinima niske molekulske gustine (8, 11). Aktiviran mastocit može osloboditi mnoge medijatore: histamin, heparin, triptaza, himaza, karboksipeptidaza, eikozanoidi, faktor aktivacije trombocita. Mastociti takođe mogu sintetisati interleukine, TNFα (tumor necrosis factor α), GM-CSF (granulocitno-makrofagni faktor stimulacije kolonija), faktor stem ćelija MCP-1, 3, 4 (makrofagni hemotaksični peptid) (8). Mastociti su lokalizovani u vezivnom tkivu dermisa, u mukozi i submukozi gastrointestinalnog trakta, konjuktivi, respiratornom sistemu i srcu (10, 12). Zdrava lamina propria digestivnog trakta sadrži oko 2-3% mastocita (13).

Fiziološka funkcija urođenog i stečenog imuniteta se realizuje kroz funkciju mastocita u reakciji hiperosetljivosti tip I, kroz razne nealergijske bolesti i neuroinflamatorna stanja uzrokovana stresom (14). Funkcija mastocita se ogleda kroz isceljenje rana i reparaciju kože (15, 16), kao i kroz odbranu mukoze digestivnog sistema (17). Postoje navodi da mastociti igraju ulogu u nekim virusnim oboljenjima, kao što je bolest izazvana Newcastle virusom (18). Razne bolesti gastrointestinalnog sistema su povezane sa aktivacijom mastocita kao što su: parazitarne infekcije (19), sindrom iritabilnog kolona (20, 21), Kronova bolest (8), gastroezofagealni refluks, čir želuca, funkcionalna dispepsija, inflamatorne bolesti kolona, alergija na hranu (20) kao i hronični *Helikobakter* pozitivni gastritis (10). Smatra se da većina ovih bolesti gastrointestinalnog trakta nastaje kao posledica poremećene ravnoteže mozak-creva osovine. Povećan nivo stresa izaziva povećanu permeabilnost creva, visceralnu osetljivost i poremećaj motiliteta creva, koji aktiviraju mastocite i rezultuju u oslobađanju proinflamatornih medijatora (20). Osim ovih uloga mastociti takođe doprinose i rastu tumora kroz angiogenezu, kao i kroz remodelovanje i imunomodulaciju (22).

Mastociti se dobro uočavaju na bojenjima toluidin plavim, gde se uočavaju razlike između intaktnih i degranulisanih mastocita. Intaktni mastociti se na presecima bojenim toluidin plavim razlikuju od ostalih ćelijskih tipova lamine proprije i submukoze po ovalnom ili okruglom ćelijskom obliku uz izraženo prisustvo tamno-plave citoplazme. Degranulisani mastociti se na presecima bojenim toluidin plavim razlikuju od intaktnih mastocita po smanjenju metahromatske reakcije i po morfološkim znacima degranulacije.

1.5. OSNOVNI POJMOVI O AKRILAMIDU

Prva saznanja o akrilamidu potiču iz 1893. godine, kada ga je u Nemačkoj, Moureu prvi proizveo. Godine 1952., sprovode se opsežna istraživanja u vezi proizvodnje i upotrebe akrilamida, da bi se, dve godine kasnije-1954., počelo sa njegovom komercijalnom upotrebom (24).

Najšira upotreba akrilamida je u hemijskoj industriji, te ga s pravom nazivaju industrijskom hemikalijom (25).

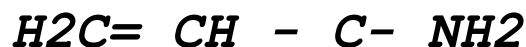
1.5.1. FIZIČKE I HEMIJSKE KARAKTERISTIKE AKRILAMIDA

Akrilamid je hemijska supstanca dostupna u čvrstom kristalnom stanju ili u vidu 30-50% vodenog rastvora. Akrilamid je supstanca bez mirisa, bele boje ili bezbojna (26, 27). Za njegov naziv koristi se više sinonima: akrilamidna kiselina, akrilični amid, etilenkarboksamid, propenamid, vinil amid i dr. (28, 29).

Strukturna hemijska formula akrilamida je (28):

O

II



Hemijske i fizičke osobine akrilamida se mogu videti u tabeli 1:

Tabela 1. Hemijske i fizičke osobine akrilamida (30-32)

Molekularna formula	C ₃ H ₅ NO
Fizičko stanje	bele boje, kristalno čvrst
Tačka topljenja	125 °C
Tačka ključanja	1.122 g/cm ³ na 3.33 kPa
Pritisak pare	0.009 kPa na 25 °C
Gustina	2150 g/l na 30 °C
Rastvorljivost u vodi	2150 g/l na 30 °C

Akrilamid ima veliku sposobnost izuzetno brzog reagovanja, te se vrlo brzo iz monomera akrilamida na vazduhu stvaraju polimeri sa sasvim drugačijim karakteristikama i njihovom vrlo opsežnom primenom u industriji (33).

Rastvorljiv je u vodi i drugim organskim rastvaračima, a tabela 2, prikazuje rastvorljivost u pojedinim organskim rastvaračima.

Tabela 2: Rastvorljivost akrilamida u organskim rastvaračima (24)

Rastvarač	g/100 mL na 30° C
Voda	215.5
Metanol	155
Dimetil sulfoksid	124
Dimetil formamid	119
Etanol	86.2
Aceton	63.1
Piridin	61.9
Acetonitril	39.6
Etilen glikol monobutil etar	31
Dioksan	30
Etil acetat	12.6
Hloroform	2.66
1,2-Dihloroetan	1.50
Benzen	0.35
Karbon tetrahlorid	0.038
<i>n</i> -Heptan	0.0068

1.5.2. PROIZVODNJA I UPOTREBA AKRILAMIDA

Proizvodnja i upotreba akrilamida u rasponu od 1992. do 2009. godine se povećavala i širila. Do 2009. godine bilo je poznato preko 30 proizvođača akrilamida širom sveta (30, 32).

Kao što je već napomenuto, akrilamid se nalazi u vidu monomera, kada je izuzetno toksičan, dok se u hemijskoj industriji koristi u vidu polimera, gde je njegova toksičnost neuporedivo manjeg stepena (33, 34). Upotreba akrilamida je izuzetno široka. Koristi se kao osnova za pravljenje ambalaže za namirnice (35), kontaktnih sočiva (zbog izuzetno dobrih osobina hemijske osnove) (36), aditiva za namirnice (37), za proizvodnju lepka, papira i kozmetičkih proizvoda (38). Poliakrilamid se koristi za tretiranje vode za piće, kao i za otklanjanje pojedinih materija iz otpadnih voda. Još jedna oblast gde se intenzivno koristi je građevinarstvo, gde se upotreba bazira na pravljenju temelja pri konstrukciji brana i tunela (38).

1.5.3. OTKRIĆE AKRILAMIDA U NAMIRNICAMA

Pronalazak akrilamida u namirnicama, od strane švedskih naučnika, 2002. godine predstavlja vrlo bitan podatak za domen medicine (38, 39). Otkriće ove hemijske materije u prehrambenim proizvodima bio je slučajan. Konstatovano je da se izvesne količine akrilamida nalaze u namirnicama bogatim skrobom, kao što su: pomfrit, čips, hleb, u namirnicama koje su pripremane na vrlo visokim temperaturama pečenjem i prženjem (40, 41).

Akrilamid se ne nalazi u namirnicama pripremljenim kuvanjem, kao ni u termički neobrađenim namirnicama (38). Akrilamid se stvara i primenom tehnološkog postupka obrade namirnica pri kojem se izdvajaju suve materije na visokim temperaturama (biskviti, keksi, cerealije, instant kafa) (42-44). Prema podacima Svetske Zdravstvene Organizacije od 2002. do 2006. godine konstatovan je porast srednjeg dnevnog unosa akrilamida putem hrane od 0,3-1µg/kg kod odraslih, dok je kod dece doza unosa veća dva do tri puta posmatrano u odnosu na telesnu težinu (45-47).

Primer koncentracije akrilamida u određenim vrstama namirnica dat je u tabeli 3 (48-50):

Tabela 3: Procenjen unos akrilamida kroz hranu koja se koristi u Sjedinjenim Američkim Državama, Office of Environmental Health Hazard Assessment/California Environmental Protection Agency, 2005.

VRSTA HRANE	AKRILAMID ppb=µg/kg
Bademi, sveži i prženi	320
Netostirana peciva	31
Biskviti	37
Beli hleb	11
Pšenični hleb sa celim zrnom	39
Presovane cerealije	86
Kuvane žitarice	0
Pileći medaljoni, pohovana piletina	24
Čili sa mesom	130
Kuvana kafa	7
Graham krekeri	459
Čips	199
Krekeri	167
Krofne	18
Pomfrit	413
Konzervirane masline	41
Pečeni kikiriki	27
Kikiriki puter	88
Pita	22
Pica	20
Kokice	180
Krompir čips	466
Pšenična zamena za kafu (instant)	4573
Sok od šljive	159
Semenke suncokreta	39,5
Konzervirani slatki krompir	84
Tost	213

Posebno zabrinjava otkriće prisustva akrilamida u hrani za bebe (51-53).

Namirnice sa najvećim sadržajem akrilamida prikazani su u tabeli 4 (54):

Tabela 4: FDA-Total Diet Study- 10 namirnica sa najvećom izmerenom količinom akrilamida ($\mu\text{g/kg}$), 2006. godina

<i>Perece sa puno soli</i>	470 $\mu\text{g/kg}$
<i>Pomfrit-brza hrana</i>	393 $\mu\text{g/kg}$
<i>Razne vrste keksa</i>	381 $\mu\text{g/kg}$
<i>Kukuruzni i tortilja čips</i>	355 $\mu\text{g/kg}$
<i>Krompir čips</i>	346 $\mu\text{g/kg}$
<i>Krekeri sa puterom</i>	336 $\mu\text{g/kg}$
<i>Flaširani sok od suve šljive</i>	326 $\mu\text{g/kg}$
<i>Arrowroot kolačići</i>	305 $\mu\text{g/kg}$
<i>Crne masline</i>	237 $\mu\text{g/kg}$
<i>Presovane pšenične žitarice</i>	237 $\mu\text{g/kg}$
<i>Čokoladni keks kolači</i>	229 $\mu\text{g/kg}$

Dokazano je da sorta krompira utiče na količinu akrilamida koji nastaje pri njegovoj termičkoj obradi. Tako je utvrđeno da pojedine sorte krompira daju manju količinu akrilamida u čipsu. Način tehnološke obrade hrane značajno može smanjiti koncentraciju akrilamida, kao i temperatura na kojoj se hrana priprema (54, 55). Otklanjanje produkata Malardove reakcije takođe je jedan od načina za smanjenje količine akrilamida u hrani (56).

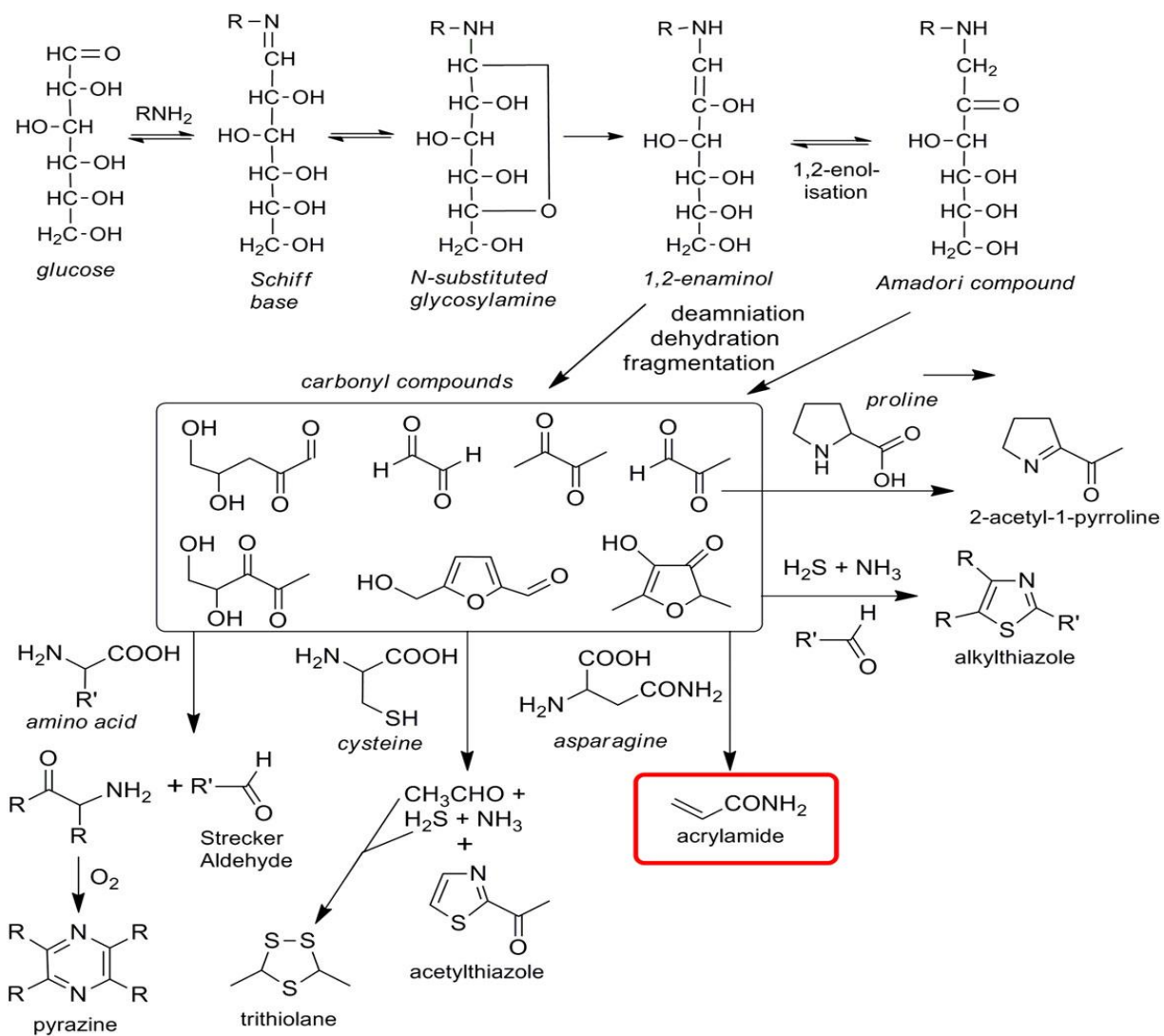
Oprečna su mišljenja o tome da li je veća korist od hranljivosti pojedinih namirnica ili štetnost od unosa akrilamida putem te iste hrane (57).

Kultura ishrane i navike u pojedinim populacijama određuju kroz koje namirnice se unose najveće količine akrilamida. Primera radi, u Holandiji se najveće količine akrilamida unose konzumiranjem pomfrita, u Nemačkoj krekeri i kolača, a u Švedskoj unošenjem velikih količina kafe (50, 58).

1.5.4. MALARDOVA REAKCIJA

U toku proizvodnje i čuvanja namirnica dolazi do niza hemijskih reakcija između redukujućih šećera i amino jedinjenja, predstavljenih kroz Malardovu reakciju u kojoj kao nusprodukt nastaje monomer akrilamida. Na stepen izraženosti Malardove reakcije utiču pH hrane, količina vode, vreme termičke obrade i temperatura na kojoj se obrađuje hrana. Malardova reakcija je naročito izražena tokom procesa pečenja i prženja hrane, a pri kojima nastaju željena aroma, tekstura, ukus i boja namirnica, koji su čak zaštitni znaci pojedinih brendova i samim time očekivani od strane potrošača (56, 57, 59). S jedne strane se nalaze željeni efekti koji nastaju kao rezultat Malardove reakcije, a s druge štetni efekti od posledice unosa akrilamida. Ovakva protivrečna situacija dovodi do potrebe za regulisanjem propisa proizvodnje namirnica, kao i dozvoljene količine akrilamida u hrani. Oko rešavanja ovog problema uključili su se: Commission for European Normalization (CEN), American Chemical Society, FDA- U.S. Food and Drug Administration, EPA-U.S. Environmental Protection Agency i mnogi drugi (57, 60-64).

Istraživanja na polju smanjenja štetnog uticaja akrilamida proširila su se na domen primene određenih namirnica, začina i ulja u ishrani, zbog sadržaja antioksidanata koji deluju protektivno na nastanak oštećenja izazvanih akrilamidom. Hidroksitirizol-aktivni sastojak maslinovog ulja umanjuje citotoksično dejstvo akrilamida i oštećenje DNA (deoksiribonukleinske kiseline) (65-67). Riblje ulje prevenira apoptozu neurona u cerebralnom korteksu izazvanu akrilamidom (68). Sprečavanju štetnih efekata akrilamida doprinose i antioksidansi iz začina kurkumina (69, 70), eugenol i izoeugenol-aktivni principi nekoliko vrsta začina (71), alicin iz belog luka (72, 73), resveratrol-fitoaleksin iz grožđa, kikirikija, borovnica (74), polifenolni ekstrakt kakaoa (75), aktivni sastojak tamnog soja sosa (76), kao i niacin (77).



Slika 4: Formiranje akrilamida u Malardovoj reakciji (57)

1.5.5. POSTOJANOST AKRILAMIDA U PRIRODI

Vazduh- u vazduhu akrilamid reaguje sa fotohemijski proizvedenim hidroksi radikalima, te je njegov poluživot procenjen na 6, 6 sati.

Zemlja- biodegradacija je glavni način uklanjanja akrilamida iz zemljišta. Ukoliko je zemljište aerobno, za 14 dana se degradira između 74-94% hemikalije, dok u anaerobnim zemljištima punim vode za 14 dana se razgradi između 64-89% akrilamida, te je stoga poluživot akrilamida u zemljištu između 21 i 36 sati.

Voda- biodegradacija i u razlaganju akrilamida iz vode igra veliku ulogu. Detektovani su mikrorganizmi koji ubrzavaju proces razgradnje i to su: *Arthrobacter species*, *Nocardia rhodochrous*, *Bacillus spaericus*, *Pseudomonas putrefaciens* i *Rhodococcus species*. Ukoliko su bakterije aklimatizovane na uslove vode, umesto za 14 dana, mogu ukloniti akrilamid iz vode u potpunosti za dva dana (32).

1.5.6. NAČINI IZLAGANJA AKRILAMIDU

Ljudi mogu biti izloženi akrilamidu preko:

- Zemljišta
- Vode
- Inhalacijom
- Dermalno
- Hranom

Akrilamid se u ***zemljištu*** može naći kao posledica upotrebe materijala koji sadrže akrilamid za izgradnju brana, bunara, tunela, ali isto i kao posledica bačene ambalaže koja u sebi sadrži akrilamid. Iako je biorazgradnja u zemljištu moguća, pa čak i dosta brza, kontakt sa zemljištem koje je u tom trenutku bogato akrilamidom može biti značajan izvor izlaganja (26, 30, 40, 41).

Voda se u tretmanu obrade za piće, kao i u procesu prečišćavanja otpadnih voda tretira sa akrilamidom. Izrada bunara za čije se konstrukcije koristi akrilamid, takođe može biti

način dospeća ove hemikalije u vodu. Konzumiranje vode kontaminirane akrilamidom je jedan od puteva dospeća akrilamida u ljudski organizam (26, 30, 39, 40).

Količina akrilamida koja se može naći u *atmosferskom vazduhu* je mala i vezana je za zadesne nezgode. Način na koji se ljudski organizam primarno izlaže akrilamidu kroz vazduh je duvanski dim (80-83), kao pušači ili sekundarno se izlažući duvanskom dimu boravkom u prostoriji u kojoj se puši (26, 30, 42).

Dermalno izlaganje je, pored ishrane, najrašireniji način izlaganja akrilamidu, s obzirom da, radeći u industriji sa proizvodima koji se prave sa sadržajem akrilamida, milioni ljudi se svakodnevno izlažu njegovom dejstvu. Industrije u kojima se radnici izlažu akrilamidu su: biotehnološke laboratorije, proizvodnja akrilamida iz akrilnitrila, proizvodnja polimera iz monomera akrilamida, prečišćavanje vode, proizvodnja tekstila, boje, lepka, ambalaže, čelična industrija, proizvodnja šećera i dr. (28, 41).

S obzirom da je 2002. godine akrilamid otkriven u pojedinim *namirnicama*, ishrana je još jedan način izlaganja akrilamidu. Prisustvo akrilamida je konstatovano u velikom broju namirnica koje su u širokoj upotrebi (26, 39). Dokazano je da se putem laktacije akrilamid prenosi na potomstvo (46, 85-87).

1.5.7. METABOLIZAM AKRILAMIDA

Studije i eksperimentalna istraživanja na životinjama ukazala su da postoje razlike u apsorpciji i distribuciji akrilamida u zavisnosti kojim se putem unosi u organizam ispitivane jedinke. Putem oralnog unosa 1mg/kg akrilamida kod pasa i svinja registrovana je najveća distribucija akrilamida u mišićnom tkivu (30-50%). Ostatak unete doze se kod pasa detektovao u velikom procentu u jetri, a kod svinja u gastrointestinalnom traktu (88). Ovakva distribucija akrilamida kod pomenutih jedinki se objašnjava sporijom apsorpcijom akrilamda kod svinja.

Istraživanja na Swiss Webster ženka miševa pokazala su da je distribucija u fetusu skoro ravnomerna u svim organima, izuzev u fetalnom mozgu, gde je zabeleženo veće nakupljanje (88).

Nakon inhalacije akrilamida, najveća koncentracija metabolita se detektuje u krvi, koži, slezini i plućima, a kod dermalne aplikacije najveća distribucija akrilamida je u koži i krvi. U slučaju intravenozne aplikacije akrilamid se u najvećoj meri skuplja u eritrocitima (88).

Apsorbovani akrilamid se može metabolisati u dva različita jedinjenja. Jedna mogućnost je da se uz pomoć P450 citohrom enzimskog sistema metaboliše u glicidamid, dok je druga mogućnost da se uz pomoć glutation-S-transferaze konjuguje u N-acetil-S-(3-amino-3-oksipropil) cistein (31, 33, 88-90).

Ekskrecija metabolisanog akrilamida se vrši na sledeće načine: 40-70% apsorbovane doze izbacuje se putem urina, 5-6% fekalno, 6% izdahnutim vazduhom i oko 15% putem žuči (88).

1.5.8. EFEKTI AKRILAMIDA NA ORGANIZAM

Štetni efekti akrilamida mogu se podeliti u nekoliko osnovnih grupa, u zavisnosti od toga na koje sisteme organa deluju i kakav efekat izazivaju:

- **Nervni sistem**-akrilamid izaziva oštećenje aksona u centralnom i perifernom nervnom sistemu (91-97). Posledica dejstva akrilamida su verifikovana slabost mišića, utrnulost ruku i nogu, znojenje, nestabilnost, nespretnost, promene u kvalitetu vida (26, 98, 99). Efekat akrilamida na nervni sistem zavisi od doze kojoj je organizam bio izložen. Izlaganje velikim dozama izaziva vrlo naglašene simptome i znake od strane nervnog sistema sa halucinacijama, mentalnom konfuzijom, gubitkom pamćenja, oštećenje perifernih nerava sa atrofijom mišića ekstremiteta (100).

- **Karcinogeneza**-veliki broj studija posvećen je istraživanju pojave tumora kao posledica izlaganja akrilamidu. Izlaganjem životinja akrilamidu u eksperimentalnim studijama konstatovana je povezanost sa pojavom tumora skrotuma (101), nadbubrežne žlezde, karcinoma bubrega (102), štitne žlezde (103-105), dojke (106-108), usne šupljine i uterusa, tumora pluća (27, 33, 80, 90, 100, 109-112), tumorom jetre (113), multiplog mijeloma i folikularnog limfoma kod muškaraca (114). Pojedine studije daju rezultate koji pokazuju da izlaganje akrilamidu nije povezano sa pojavom tumora mozga (115), kičmene moždine (100), karcinomom pankreasa (116), karcinomom prostate (117-120), tumorima gastrointestinalnog trakta (27, 121), endometrijuma (122) i karcinoma jajnika. Oprečni su rezultati po pitanju dejstva akrilamida na razvoj karcinoma kolona. Po jednim autorima akrilamid ne dovodi do razvoja karcinoma kolona (123), dok po drugima ima uticaja (124). Pregled studija ispitivanja povezanosti unosa akrilamida i pojave tumora u ljudskoj populaciji dat je u tabeli 5 (125):

Tabela 5.: Pregled studija rađenih u ispitivanju povezanosti unosa akrilamida i karcinoma pojedinih organa

VRSTA KANC.	DIZAJN STUD.	POPULACIJA	VELIČINA UZORKA	PRVI AUT., GODINA
Mokraćna bešika	Case-control	Švedska	538-kontrola 263-slučaja	Mucci, 2003
	Case-cohort	Holandija	5000-kohortnih članova 1210- slučajeva	Hogervorst,2008
Dojka	Case-cohort	Italija/Švajcarska	3122-kontrola 2900-slučajeve	Pelluchi,2006
	Cohort	Švedska	61433-žena 2952-slučaja	Larsson,2009
	Cohort	SAD	90628-žena 1179-slučajeve	Wilson,2009
Debelo crevo	Case-control	Italija/Švajcarska	4765-kontrola 2280-služaj	Pelluchi,2006
	Cohort	Švedska	45306-muškaraca 676-slučajeve	Larsson,2009
	Case-cohort	Holandija	5000-kohortnih članova 2190- slučajeva	Hogervorst,2008
Endometrijum	Case-cohort	Holandija	2589-kohortnih članova 327- slučajeva	Hogervorst,2007
	Cohort	Švedska	61057-žena 368-slučajeve	Larsson,2009
Jednjak	Case-control	Italija/Švajcarska	1066-kontrola 395-služaj	Pelluchi,2006
	Case-cohort	Holandija	5000-kohortnih članova 216- slučajeva	Hogervorst,2008
Želudac	Case-cohort	Holandija	5000-kohortnih članova 563- slučaja	Hogervorst,2008
Grkljan	Case-control	Italija/Švajcarska	3069-kontrola 1276-slučajeve	Pelluchi,2006
Jajnik	Case-cohort	Holandija	2589-kohortnih članova 300- slučajeva	Hogervorst,2007
	Cohort	Švedska	61057-žena 368-slučajeve	Larsson,2009
Pankreas	Case-cohort	Holandija	5000-kohortnih članova 349- slučajeva	Hogervorst,2008
Prostata	Case-control	Švedska	1188-kontrola 1499-slučajeve	Wilson,2008
	Case-cohort	Holandija	5000-kohortnih članova 2246- slučajeva	Hogervorst,2008

Bubreg	Case-control	Švedska	538-kontrola 133-slučaja	Mucci,2003
	Case-cohort	Holandija	5000-kohortnih članova 339- slučajeva	Hogervorst,2008

Akrilamid je svrstan u grupu dokazano sigurnih karcinogena kod eksperimentalnih životinja, dok se kod ljudi ta karcinogenost ne može sa sigurnošću potvrditi (90, 126, 127). Način na koji akrilamid ispoljava karcinogeni efekat može se ispoljiti u vidu genotoksičnosti, kao i negenotoksičnim efektima putem endokrinih promena (128), putem aktivacije i overekspresije ciklooksigenaze tip 2 (COX-2) - medijatora u inflamatornim reakcijama.

Genotoksičnost se ogleda u vezivanju metabolita glicidamida za delove DNA (129-131), što dovodi do proizvodnje oštećene DNA i pojave mutacija i ka nekontrolisanom rastu oštećenih ćelija (27). Istraživanja na miševima i pacovima pokazuju da se oštećenja DNA javljaju samo u tkivima u kojima je došlo do pojave tumora nakon izlaganja akrilamidu (89). Negenotoksični efekti koji vode u karcinogenezu su: promena redoks potencijala u ćelijama, transformacija ćelija i aneuploidija (27). Procenjene su dnevne tolerantne doze akrilamida za karcinogenezu i kreću se između 2,6 i 16 µg/kg-dan (132).

Akrilamid izaziva promene na hromozomima u vidu hromozomskih aberacija (133,134), izmena sestrinskih hromatida, neplanirane sinteze DNA, oštećenja DNA (130, 135, 136), pojave mikronukleusa (137-139) i patološke embriogeneze (31-33,134). Skorija istraživanja pokazuju da genotoksičnost akrilamida nije konstatovana na in vitro modelima (140).

- **Reproduktivna toksičnost**

Nakon oralnog izlaganja muških miševa akrilamidu zabeleženi su sledeći efekti: testikularna atrofija, smanjenje količine testosterona (105, 141) smanjenje broja spermatozoida (47, 142, 143), smanjenje pokretljivosti spermatozoida (144, 145), degeneracija spermatogonija (146, 147), spermatida (148) i spermatocita, kao i pojava multijedarnih džinovskih ćelija (32, 149).

- **Drugi zabeleženi efekti:**

Tretiranje eksperimentalnih životinja akrilamidom dovelo je do deplecije masnog tkiva, smanjenja jetre i bubrega, atrofije skeletne muskulature, distenzije mokraćne bešike, kao i zadebljanja zida želuca (26).

Akrilamid prolazi placentalnu barijeru i izaziva promene fetusa koje se manifestuju smanjenjem telesne težine, pojavom oksidativnog stresa i patološkim razvojem nervnog sistema, poremećajem osifikacije, poremećajem motorike i brzine reagovanja (40, 46, 85, 150-152). Unet hranom u organizam majke, akrilamid se putem laktacije prenosi na mladunce i takođe dovodi do smanjenja telesne težine potomstva (87).

Kao posledica trovanja akrilamidom zabeleženo je smanjenje serumske koncentracije Zn, Se, Co, V i Mg (153). Akrilamid se smatra odgovornim za biomolekularni mehanizam oštećenja nerava koji odgovara Alchajmerovoj bolesti (154, 155)

1.5.9. BIOMARKERI ZA DETEKCIJU IZLAGANJA AKRILAMIDU

Biomarkeri izlaganja organizma akrilamidu su detektovanje:

- samog akrilamida
- metabolita akrilamida-merkapturična kiselina (156)
- glicilamid (157)
- metabolit glicilamida-GAMA (158)
- jedinjenja sa hemoglobinom (48, 81-83, 159).

Biomarkeri koji su najčešće korišćeni u studijama su merkapturična kiselina i glicilamid (160-163).

Praćenje efekta unetog akrilamida na organizam vrši se detektovanjem spoja DNA sa glicilamidom. Ovi biomarkeri su konstatovani kod pacova i miševa izloženih dejstvu akrilamida (164-166).

U rutinskoj primeni kliničara ne koriste se biomarkeri za detekciju akrilamida u organizmu pacijenta (26).

1.6. ISPITANO DEJSTVO AKRILAMIDA NA ŽELUDAC I ZNAČAJ STUDIJE

Da bismo razmatrali dejstvo akrilamida na tkivo želuca, moramo znati u kom kontekstu je validno posmatrati akrilamid kao potencijalni štetni činilac. Promene na tkivu želuca mogu se očekivati u slučaju da monomer akrilamida dolazi u direktan kontakt sa tkivom želuca. Ako uzmemo primer izlaganja putem inhalacije, mogu se očekivati efekti na respiratornom sistemu, genotoksičnost, karcinogeni efekat, neurotoksičnost i drugi, ali se efekat na gastrointestinalni sistem, ne može očekivati sa velikom verovatnoćom. Način izlaganja akrilamidu koji je značajan u ispitivanju efekata na tkivo želuca je oralni unos hemikalije. Pored izlaganja akrilamidu u industriji, najrašireniji način izlaganja je putem unosa hrane bogate akrilamidnim monomerima, unosa pijaće vode u kojoj se mogu naći rezidualni ostaci akrilamidnih monomera posle neadekvatnog tretmana prečišćavanja (27).

Do sada ispitivani i poznati efekti akrilamida na tkivo želuca su malobrojni. Navode se slučajevi zadesnog trovanja oralnim putem velikim količinama akrilamida, kada se kao jedan od najvidljivijih efekata javilo izraženo oštećenje gastrointestinalne sluznice sa opsežnim krvarenjima, pored efekata od strane centralnog i perifernog nervnog sistema u vidu konfuzije, halucinacija, slabosti, parestezija (45). Pojedine ekperimentalne studije na pacovima i miševima, u kojima se ispitivao gastrointestinalni sistem i efekti na tkivu želuca, izlažu rezultate da ni makroskopskom ni histološkom analizom tkiva nisu uočene nikakve promene (26). Slična studija, kod koje je akcenat na izlaganju većoj dozi u kraćem vremenskom intervalu, pokazuje patohistološku promenu u vidu hiperplazije sluznice želuca (26). Akcenat u ispitivanju efekata akrilamida na organizam dat je u ispitivanju karcinogeneze, neurotoksičnosti i genotoksičnosti (24), ali su sporadično izneti i podaci da akrilamid deluje hepatotoksično (167), da utiče na izazivanje adenomatozne polipoze kolona (168), dok je još 1982. godine Miller pomenuo efekat zadebljanja sluznice želuca kod trovanja akrilamidom (169). Opsežna studija sprovedena na ljudskoj populaciji u Holandiji, 2008. godine, sa ispitivanjem unosa akrilamida putem hrane i korelacijom sa tumorima gastrointestinalnog trakta daje rezultate koji govore u prilog da unos akrilamida putem hrane nije povezan sa gastrointestinalnim tumorima (121). Iz 2008. godine, eksperimentalna studija na pacovima, sprovedena u Egiptu, dala je najpreciznije histološke rezultate promena na tkivu želuca, koje su nastale kao posledica oralnog unosa akrilamida (29). Rezultati histološke analize ukazuju da postoje promene koje se manifestuju u teškoj vakuolarnoj

degeneraciji ćelija epitela sluznice želuca, kao i da se u muskularnom sloju (tunica muscularis), nalazi bogat mononuklearni ćelijski zapaljenski infiltrat (29).

Prisutan je veliki rizik od unosa akrilamida preko ambalaže, posuđa (boje, farbe), pijaće vode (u slučaju neadekvatnog tretmana), hrane. Specifičan način života u današnje vreme, kada zbog brzog tempa i mnoštva obaveza, ishrana nije adekvatna i kada se pribegava često upotrebi “brze hrane”, koja je bogata akrilamidom, predstavlja dodatni rizik. Iz navedenih razloga je sprovedeno naše ispitivanje da bliže istražimo promene na tkivu želuca koje mogu nastati kao posledica oralnog unosa akrilamida je opravdan i od velikog značaja u boljem sagledavanju povezanosti gastrointestinalnih tegoba i ishrane.

1.7. KVANTITATIVNA MERENJA U HISTOLOGIJI I PATOHISTOLOGIJI

1.7.1. LINEARNA MERENJA U MIKROSKOPIJI

Linearna merenja su metode čijom se primenom kvantitativno izražavaju kako histološka građa pojedinih struktura, tako i njihove patohistološke promene. Linearnim mikrometarskim merenjima stiće se uvid u širinu i dužinu ispitivanih preseka. Da bi se izvelo linearno merenje koriste se linearni ili okularni mikrometri. Okularni mikrometar je staklena pločica na kojoj su ugravirani podeoci, a stavlja se u okular ili već postoji u sklopu okulara koji se koristi u svrhu linearnih merenja. Postoje linearni mikrometri od 5 mm sa 50 podeoka (te je jedan podeok 1/10 mm), od 5 mm sa 100 podeoka (jedan podeok je 1/20 mm), od 10 mm sa 100 podeoka (jedan podeok je 1/10 mm), kao i drugih srazmera. U okviru linearnih merenja potrebno je izvršiti baždarnje mikroskopa za svaku kombinaciju primenjivanog uvećanja objektivna i okulara. Pri tom se izračunava mikrometarski količnik po formuli:

$$\text{Mikrometarski količnik} = \frac{\text{broj podeoka objektivnog mikrometra} \cdot 10}{\text{broj podeoka okularnog mikrometra}}$$

Mikrometarski količnik je neophodan da bismo vrednosti koje dobijemo merenjem preveli u merne jedinice. Baždarenje mikroskopa se vrši pomoću objektivnog mikrometra, koji je u vidu histološke pločice sa ugraviranim podeocima i postavlja se na mesto pločice na stočiću mikroskopa. Na mesto okulara postavljamo okularni mikrometar. Nakon toga postavimo uvećanje za koje određujemo mikrometarski količnik, izoštrimo sliku, pa dovedemo u paralelan položaj podeoke na oba mikrometra. Svaki peti podeok je duži. Postavljamo prve duže podeoke na oba mikrometra da se prepokrivaju i zatim, bez pomeranja, brojimo podeoke i na jednom i na drugom mikrometru do idućeg prepokrivanja dužih podeoka. Zatim ubacujemo brojeve u gore navedenu formulu i na taj način izračunavamo mikrometarski količnik. Za kvantifikovanje merenja se dalje izračunava broj podeoka koji prepokriva ispitivanu fazu, te se množi sa izračunatim mikrometarskim količnikom i dobija se vrednost izražena u mm ili μm . Radi što veće preciznosti potrebno je uraditi više merenja, na više histoloških rezova, te izračunati srednju vrednost ispitivane faze (170, 171).

1.7.2. STEREOLOŠKA MERENJA U MIKROSKOPIJI

Kroz stereološka merenja se putem geometrijske verovatnoće kvantitativno procenjuje unutrašnja trodimenzionalna građa nekog tela, a na osnovu dvodimenzionalnih preseka istog.

Stereološka merenja se vrše na dvodimenzionalnim parafinskim rezovima uz upotrebu odgovarajućih testnih mrežica postavljenih u okular ili na mikrofotografijama histoloških rezova uz upotrebu odgovarajućih kompijuterskih programa prilagođenih za analizu slike. Testne mrežice sastoje se od geometrijskih elemenata (tačke, linije, duži, površine), koje imaju pravilan raspored i međusobno stalan odnos (koherentni sistemi). Podela sistema se vrši u odnosu na karakteristike-površina sistema, broj tačaka, broj linija, dužina linija, te imamo sledeću podelu:

- obični mrežasti
- dvostruki mrežasti
- mnogonamenski testni sistemi
- polukružni (Merz-ov) testni sistem

Stereološke veličine koje se najčešće određuju su volumenska gustina, površinska gustina, dužinska gustina, numerička gustina čestica u jedinici zapremine, određivanje veličine čestica, određivanje zakrivljenosti.

U radu su određivane volumenska i numerička gustina.

- Volumenska gustina je relativna veličina kojom se određuje udeo ispitivane faze tkiva u ukupnom prostoru. Za izračunavanje volumenske gustine koristi se formula:

$$V_{vf} = \frac{P_f}{P_t}$$

Gde je V_{vf} – volumenska gustina ispitivane faze; P_f – broj tačaka testnog sistema koje padaju na ispitivanu fazu; P_t – broj tačaka primenjenog testnog sistema. Volumenska gustina je bez dimenzije, tj. ima eksponat 0 (npr. $\text{mm}^3 / \text{mm}^3 = \text{mm}^0$).

- Numerička gustina pokazuje koliko čestica ima u jedinici zapremine i takođe je relativna stereološka veličina. Za izračunavanje numeričke gustine koristili smo DeHoff-ovu metodu, prilagođenu debljini reza , kao i veličini ispitivanih ćelija. Formula za izračunavanje numeričke gustine po ovoj metodi je:

$$N_{vf} = \frac{(Na)^2 Y_2}{2l Y_1^2}$$

$$Na = \frac{N}{At}$$

Gde je N_{vf} - numerička gustina ispitivanih čestica; Na – broj preseka ispitivanih čestica sa dužima testnog sistema; l – broj preseka kontura sa testnim dužima; Y_1 , Y_2 - koeficijenti koji ukazuju na oblik geometrijskog tela koji odgovara obliku ispitivanih čestica (vrednosti ovih koeficijenata su stalne vrednosti koje se prema obliku tela uzimaju iz tabela); N -ukupan broj preseka čestica; At –testna površina (konstantna vrednost za određen testni sistem i za korišteno uvećanje objektiva). Numerička gustina ima dimenziju sa eksponentom -3 (npr. $\text{mm}^0 / \text{mm}^3 = \text{mm}^{-3}$).

Izuzetna vrednost stereoloških merenja ogleda se u mogućnosti uvida u trodimenzionalnu strukturu ispitivanog tela (170, 171).

2. **CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE**

2.1. **CILJEVI**

1. Utvrditi da li akutni tretman akrilamidom uzrokuje kvalitativne i kvantitativne promene histološke strukture želuca kod pacova soja *Wistar*:

- analizom očuvanosti kontinuiteta i citoloških karakteristika površnog epitela i žlezda
- semikvantitativnom analizom broja i rasporeda limfocita i granulocita u lamini propriji mukoze
- kvantitativnim metodama odrediti zastupljenost Meissner-ovog i Auerbach-ovog nervnog plexusa, kao i broj i veličinu ganglijskih ćelija u zidu želuca
- analizom broja intaktnih mastocita u lamini propriji i u submukozi po jedinici površine (linearnom mikrometrijom)
- analizom broja degranulisanih mastocita u lamini propriji i u submukozi po jedinici površine (linearnom mikrometrijom)

2. Stereološkom analizom kvantifikovati histološke promene u tkivu želuca kod pacova soja *Wistar* nakon primene akrilamida:

- Volumenska gustina *tunicae mucosae*-Vv_{tm}
- Volumenska gustina *površnog epitela*-Vv_{pe}
- Volumenska gustina *žlezda*-Vv_ž
- Volumenska gustina *laminae propriae*-Vv_{lp}
- Volumenska gustina *laminae muscularis*-Vv_{lm}

- Volumenska gustina *tunicae submucosae*-Vvtsm
 - Volumenska gustina *tunicae muscularis*-Vvtmusc
 - Volumenska gustina ćelija u *mitozi*-Vvm
 - Volumenska gustina Meissner-ovog i Auerbach-ovog *nervnog plexusa*-Vvmnp i Vvsmnp
 - Volumenka gustina ganglijskih ćelija Meissner-ovog i Auerbach-ovog plexusa – VVgćmp i VVgćsmp
 - Volumenska gustina *PGP-pozitivnih endokrinih ćelija*-Vveć
 - Numerička gustina *PGP-pozitivnih endokrinih ćelija*-Nveć
3. Semikvantitativno, PAS/AB histohemijskom metodom, odrediti tip mucina u epitelnim ćelijama sluznice želuca kod pacova soja Wistar nakon primene akrilamida u odnosu na ispitivane grupe.
4. Utvrditi da li se akutni efekat akrilamida na histološke strukture želuca kod pacova soja Wistar razlikuje u odnosu na dozu i vreme izloženosti primenjenog akrilamida:
- da li primenjena veća doza akrilamida izaziva teže i opsežnije promene, analizom i korelacijom zadatih parametra kvalitativne i kvantitativne analize (pobrojani u cilju pod 1, 2, 3) na tkivu želuca
 - da li produžena aplikacija akrilamida izaziva teže i opsežnije promene, analizom i korelacijom zadatih parametra kvalitativne i kvantitativne analize (pobrojani u cilju pod 1, 2, 3) na tkivu želuca.

2.2. HIPOTEZE

1. Akutni tretman akrilamidom prouzrokuje promene u histološkim strukturama želuca pacova soja Wistar u vidu vakuolarne degeneracije epitelnih ćelija površnog epitela i žlezda i aktivacije limfocita i granulocita, povećanja broja intaktnih i degranulisanih mastocita, kao i promenu u vidu smanjenja zastupljenosti nervnih vlakana i smanjenja broja nervnih ćelija Maissner-ovog i Auerbach-ovog nervnog plexusa u zidu želuca.
2. Pri akutnom tretmanu akrilamidom, promene u histološkoj strukturi želuca kod pacova soja Wistar su u pozitivnoj korelaciji sa primenjenom dozom akrilamida.
3. Dobijeni stereološki parametri će značajnije pozitivno korelirati sa navedenim histološko-kvalitativnim promenama i jasnije će i preciznije definisati tip i stepen nastalih promena.
4. Akutni tretman akrilamidom imaće uticaja na promenu hemijskog sastava mukusa sluznice želuca kod pacova soja Wistar u smislu povećanja kiselosti.

3. MATERIJAL I METODE

3.1. PREPARAT AKRILAMIDA

U eksperimentalnoj studiji primenjen je rastvor akrilamida u destilovanoj vodi (99% čistoće, *Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO, SAD*). Preparat je primenjivan u dozi od 25 mg/kg i 50 mg/kg telesne mase životinja.

3.2. EKSPERIMENTALNE ŽIVOTINJE

Eksperimentom, koji je izveden na Departmanu za biologiju i ekologiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu, je obuhvaćeno 30 mužjaka pacova soja *Wistar*. Studija je izvršena uz saglasnost Etičke komisije za zaštitu dobrobiti oglednih životinja Univerziteta u Novom Sadu (broj I-2011-03), kao i uz poštovanje preporuka NIH (National Institutes of Health, USA) "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals".

Životinje su odvojene od majke 22. dana po rođenju, izmerene i ujednačene po telesnoj masi. Jedinke su podeljene u šest grupa, dve kontrolne i četiri eksperimentalne grupe sa po pet jedinki u svakoj grupi. Podela u grupe izvršena je na sledeći način:

1. Kontrolna grupa koja je tretirana destilovanom vodom u količini od 50µl u toku 24h (*K24*)
2. Kontrolna grupa koja je tretirana destilovanom vodom u količini od 50µl u toku 72h (ukupan volumen jedne aplikovane doze je 50µl) (*K72*)
3. Eksperimentalna grupa koja je tretirana dozom akrilamida od 25 mg/kg telesne mase u toku 24h, ukupan volumen aplikovane doze je 50µl (*AA25/24*)
4. Eksperimentalna grupa koja je tretirana dozom akrilamida od 25 mg/kg telesne mase u toku 72h, ukupan volume jedne aplikovane doze je 50µl (*AA25/72*)
5. Eksperimentalna grupa koja je tretirana dozom akrilamida od 50 mg/kg telesne mase u toku 24h, ukupan volumen aplikovane doze je 50µl (*AA50/24*)
6. Eksperimentalna grupa koja je tretirana dozom akrilamida od 50 mg/kg telesne mase u toku 72h, ukupan volumen jedne aplikovane doze je 50µl (*AA50/72*)

Jedinke su tokom ogleda držane u plastičnim kavezima, u kontrolisanim uslovima, 12 sati svetlosti, 12 sati mraka, temperature prostorije $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. Paletirana hrana i voda bile su životinjama dostupne *ad libitum*.

U svim ispitivanim grupama, rastvori su se primenjivali peroralno, putem jednodnevne aplikacije u ukupnom volumenu od 50 μl , na dan aplikacije u 8 i 30h ujutru.

Na dan žrtvovanja, životinjama nisu aplicirani niti destilovana voda, niti rastvor akrilamida. Životinje su žrtvovane u 9:00h ujutru, posle primenjene anestezije u vidu pare dietil etra.

3.3. UZORKOVANJA I HISTOLOŠKA OBRADA MATERIJALA

Nakon žrtvovanja životinja, svi uzeti uzorci fiksirani su u 10% formalinu, pH 7,2. Fiksativ je napravljen 24h pre žrtvovanja i držan je na sobnoj temperaturi. Nakon fiksacije iz želuca svih ispitivanih grupa uzeta su po tri isečka, tako da su obuhvaćene sve tri anatomske i histološke regije: I segment-kardija, II segment-korpus, III segment-pilorus. S obzirom na veličinu želuca i način uzimanja isečaka, skoro celokupan želudac je uzet za histološku analizu. Nakon fiksacije, koja je trajala 24h, isecci su najpre držani u 70% etil-alkoholu 32 dana na 4°C , zatim 24h u 95% i 23h u 100% etil-alkoholu. I i III segment želuca su zatim po tri minuta potapani u ksilol, a Segment II je držan 4 minuta u ksilolu, da bi se potom svi isecci 19h držali u parafinu.

Veličina isečaka dozvolila je da se svi isecci jedne jedinke ukalupe u jedan parafinski blok. Nakon formiranja blokova, svi isecci su sečeni Reichert-ovim mikrotomom na rezove debljine 5 μm .

Isecci su potom bojeni standardnim bojenjem hematoksilinom i eozinom.

Za vizuelizaciju intracitoplazmatskih mucina primenjeno je standardno histohemijsko bojenje PAS-AB metodom. U fiziološkim uslovima mucini u sluznici želuca su neutralni i PAS pozitivni, dok su AB negativni. U slučaju povećane ili ubrzane regeneracije sluznice, kao i patoloških stanja praćenim oštećenjem ćelija i pojavom mlađih oblika mukusnih ćelija, mucini su kiseli i AB pozitivni.

Toluidin-plavo histohemijsko bojenje (*Carlo Erba, Milano, Italija*), primenjeno je za vizuelizaciju mastocita. Toliudin-plavim se boje metahromatske granule u mastocitima te se tako jasno uočava i izdvaja broj i vrsta mastocita (intaktni, degranulisani).

Imunohistohemijskom metodom PGP 9.5 (*LABTEH, Beograd, Srbija*) vršena je vizuelizacija PGP pozitivnih neuroendokrinih ćelija, kao i nervnih pleksusa i ganglijskih ćelija.

Za navedena bojenja primenjeni su standardni protokoli po uputstvima proizvođača. Za primenu imunohistohemijske metode PGP 9.5 korištena su životinjska antitela.

Posle laboratorijske obrade materijala pristupilo se kvalitativnoj i kvantitativnoj analizi uzoraka. Kvantifikacija zadatih parametara je uradjena: semikvantitativnim merenjima i kvantitativnim stereološkim i lineranim merenjima.

Kvalitativnom, histološkom analizom svi uzorci su pregledani pod svetlosnim mikroskopom marke BIO OPTICA-ITALY, pri čemu su korištena uvećanja objektiva 4, 10, 20 i 40 puta i uvećanje okulara od 10 puta i analizirane i tražene promene histoloških parametara „pod kontrolom oka“. Mikrofotografije su napravljene uz primenu mikroskopa Leica DM 2000 LED i kamere Leica DFC 420.

3.4. NA OVAKO PRIPREMLJENOM MATERIJALU URAĐENA JE:

3.4.1. HISTOLOŠKA ANALIZA UZORAKA SVETLOSNI MIKROSKOPOM

3.4.2. SEMIKVANTITATIVNA ANALIZA

Semikvantitativnim merenjima analizirani su:

- tip mucina
- prisustvo i gustina limfocita u sluznici želuca
- prisustvo i gustina granulocita u sluznici želuca

Semikvantitativna analiza znači analiziranje prisustva i količine određenog parametra i izražava se numerički od 0 do 3.

Semikvantitativna procena tipa mucina:

0-prisutna PAS pozitivnost

1-prisutna AB pozitivnost u 0-33% preparata

2-prisutna AB pozitivnost u 34-66% preparata

3-prisutna AB pozitivnost u 67-100% preparata

Zrele mukusne ćelije pokazuju PAS pozitivnost i prisustvo neutralnih mucina, dok se nezrelost ćelija pokazuje kroz AB pozitivnost i prisustvo kiselih mucina.

Semikvantitativna procena prisustva i gustine limfocita u sluznici želuca:

0-odsustvo limfocita u sluznici zida želuca

1-prisustvo limfocita u lamini propriji sluznice želuca u vidu blagog infiltrata

2-prisustvo limfocita u lamini propriji sluznice želuca u vidu srednje gustog infiltrata

3-prisustvo limfocita u u lamini propriji sluznice želuca u vidu gustog infiltrata

Semikvantitativna procena prisustva i gustine granulocita u sluznici želuca:

- 0-odsustvo granulocita u sluznici zida želuca
- 1-prisustvo pojedinačnih granulocita u lamini propriji sluznice želuca
- 2-prisustvo većih grupa granulocita u lamini propriji sluznice želuca
- 3-prisustvo granulocita u žlezdama

3.4.3. STEREOLOŠKA ANALIZA

Stereološkim merenjima određene su:

A- volumenske gustine:

1. *tunicae mucosae*(sluznice)-Vvtm
2. *površnog epitela*-Vvpe
3. *žlezda*-Vvž
4. *laminae propriae*-Vvlp
5. *laminae muscularis*-Vvlm
6. *tunicae submucosae*-Vvtsm
7. *tunicae muscularis*-Vvtmusc
8. ćelija u mitozima-Vvm
9. Meissner-ovog i Auerbach-ovog *nervnog plexusa*-Vvmnp i Vvsmnp
10. ganglijskih ćelija Meissner-ovog i Auerbach-ovog plexusa – VVgćmp i VVgćsmp
11. *PGP-pozitivnih endokrinih ćelija*-Vveć

B- numerička gustina *PGP-pozitivnih endokrinih ćelija*-Nveć

Stereološka merenja su vršena uz primenu višenamenskog mrežnog Weibel-ovog testnog sistema M42 ugrađenog u okular mikroskopa. Stereološke veličine koje su određivane su zapreminska (volumenska) gustina pojedinih faza tkiva želuca i numerička gustina PGP pozitivnih endokrinih ćelija. Kako upotreba testne mrežice ne zahteva baždarenje mikroskopa, samo je postavljen okular sa ugraviranom mrežicom na mikroskop. Odabrano je odgovarajuće uvećanje (okulara 10x i objektiva 40x) i zatim je na po šest vidnih polja, na dva nesusedna histološka reza vršena analiza. Prvo polje na rezu je birano metodom slučajnog izbora, a susednih pet polja poštujući principe orijentacije u stereologiji prema slobodnim linijama. Poštujući navedene principe merenja, brojan je ukupan broj tačaka testnog sistema koje padaju na ispitivanu fazu ili broj preseka testnog sistema na ispitivanu fazu. Zatim su dobijene vrednosti uvrštene u odgovarajuće formule za izračunavanje volumenske i numeričke gustine.

3.4.4. LINEARNA MERENJA

Lineranim merenjima određeni su:

1. broj ganglijskih ćelija po jedinici linearne dužine na preseku
 - 1.1. broj ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu
 - 1.2. broj ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu
2. veličina ganglijskih ćelija izražena u μm
 - 2.1. veličina ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu
 - 2.2. veličina ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu
3. broj intaktnih mastocita u lamini propriji i u submukozi po jedinici površine po preseku
 - 3.1. broj intaktnih mastocita u lamini propriji
 - 3.2. broj intaktnih mastocita u submukozi
4. broj degranulisanih mastocita u lamini propriji i u submukozi po jedinici površine po preseku
 - 4.1. broj degranulisanih mastocita u lamini propriji
 - 4.2. broj degranulisanih mastocita u submukozi

Za linearna merenja korišten je okularni mikrometar sa 100 podeoka, koji se postavlja na mikroskop na mesto okulara. Za korišteno uvećanje objektiva od 40x, izvršeno je baždarenje mikroskopa i određen mikrometarski količnik (princip određivanja opisan je u uvodu). Mikrometarski količnik je iznosio $k=3,6$. Zatim su vršena merenja na po šest vidnih polja na dva nesusedna histološka reza. Linearni mikrometar je postavljen tako da zaklapa približno prav ugao sa ispitivanom fazom, kao i da prepokriva ispitivanu fazu (ganglijske ćelije i mastociti), tako da smo brojanjem podeoka i množenjem sa mikrometarskim količnikom izračunali veličinu ćelija ispitivane faze, kao i broj ćelija na posmatranoj linearnoj dužini tkiva i posmatranoj površini tkiva.

3.5. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Statistička obrada podataka izvršena je uz primenu programa IBM SPSS Statistics 21.

Izračunati su: srednje vrednosti, standardna devijacija (standardna greška SE), statistička značajnost dobijenih parametara (T test) i Spirmanova korelacija svih kvantitativnih parametara.

Analizirane vrednosti svih parametara predstavljene su kroz srednje vrednosti, standardnu devijaciju, standardne greške i nivoa značajnosti nastalih razlika u okviru svake grupe eksperimentalnih životinja.

Za određivanje postojanja, smera i jačine veza između promenljivih korišćena je Spirmanova korelacija ranga.

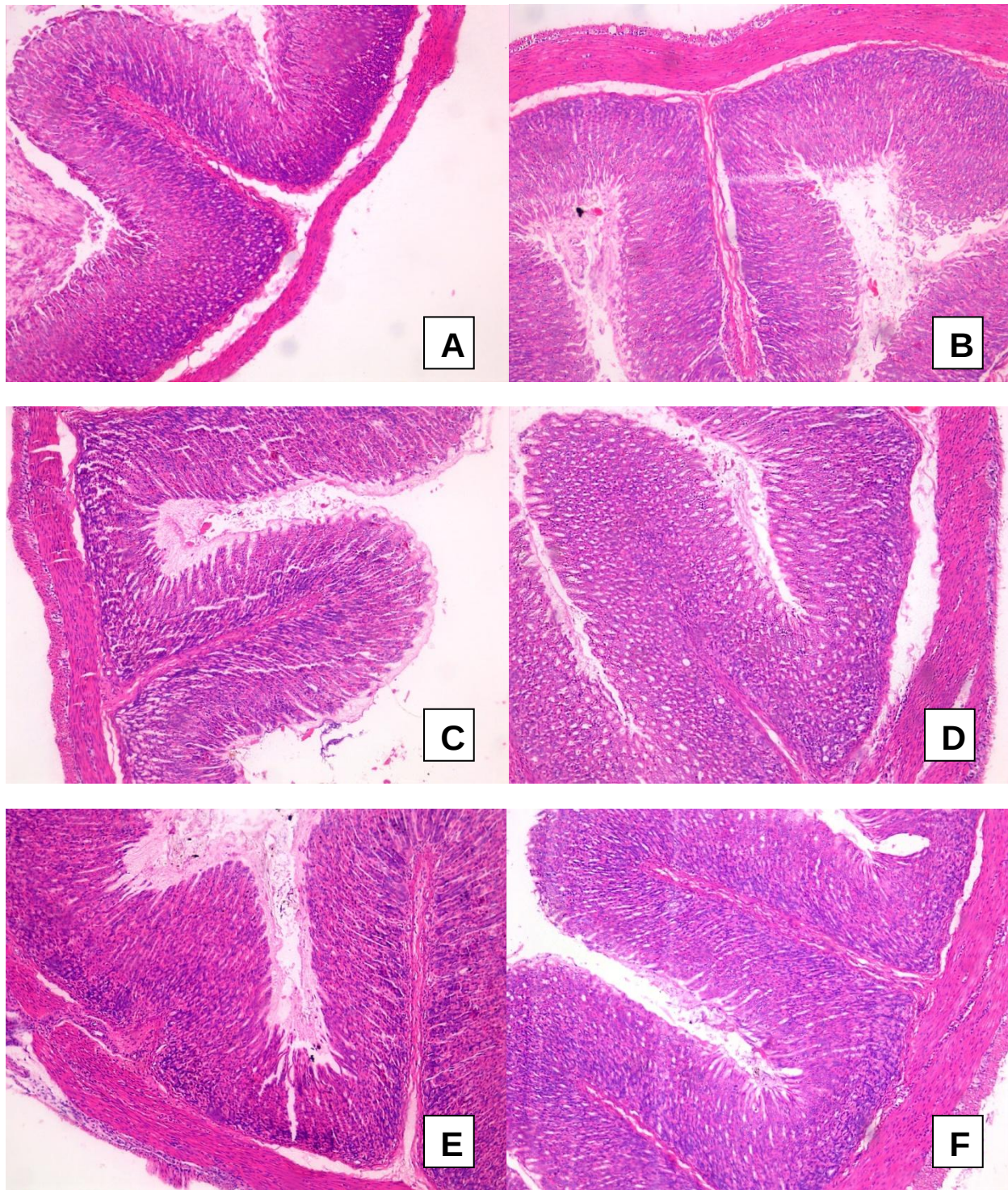
S obzirom na veličinu uzorka i distribuciju vrednosti unutar grupa, za ocenjivanje razlika između grupa korišćeni su neparametrijski testovi: Mann-Whitney U test za poređenje dve grupe i Kruskal-Wallis test za poređenje rezultata tri ili više grupa.

Statistički rezultati predstavljeni su tabelarno i pomoću grafikona. Tabele i grafikoni su odrađeni uz primenu programa Word i Excel i IBM SPSS Statistics 21.

4. REZULTATI

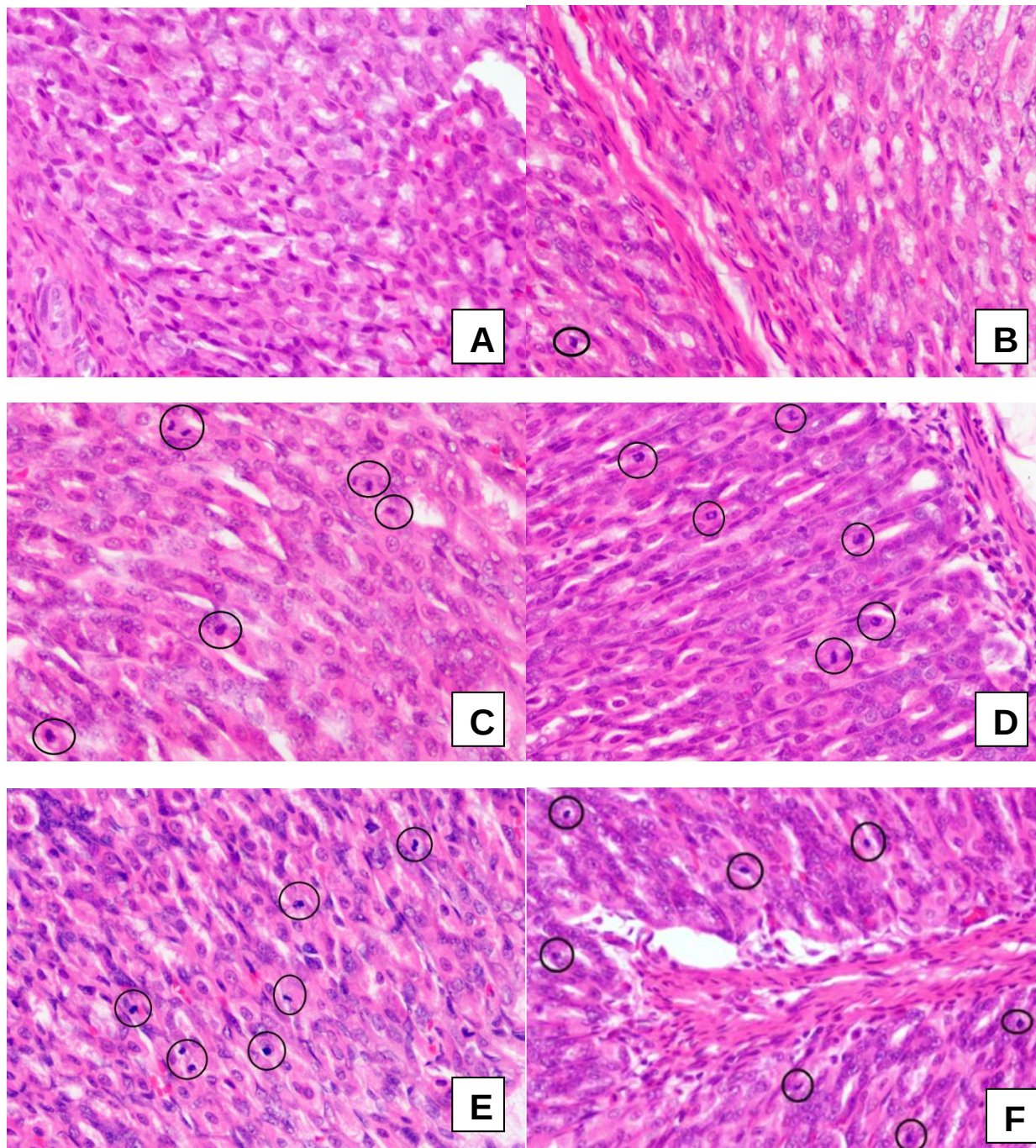
4.1. KVALITATIVNA HISTOLOŠKA ANALIZA

Histološkom, kvalitativnom analizom uzorka uočava se očuvanost kontinuiteta svih slojeva zida, ne samo u kontrolnim, već i u eksperimentalnim grupama tretiranim akrilamidom. Na prisutnoj sluznici, podsluznici, mišićnom i spoljašnjem sloju nisu uočena gruba oštećenja ili nedostatak bilo kojeg od pomenutih odeljaka tkiva. Površni epitel sluznice je prisutan, a epitelne ćelije su bez citoloških promena tipa vakuolarne degeneracije, erozije ili drugih patoloških promena. Epitel žlezda je bez prisutnih znakova metaplazije ili displazije. Debljina podsluznice u eksperimentalnim grupama, tretiranim akrilamidom pokazuje blago smanjenje. U lamini muskularis, kao ni u tunici muskularis, neke veće i značajnije promene se ne uočavaju (Slika 5, A-F).



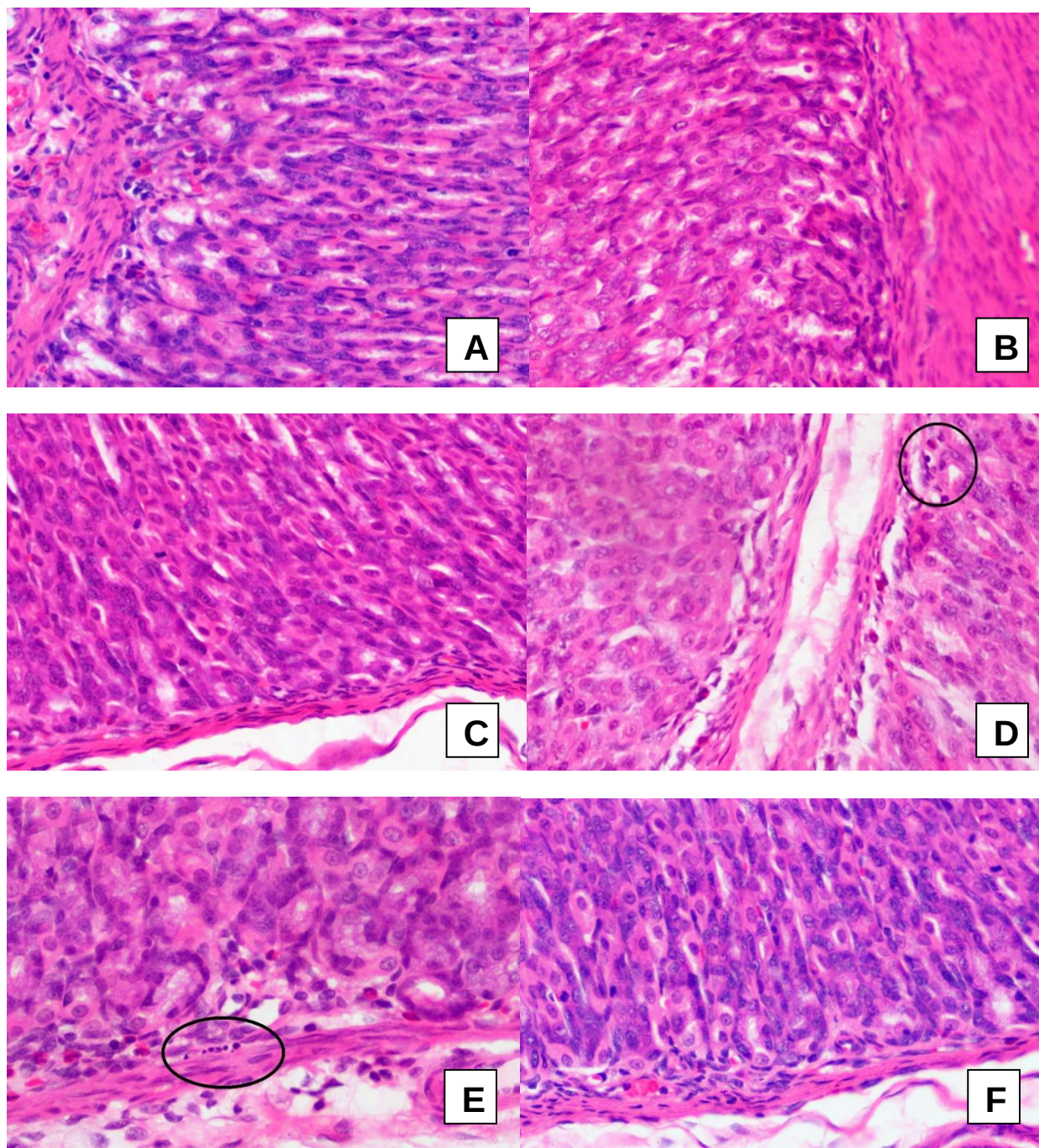
Slika 5: Prikaz histološke građe zida želuca pacova (HE, 10x). A: Kontrolna grupa K24. B: Kontrolna grupa K72. C: Eksperimentalna grupa AA25/24. D: Eksperimentalna grupa AA25/72. E: Eksperimentalna grupa AA50/24. F: Eksperimentalna grupa AA50/72

Brojnost ćelija u mitozu u epitelu sluznice želuca povećava se u grupama tretiranim akrilamidom (Slika 6, A-F).



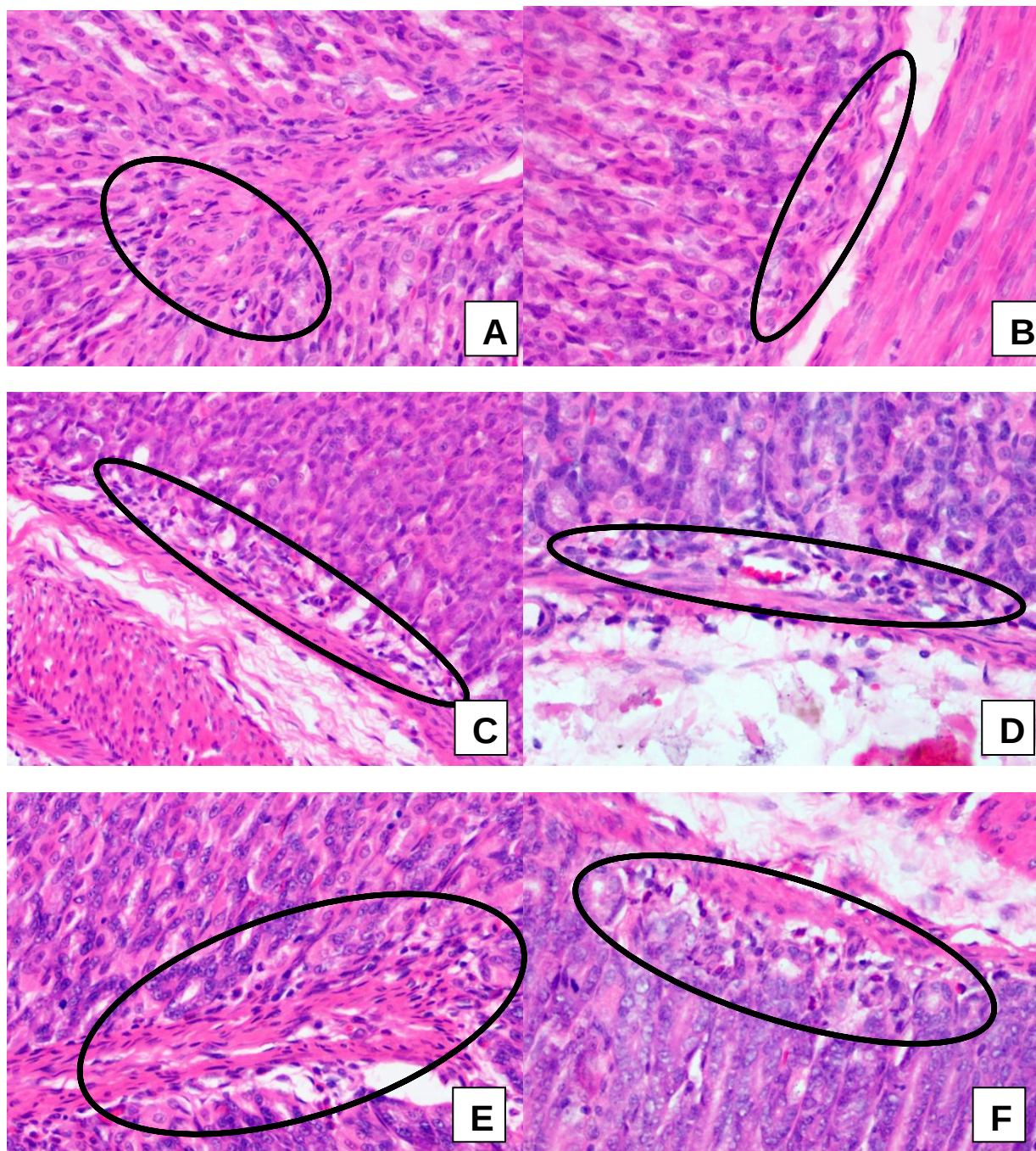
Slika 6: Prikaz ćelija u mitozu u epitelu sluznice želuca pacova (HE, 40x). A: Kontrolna grupa K24. B: Kontrolna grupa K72. C: Eksperimentalna grupa AA25/24. D: Eksperimentalna grupa AA25/72. E: Eksperimentalna grupa AA50/24. F: Eksperimentalna grupa AA50/72

Histološkom analizom preparata bojenih HE metodom, konstatovana je retka i sporadična prisutnost limfocita u pojedinim grupama tretiranim akrilamidom (Slika 7, A-F).



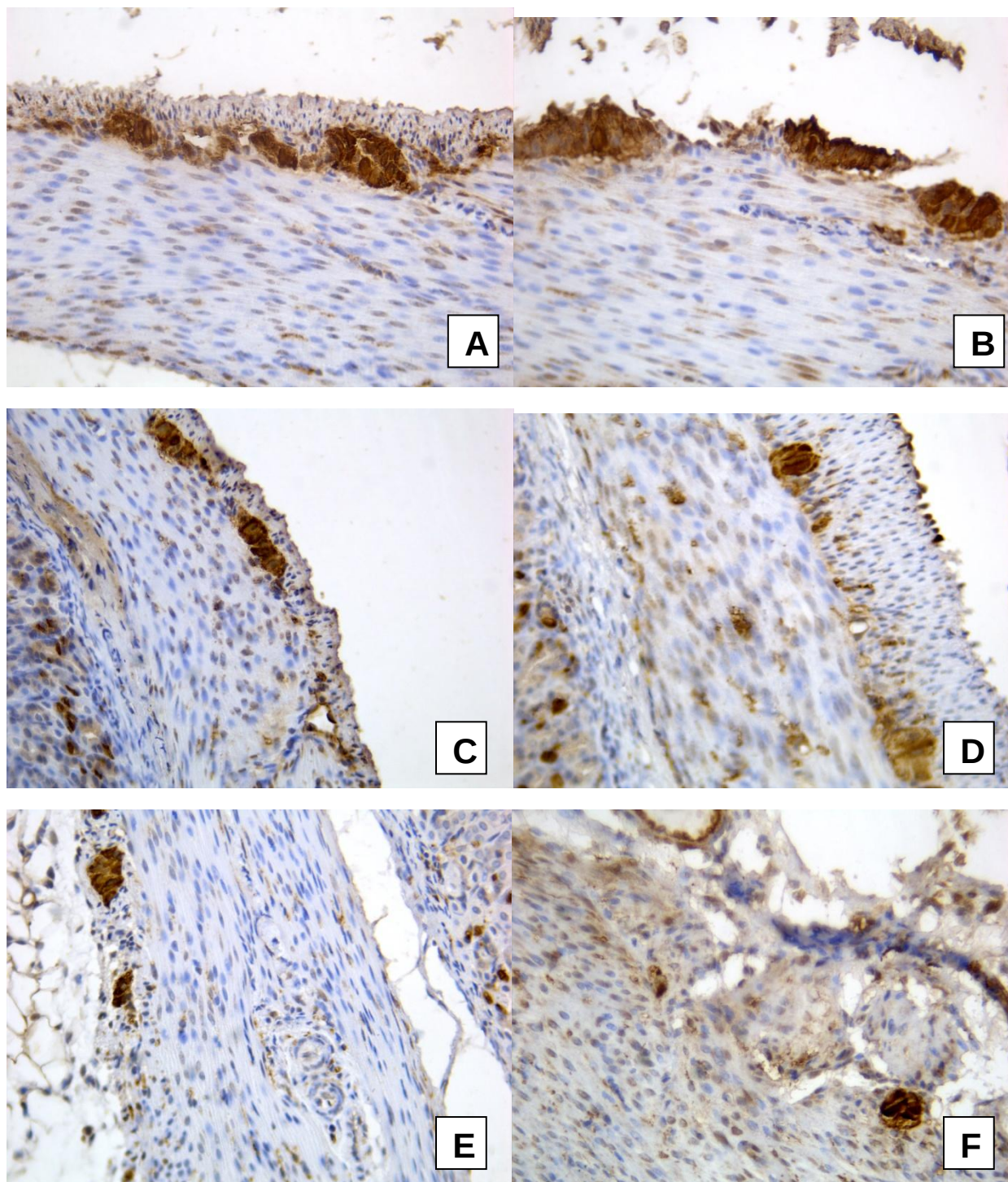
Slika 7: Prikaz limfocita u lamini propriji sluznice želuca pacova (HE, 40x). A: Kontrolna grupa K24. B: Kontrolna grupa K72. C: Eksperimentalna grupa AA25/24. D: Eksperimentalna grupa AA25/72. E: Eksperimentalna grupa AA50/24. F: Eksperimentalna grupa AA50/72

U lamini propriji konstatuje se prisustvo granulocitnog infiltrata i stiče se utisak povećanja broja zapaljenskih ćelija u grupama tretiranim akrilamidom (Slika 8, A-F).



Slika 8: Prikaz granulocita u lamini propriji sluznice želuca pacova (HE, 40x). A: Kontrolna grupa K24. B: Kontrolna grupa K72. C: Eksperimentalna grupa AA25/24. D: Eksperimentalna grupa AA25/72. E: Eksperimentalna grupa AA50/24. F: Eksperimentalna grupa AA50/72

Auerbach-ov i Meissner-ov nervni pleksus su prisutni u svim ispitivanim grupama životinja i ganglijske ćelije se uočavaju na svetlosnoj mikroskopiji (Slika 9, A-F).



Slika 9: Mienterični nervni pleksusi (PGP 9.5, 40x). A: Kontrolna grupa K24. B: Kontrolna grupa K72. C: Eksperimentalna grupa AA25/24. D: Eksperimentalna grupa AA25/72. E: Eksperimentalna grupa AA50/24. F: Eksperimentalna grupa AA50/72

4.2. SEMIKVANTITATIVNA HISTOLOŠKA ANALIZA

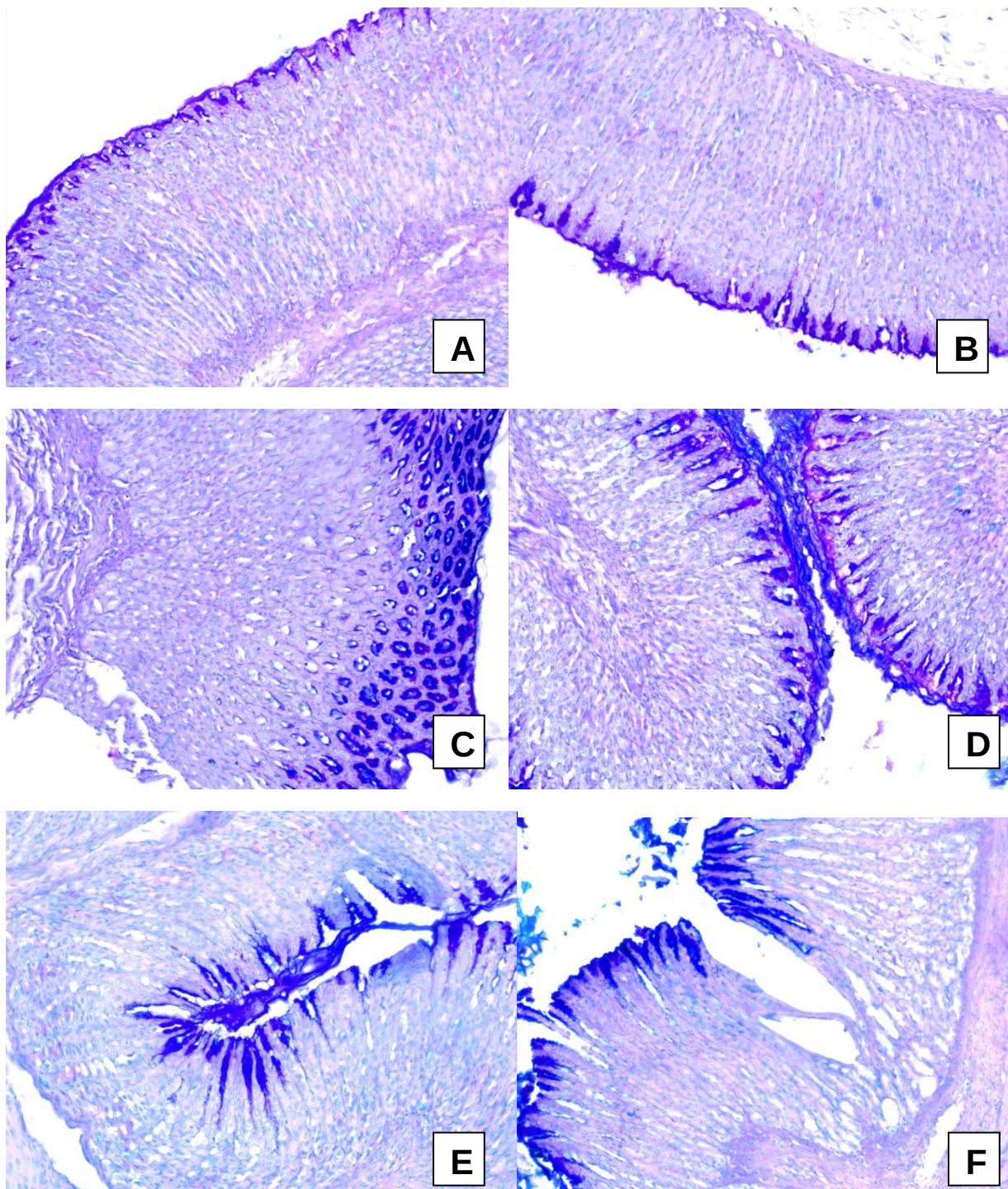
4.2.1. SEMIKVANTITATIVNA HISTOHEMIJSKA PROCENA TIP A MUCINA

Tip mucina analiziran je na preparatima bojenim sa PAS-AB histohemijskom metodom. U svim uzorcima iz kontrolnih grupa prisutni su neutralni intraepitelni mucini, te su ćelije PAS pozitivne i AB negativne (slika 8). Eksperimentalne grupe tretirane akrilamidom u svim dozama, kao i u svim vremenskim periodima pokazuju AB pozitivnost (slika 8). Step AB pozitivnosti u eksperimentalnim grupama kreće se od 0,6 do 1,2 (tabela 6) i ilustrativno je predstavljen na grafikonu 1.

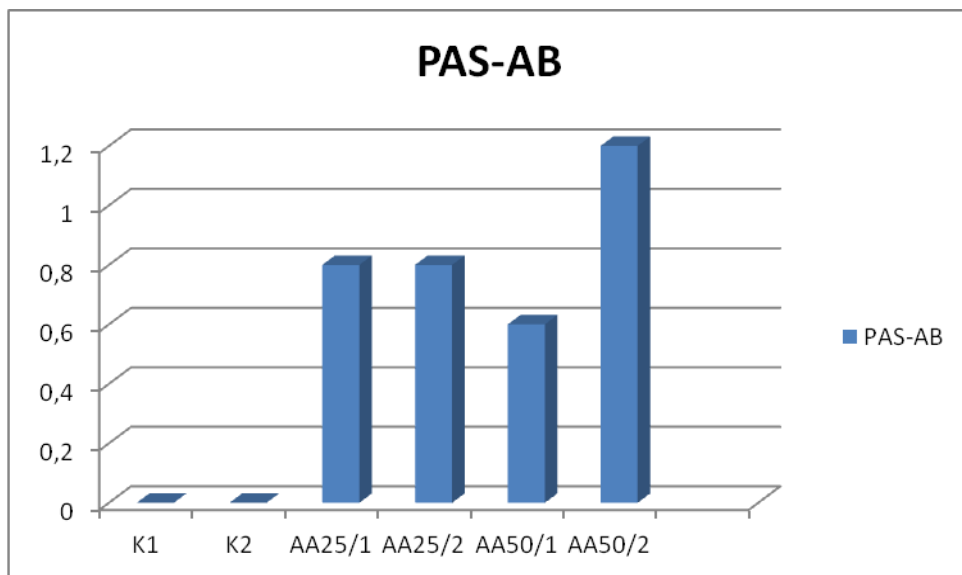
Tabela 7: Prikaz srednje (mean), minimalne (min) i maksimalne (max) vrednosti AB pozitivnosti mucina u površnim epitelnim ćelijama sluznice želuca u grupama eksperimentalnih životinja

	GRUPA	Mean	Min.	Max.
AB+	K24	0	0	0
	K72	0	0	0
	AA25/24	0,8	0	2
	AA25/72	0,8	0	1
	AA50/24	0,6	0	1
	AA50/72	1,2	1	2

Statističkom analizom semikvantitativno dobijene PAS-AB vrednosti i poređenjem po pojedinim grupama statistički značajna razlika nije konstatovana.



Slika 10: PAS-AB, 20x. A: Kontrolna grupa K24. B: Kontrolna grupa K72. C: Eksperimentalna grupa AA25/24. D: Eksperimentalna grupa AA25/72. E: Eksperimentalna grupa AA50/24. F: Eksperimentalna grupa AA50/72



Grafikon1: Semikvantitativne vrednosti PAS-AB pozitivnosti u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

4.2.2. SEMIKVANTITATIVNA PROCENA INFLAMATORNOG ODGOVORA

4.2.2.1. SEMIKVANTITATIVNA PROCENA PRISUSTVA LIMFOCITA

U kontrolnim grupama nije uočeno prisustvo limfocita, te su ocenjeni ocenom 0. U eksperimentalnim grupama AA25/72 i AA50/24 prisutni su retki i sporadični limfociti i semikvantitativna ocena njihovog prisustva je 1 (tabela 8). U eksperimentalnim grupama AA25/24 i AA50/72 nisu uočene nakupine limfocita.

Tabela 8: Semikvantitativna analiza prisustva limfocita u sluznici želuca pacova

	GRUPA	Mean	Min.	Max.
Ly	K24	0	0	0
	K72	0	0	0
	AA25/24	0	0	0
	AA25/72	0,4	0	1
	AA50/24	0,2	0	1
	AA50/72	0	0	0

Statističkom analizom semikvantitativno dobijene stope prisustva limfocita i poređenjem po pojedinim grupama statistički značajna razlika nije konstatovana.

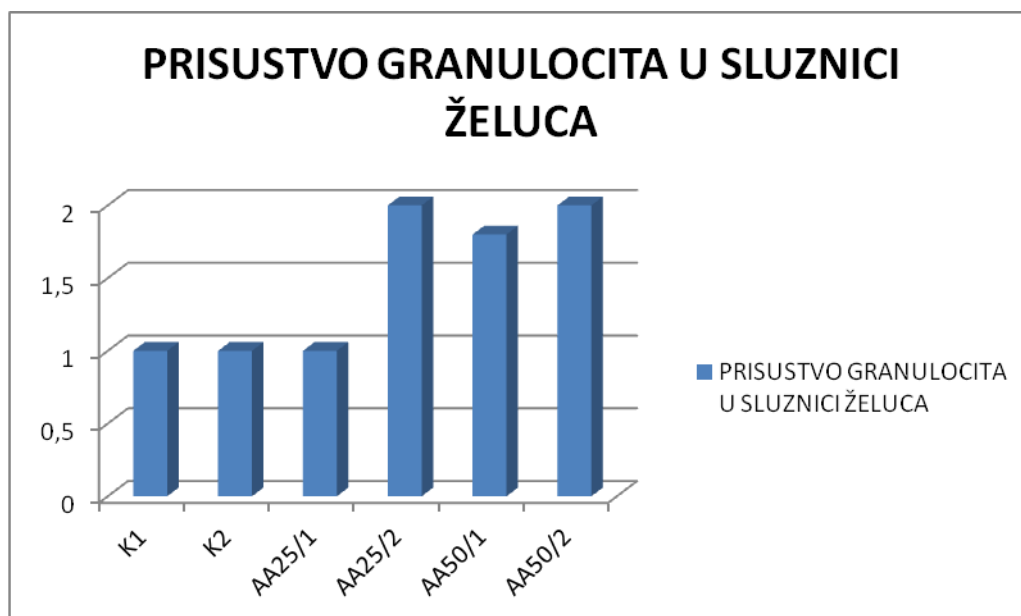
4.2.2.2. SEMIKVANTITATIVNA PROCENA PRISUSTVA GRANULOCITA

Granulociti su u kontrolnim grupama i eksperimentalnoj grupi AA25/24 prisutni u lamini propriji i ocenjeni ocenom 1 (Tabela 9). U eksperimentalnim grupama AA25/72, AA50/24 i AA50/72 semikvantitativna ocena prisutnosti granulocita u lamini propriji raste i kreće se od ocene 1,8 do 2 (Tabela 9). Kretanje semikvantitativnih vrednosti prisustva granulocita u sluznici želuca po grupama eksperimentalnih životinja ilustrativno su predstavljeni na grafikonu 2.

Tabela 9: Semikvantitativna analiza prisustva granulocita u lamini propriji sluznice želuca pacova

	GRUPA	Mean	Min.	Max.
Gr	K24	1	1	1
	K72	1	1	1
	AA25/24	1	1	1
	AA25/72	2	2	2
	AA50/24	1,8	1	2
	AA50/72	2	2	2

Statističkom analizom semikvantitativno dobijene stope prisustva granulocita i poređenjem po pojedinim grupama statistički značajna razlika nije konstatovana.



Grafikon 2: Grafički prikaz semikvantitativnih vrednosti prisustva granulocita u sluznici želuca u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

4.3. REZULTATI STEREOLOŠKIH MERENJA

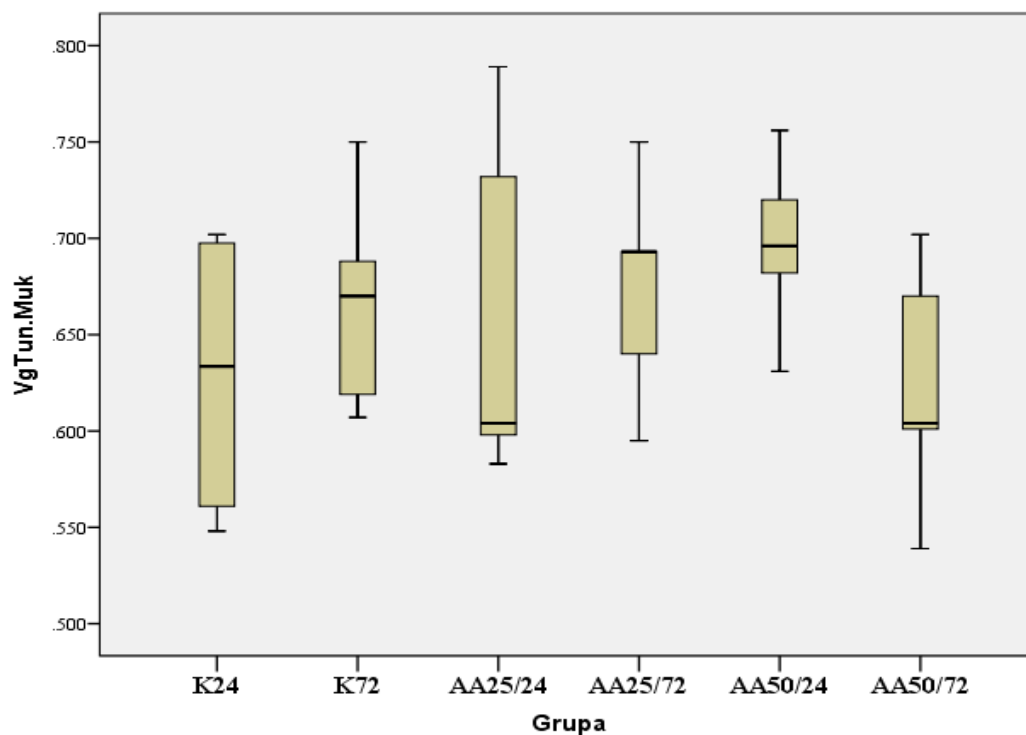
4.3.1. VOLUMENSKA GUSTINA SLUZNICE (TUNIKE MUKOZE)

Vrednosti volumenske gustine sluznice u grupama tretiranim akrilamidom u odnosu na vrednosti u kontrolnim grupama pokazuju blagi porast (tabela 10). U eksperimentalnoj grupi AA50/72 zabeležen je blagi pad vrednosti volumenske gustine sluznice u odnosu na kontrolnu grupu i ostale eksperimentalne grupe. Na box plot-u br. 1 se jasno vidi da je ovakav rezultat posledica velikog odstupanja vrednosti kod jedne jedinke u okviru grupe, koja je čak niža od najniže zabeležene vrednosti u kontrolnim grupama (box plot 1).

Tabela 10: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) volumenske gustine tunicae mucosae u zidu želuca u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
Vv_{tm} (mm⁰)	K24	0.6293	0.548	0.702	0.0796
	K72	0.6668	0.607	0.750	0.0575
	AA25/24	0.6612	0.583	0.789	0.0932
	AA25/72	0.6742	0.595	0.750	0.059
	AA50/24	0.6970	0.631	0.756	0.0463
	AA50/72	0.6232	0.539	0.702	0.0639

Statističkom analizom vrednosti volumenske gustine sluznice i poređenjem po pojedinim grupama statistički značajna razlika nije nađena.



Box plot 1: Prikaz vrednosti volumenske gustine sluznice u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

4.3.2. VOLUMENSKA GUSTINA POVRŠNOG EPITELA

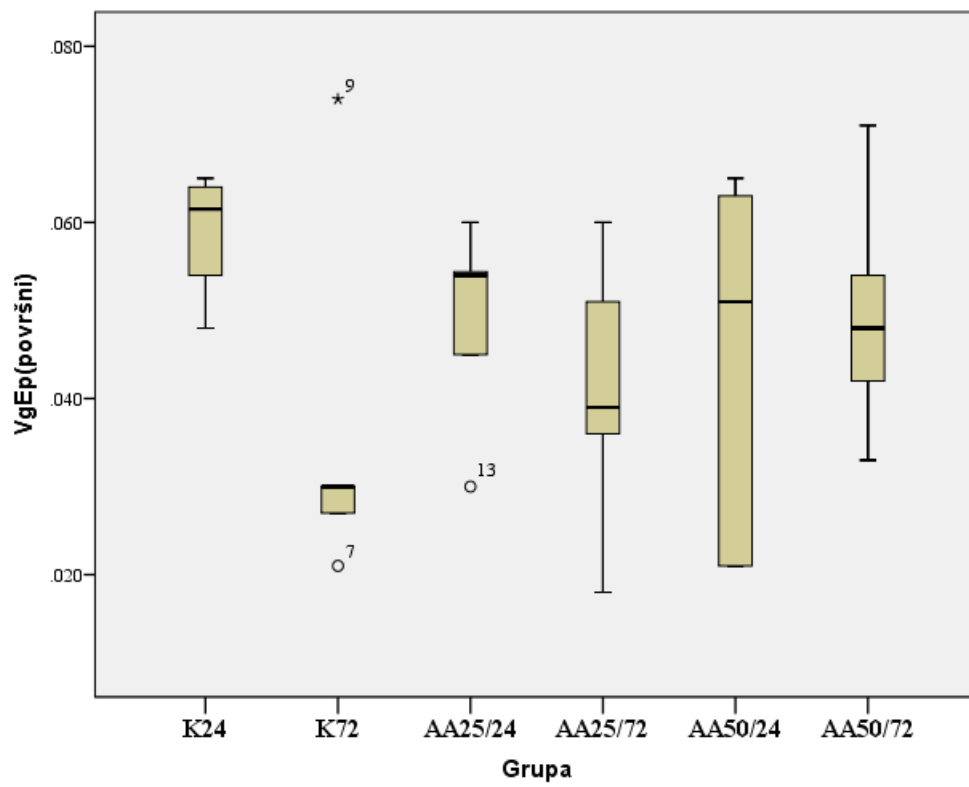
Vrednosti volumenske gustine površnog epitela u grupama tretiranim akrilamidom u odnosu na vrednosti u kontrolnim grupama pokazuju pad (tabela 11).

Tabela 11: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) volumenske gustine površnog epitela u zidu želuca u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
V_{vpe} (mm⁰)	K24	0.0590	0.0480	0.0650	0.0076
	K72	0.0364	0.0210	0.0740	0.0213
	AA25/24	0.0487	0.0300	0.0600	0.0117
	AA25/72	0.0408	0.0180	0.0600	0.016
	AA50/24	0.0442	0.0210	0.0650	0.0218
	AA50/72	0.0496	0.0330	0.0710	0.0143

Analizom predstavljenih rezultata u *box plot-u* 2, vidi se odstupanje vrednosti volumenske gustine površnog epitela u kontrolnoj grupi K72 (tretirani destilovanom vodom 72h). Zabeležene su izuzetno niske vrednosti volumenske gustine površnog epitela kod jedinki iz pomenute grupe u odnosu na drugu kontrolnu grupu, te je samim time to uzrok ovakve distribucije i pojave ekstremnih vrednosti rezultata.

Statistički značajne razlike između vrednosti volumenske gustine površnog epitela pojedinih grupa nisu nađene.



Box plot 2: Prikaz vrednosti volumenske gustine površnog epitela u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

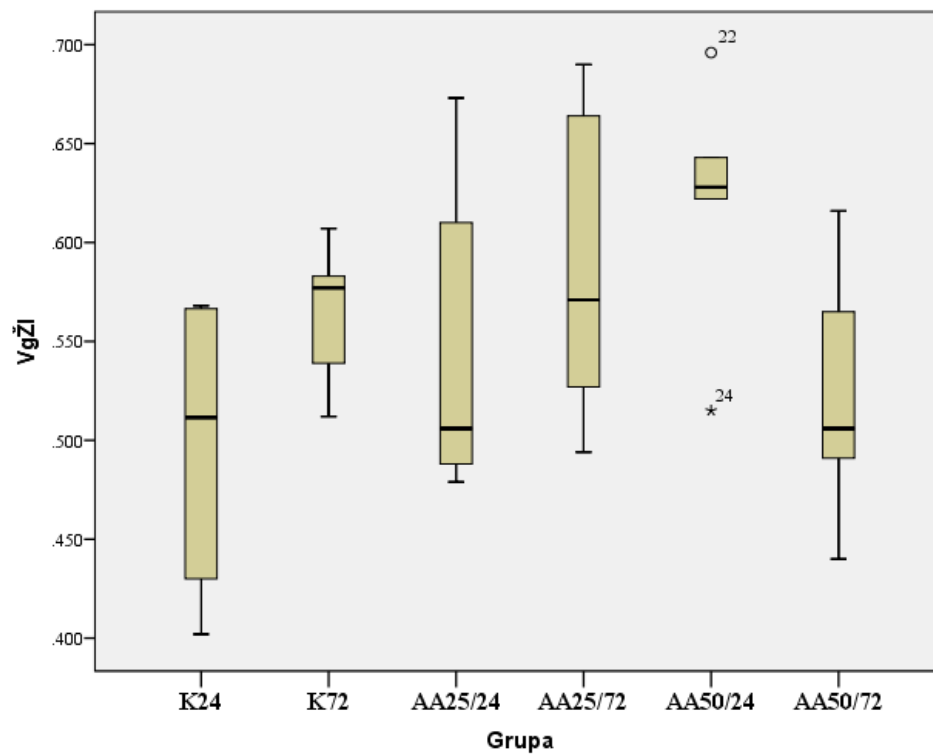
4.3.3. VOLUMENSKA GUSTINA ŽLEZDA

Poređenjem dobijenih vrednosti volumenske gustine žlezda u grupama tretiranim akrilamidom u odnosu na vrednosti u kontrolnim grupama uočava se porast volumenske gustine žlezda u eksperimentalnim grupama tretiranim akrilamidom (tabela 12).

Tabela 12: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) volumenske gustine žlezda u zidu želuca u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
Vvž (mm⁰)	K24	0.4983	0.402	0.568	0.0821
	K72	0.5636	0.512	0.607	0.0378
	AA25/24	0.5512	0.479	0.673	0.0859
	AA25/72	0.5892	0.494	0.690	0.0852
	AA50/24	0.6208	0.515	0.696	0.0659
	AA50/72	0.5236	0.440	0.616	0.0682

U svim grupama tretiranim akrilamidom uočava se porast volumenske gustine žlezda u odnosu na kontrolne grupe, koji je za grupu AA 50/24 u odnosu na kontrolu K24 i statistički značajan ($p=0,05$; $U=2.000$). Između srednjih vrednosti volumenske gustine žlezda postoji statistički značajan pad u grupi AA 50/72 u odnosu na grupu AA 50/24 ($p=0,028$; $U=1.000$), koji se može objasniti pojavom ekstremno niskih vrednosti u okviru grupe, a što se jasno vidi u *box plot-u* 3.



Box plot 3: Prikaz vrednosti volumenske gustine žlezda u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

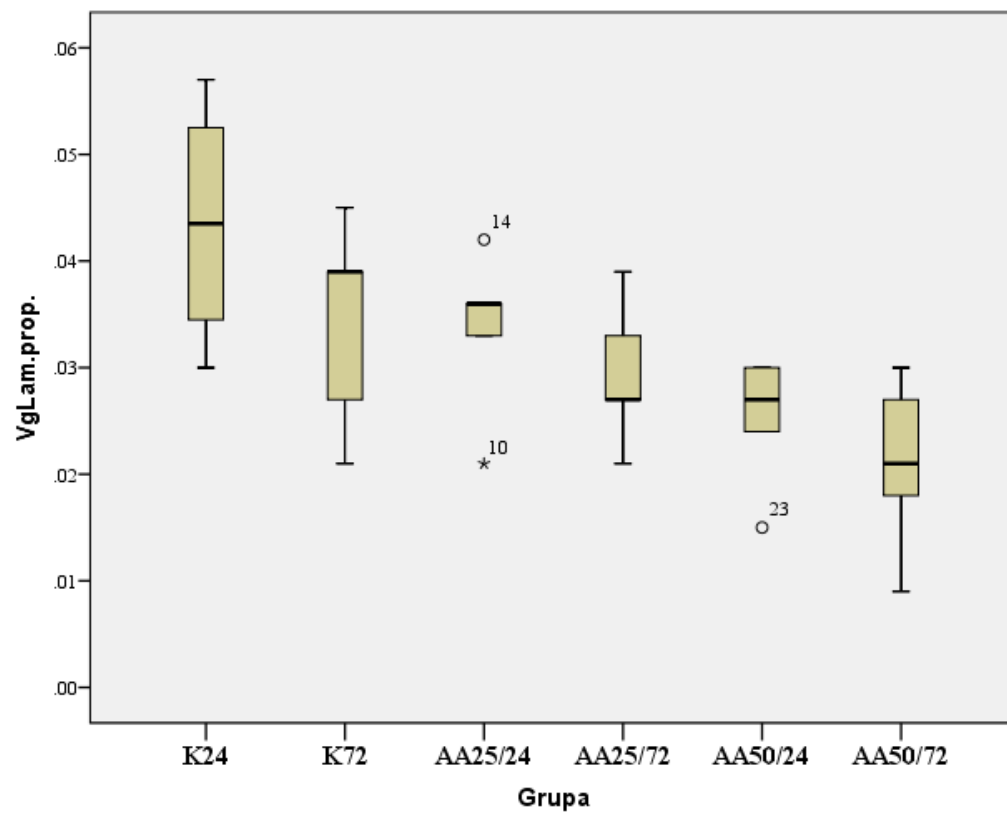
4.3.4. VOLUMENSKA GUSTINA LAMINE PROPRIJE

Rezultati merenja vrednosti volumenske gustine lamine proprije u grupama tretiranim akrilamidom pokazuju pad u odnosu na vrednosti u kontrolnim grupama (tabela 13).

Tabela 13: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) volumenske gustine lamine proprije sluznice želuca u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
Vvlp (mm⁰)	K24	0.0435	0.0300	0.0570	0.0116
	K72	0.0342	0.0210	0.0450	0.0099
	AA25/24	0.0336	0.0210	0.0420	0.0078
	AA25/72	0.0294	0.0210	0.0390	0.0068
	AA50/24	0.0252	0.0150	0.0300	0.0062
	AA50/72	0.0210	0.0090	0.0300	0.0082

Vrednosti volumenske gustine lamine proprije pokazuju statistički značajan pad u grupi životinja tretiranih dozom akrilamida od 50 mg/kg 24h (AA 50/24) u odnosu na kontrolu K24 ($p=0,025$; $U=1.000$). Iako prisutan, pad volumenske gustine lamine proprije u ostalim grupama nije statistički značajan (*box plot 4*).



Box plot 4: Prikaz vrednosti volumenske gustine lamine proprije u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

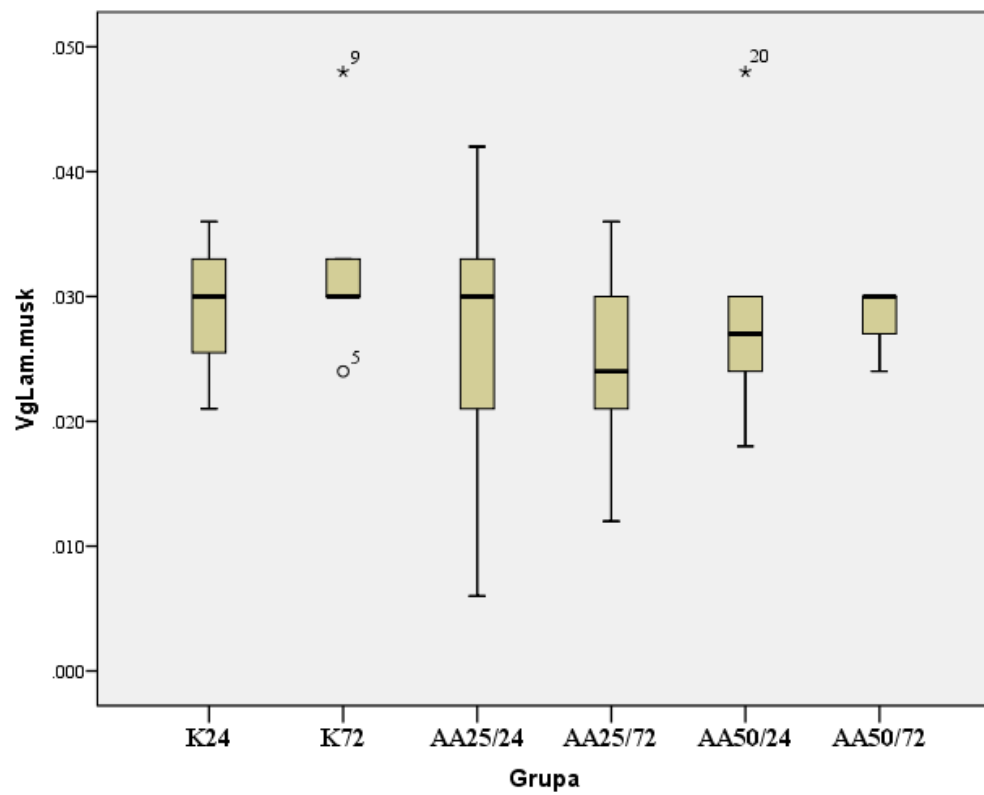
4.3.5. VOLUMENSKA GUSTINA LAMINE MUSKULARIS

Posmatrajući dobijene rezultate, uočava se pad vrednosti volumenske gustine lamine muskularis u grupama tretiranim akrilamidom u odnosu na kontrolne grupe (tabela 14). Produženje vremenskog perioda izlaganja akrilamidu dovodi do većeg pada vrednosti volumenske gustine lamine muskularis (*box plot 5*).

Tabela 14: Srednja vrednost (*mean*), minimalna (*min*), maksimalna vrednost (*max*) i standardna devijacija (*SD*) volumenske gustine lamine muskularis sluznice želuca u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
V_{lm} (mm⁰)	K24	0.0293	0.0210	0.0360	0.0062
	K72	0.0330	0.0240	0.0480	0.0090
	AA25/24	0.0264	0.0060	0.0420	0.0136
	AA25/72	0.0246	0.0120	0.0360	0.0091
	AA50/24	0.0294	0.0180	0.0480	0.0113
	AA50/72	0.0282	0.0240	0.0300	0.0027

Statistički značajna razlika nije zabeležena između vrednosti volumenske gustine lamine muskularis u eksperimentalnim grupama životinja.



Box plot 5: Prikaz vrednosti volumenske gustine lamine muskularis u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

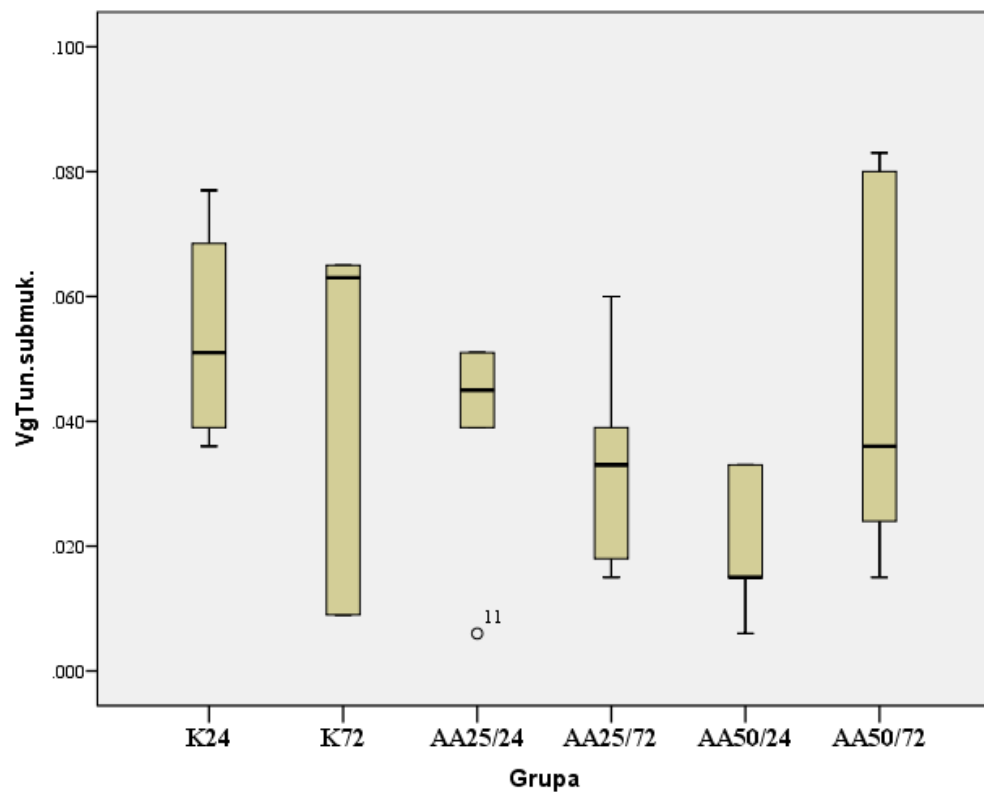
4.3.6. VOLUMENSKA GUSTINA PODSLUZNICE

Vrednosti volumenske gustine podsluznice u grupama tretiranim akrilamidom u odnosu na vrednosti u kontrolnim grupama pokazuju pad (tabela 15). Veličina doze i dužina izloženosti vode proporcionalno većem padu vrednosti volumenske gustine podsluznice. U eksperimentalnoj grupi AA50/72 uočava se odstupanje vrednosti volumenske gustine podsluznice, koja pokazuje veće vrednosti nego odgovarajuća kontrolna grupa (K72). Na box plot-u broj 6 može se videti da je takva vrednost posledica odstupanja individualnih vrednosti u okviru grupe (box plot 6).

Tabela 15: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) volumenske gustine tunicae submucosae u zidu želuca u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
Vvtsm (mm⁰)	K24	0.0538	0.0360	0.0770	0.0186
	K72	0.0422	0.0090	0.0650	0.0303
	AA25/24	0.0384	0.0060	0.0510	0.0188
	AA25/72	0.0330	0.0150	0.0600	0.0181
	AA50/24	0.0204	0.0060	0.0330	0.0121
	AA50/72	0.0476	0.0150	0.0830	0.0318

Između srednjih vrednosti volumenske gustine podsluznice konstatovan je statistički značajan pad u eksperimentalnoj grupi AA 50/24 u odnosu na kontrolnu grupu K24 (p=0,014; U=1.000).



Box plot 6: Prikaz vrednosti volumenske gustine podsluznice u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

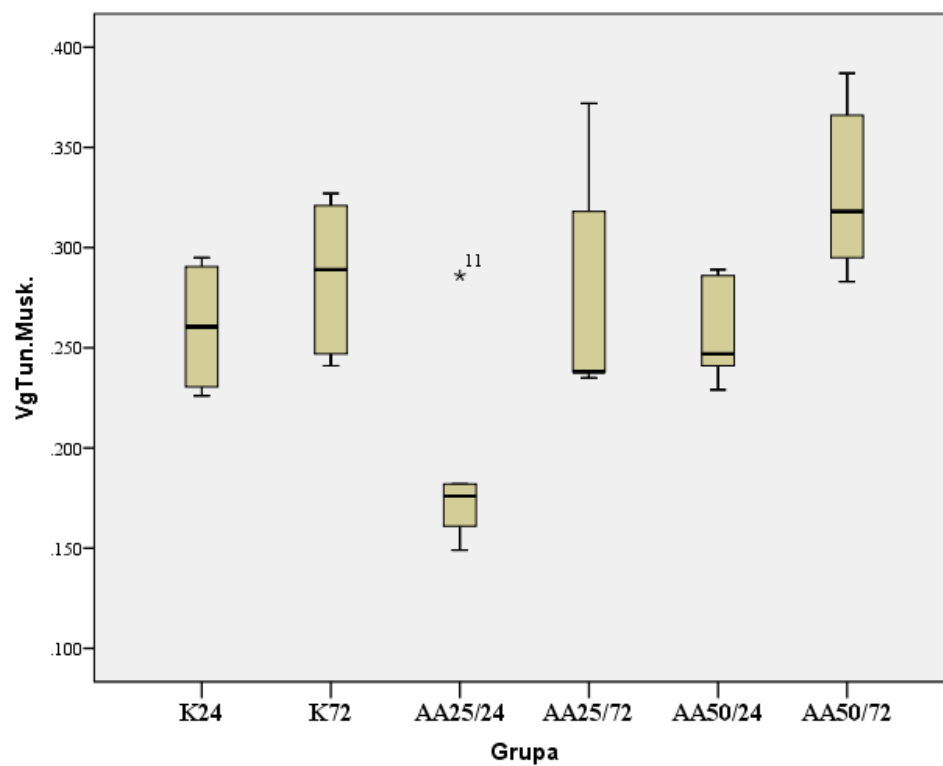
4.3.7. VOLUMENSKA GUSTINA MIŠIĆNOG SLOJA

Volumenska gustina mišićnog sloja u grupama tretiranim akrilamidom pokazuje najprepad vrednosti u odnosu na kontrolne grupe, da bi produženjem vremena izlaganja akrilamidu i povećanjem doze došlo do povećanja vrednosti volumenske gustine mišićnog sloja (tabela 16, box plot 7).

Tabela 16: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) volumenske gustine tunicae muscularis u zidu želuca u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
Vvtmusc (mm⁰)	K24	0.2605	0.226	0.295	0.0350
	K72	0.2850	0.241	0.327	0.0402
	AA25/24	0.1908	0.149	0.286	0.0548
	AA25/72	0.2802	0.235	0.372	0.0622
	AA50/24	0.2584	0.229	0.289	0.0274
	AA50/72	0.3298	0.283	0.387	0.0451

Statistički značajna razlika volumenske gustine tunike muskularis registrovana je između grupa AA25/24 i AA 25/72 ($p=0,047$; $U=3,000$), kao i između grupa AA 50/24 i AA 50/72 ($p=0,028$; $U=2,000$). Između pomenutih grupa dolazi do statistički značajnog porasta volumenske gustine tunike muskularis, povezanog sa dužim periodom izlaganja akrilamidu.



Box plot 7: Prikaz vrednosti volumenske gustine mišićnog sloja u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

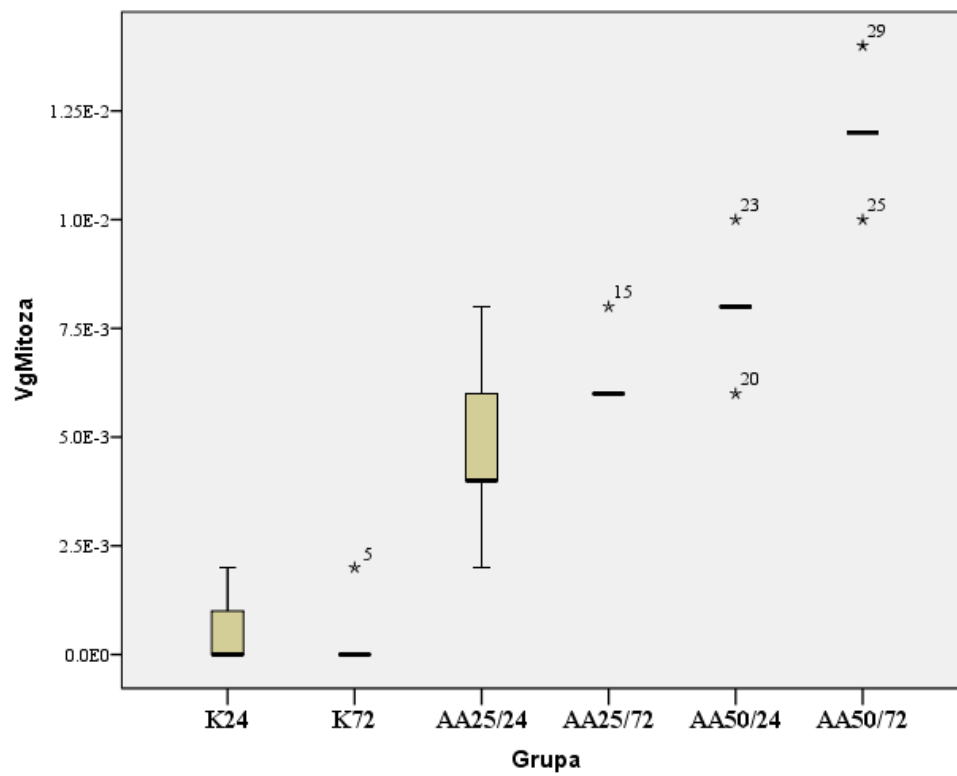
4.3.8. VOLUMENSKA GUSTINA ĆELIJA U MITOZI

Dobijene vrednosti volumenske gustine ćelija u mitozu pokazuju porast, koji je veći u grupama tretiranim većom dozom akrilamida, a takođe i produženjem vremena izlaganja akrilamidu (tabela 17).

Tabela 17: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) volumenske gustine ćelija u mitozu u sluznici želuca u pojedinim grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
V_{vm} (mm⁰)	K24	0.0005	0.000	0.002	0.0010
	K72	0.0004	0.000	0.002	0.0009
	AA25/24	0.0048	0.002	0.008	0.0023
	AA25/72	0.0064	0.006	0.008	0.0009
	AA50/24	0.0080	0.006	0.010	0.0014
	AA50/72	0.0120	0.010	0.014	0.0014

Volumenska gustina mitozu pokazuje statistički značajan porast između sledećih grupa: K24 i AA 25/24 (p=0,017; U=0.500), K24 i AA 50/24 (p=0,011; U=0.000), K72 i AA 25/72 (p=0,005; U=0.000), K72 i AA50/72 (p=0,006; U=0,000), AA 25/24 i AA 50/24 (p=0,039; U=3.000), AA 25/72 i AA 50/72 (p=0,006; U=0.000), AA 50/24 i AA 50/72 (p=0,010; U=0.500). Ovako dobijene vrednosti (*box plot 8*) pokazuju da povećanje doze, kao i vremena izloženosti akrilamidu doprinose povećanju volumenske gustine mitozu u grupama tretiranih životinja.



Box plot 8: Prikaz vrednosti volumenske gustine ćelija u mitozu u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

4.3.9. VOLUMENSKA GUSTINA NERVNIH PLEKSUSA

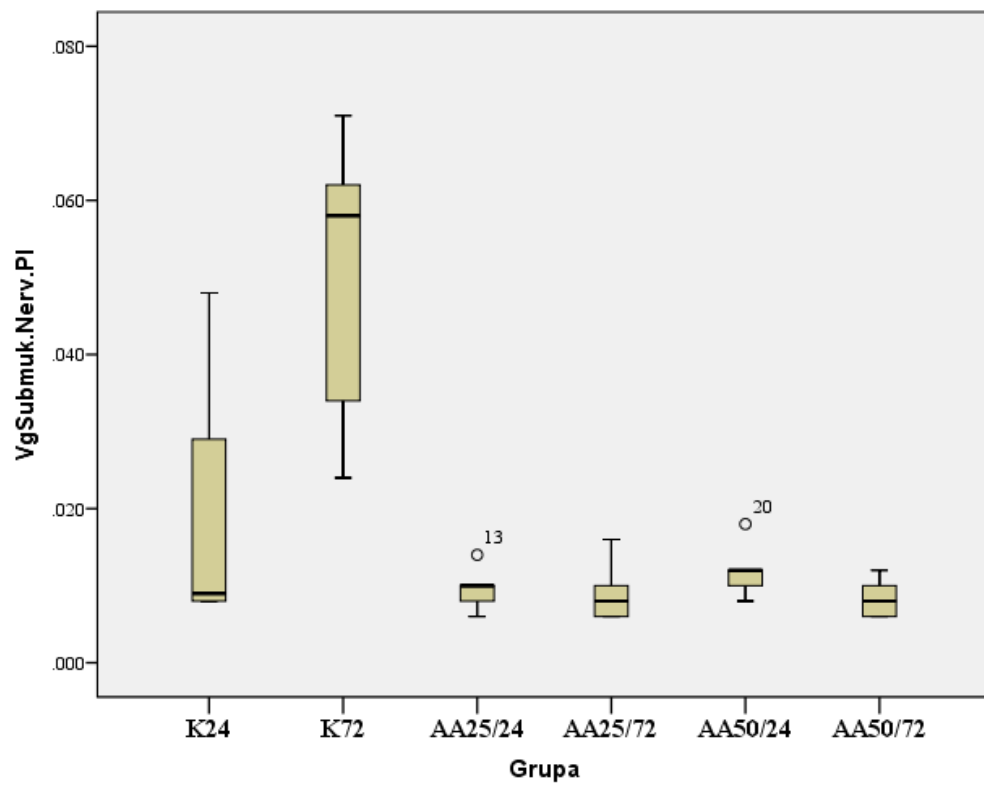
4.3.9.1. VOLUMENSKA GUSTINA SUBMUKOZNOG NERVNOG PLEKSUSA

Vrednosti volumenske gustine submukoznog nervnog plexusa pokazuju pad u grupama tretiranim akrilamidom u odnosu na kontrolne grupe (tabela 18). Zabeleženi pad vrednosti volumenske gustine submukoznog nervnog plexusa je neznatno veći sa produženjem vremena izlaganja akrilamidu, dok se s povećanjem doze ne uočava veći pad vrednosti.

Tabela 18: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) volumenske gustine submukoznog nervnog plexusa u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
V_{vsmnp} (mm⁰)	K24	0.0185	0.0080	0.0480	0.0197
	K72	0.0498	0.0240	0.0710	0.0199
	AA25/24	0.0096	0.0060	0.0140	0.003
	AA25/72	0.0092	0.0060	0.0160	0.0041
	AA50/24	0.0120	0.0080	0.0180	0.0037
	AA50/72	0.0084	0.0060	0.0120	0.0026

Volumenska gustina submukoznog nervnog plexusa pokazuje statistički značajan pad u grupama tretiranim akrilamidom dozom od 25 mg/kg, 72h (AA 25/2) i dozom od 50 mg/kg, 72h (AA 50/72) u odnosu na kontrolnu grupu K72 (p=0,009; U=0.000).



Box plot 9: Prikaz vrednosti volumenske gustine submukoznog nervnog plexusa u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

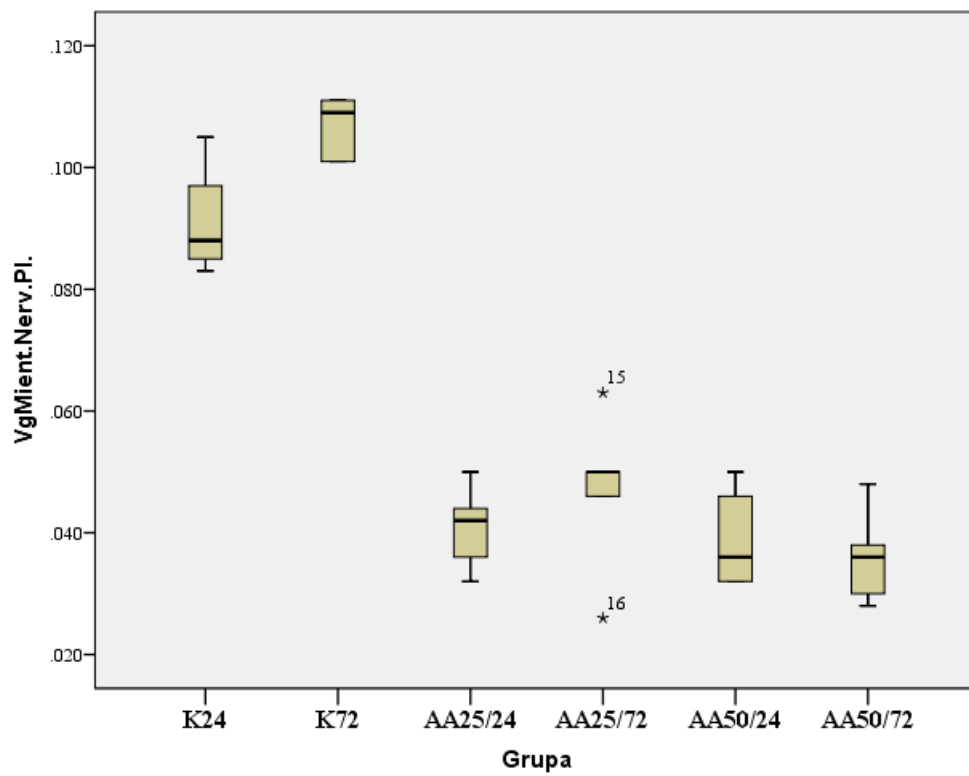
4.3.9.2. VOLUMENSKA GUSTINA MIENTERIČNOG NERVNOG PLEKSUSA

Vrednosti volumenske gustine mienteričnog nervnog pleksusa pokazuju pad u grupama tretiranim akrilamidom u odnosu na kontrolne grupe (tabela 19), s tim da je taj pad nešto veći u grupama tretiranim većom dozom akrilamida (AA50/24 i AA50/72).

Tabela 19: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) volumenske gustine mienteričnog nervnog pleksusa u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
Vvmnp (mm⁰)	K24	0.0910	0.083	0.105	0.0097
	K72	0.1066	0.101	0.111	0.0052
	AA25/24	0.0408	0.032	0.050	0.0070
	AA25/72	0.0470	0.026	0.063	0.0134
	AA50/24	0.0392	0.032	0.050	0.0083
	AA50/72	0.0360	0.028	0.048	0.0079

Između srednjih vrednosti volumenske gustine mienteričnog nervnog pleksusa konstatovana je statistički značajna razlika u grupama K24 i AA 25/24 ($p=0,014$; $U=0.000$), K24 i AA 50/24 ($p=0,014$; $U=0.000$), K72 i AA 25/72 ($p=0,008$; $U=0.000$), K72 i AA50/72 ($p=0,009$; $U=0.000$). Pad vrednosti volumenske gustine mienteričnog nervnog pleksusa konstatovan je u svim grupama tretiranim akrilamidom (*box plot 10*) i pokazuje statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolne grupe. Međutim, ovakav rezultat pokazuje da promene nastale na mienteričnom pleksusu nisu uslovljene ni povećanjem doze, ni produženjem vremena izlaganja jedinke akrilamidu.



Box plot 10: Prikaz vrednosti volumenske gustine mienteričnog nervnog plexusa u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

4.3.10. VOLUMENSKA GUSTINA GANGLIJSKIH ĆELIJA

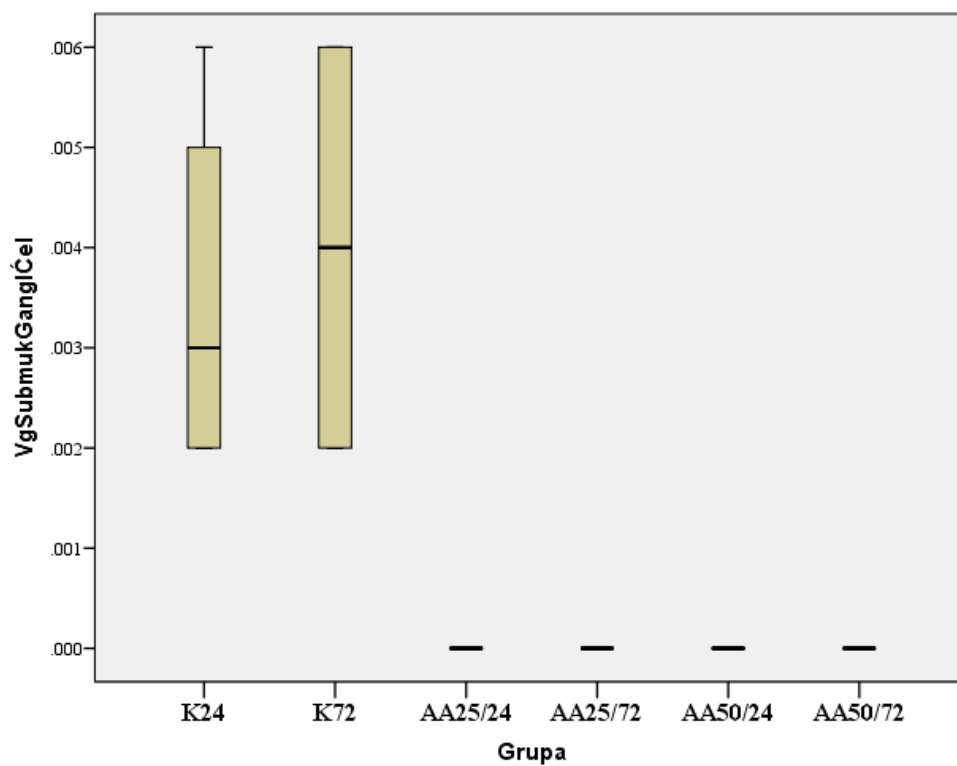
4.3.10.1. VOLUMENSKA GUSTINA GANGLIJSKIH ĆELIJA U SUBMUKOZNOM NERNVOM PLEKSUSU

Volumenska gustina ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu prikazana je u tabeli broj 20 i na box plotu broj 11. Vrednosti volumenske gustine ganglijskih ćelija u kontrolnim grupama su približno jednake, dok u eksperimentalnim grupama životinja ganglijske ćelije u submukoznom nervnom pleksusu nisu konstatovane.

Tabela 20: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) volumenske gustine ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
<i>V_{gčsmp}</i> <i>(mm⁰)</i>	K24	0.0035	0,002	0,006	0,0019
	K72	0,004	0,002	0,006	0,002
	AA25/24	0.000	0.000	0.000	0.000
	AA25/72	0.000	0.000	0.000	0.000
	AA50/24	0.000	0.000	0.000	0.000
	AA50/72	0.000	0.000	0.000	0.000

Razlika vrednosti volumenskih gustina ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu je statistički značajna za sledeće grupe: K24 i AA25/24 (p=0,007; U=0.000), K24 i AA 50/24 (p=0,007; U= 0.000), K72 i AA 25/72 (p=0,005; U=0.000), K72 i AA 50/72 (p=0,005; U=0.000).



Box plot 11: Prikaz vrednosti volumenske gustine ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu po grupama eksperimentalnih životinja

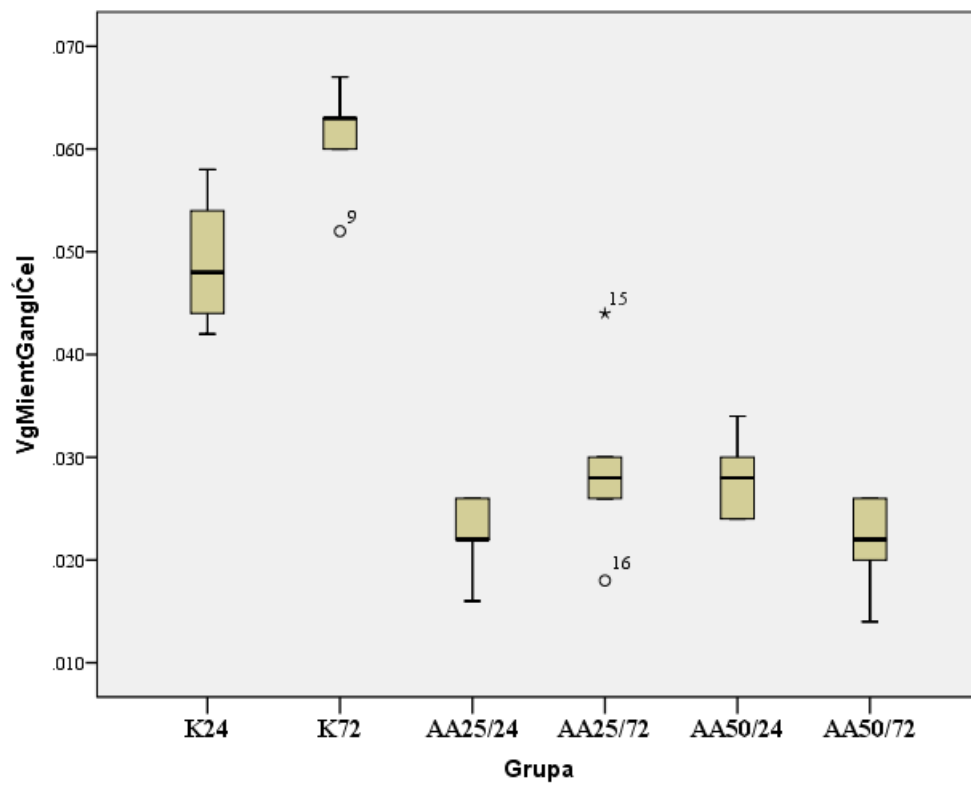
4.3.10.2. *VOLUMENSKA GUSTINA GANGLIJSKIH ČELIJA U MIENTERIČNOM NERNVOM PLEKSUSU*

Vrednosti volumenske gustine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu pokazuju niže vrednosti u svim eksperimentalnim grupama tretiranim akrilamidom u odnosu na kontrolne grupe (tabela 21). Razlika vrednosti volumenske gustine ganglijskih ćelija u grupama tretiranim akrilamidom bez obzira na dozu i vreme izlaganja akrilamidu je neznatna.

Tabela 21: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) volumenske gustine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
Vvgćmp (mm⁰)	K24	0.0490	0.042	0.058	0.0068
	K72	0.0610	0.052	0.067	0.0056
	AA25/24	0.0224	0.016	0.026	0.0041
	AA25/72	0.0292	0.018	0.044	0.0094
	AA50/24	0.0280	0.024	0.034	0.0042
	AA50/72	0.0216	0.014	0.026	0.005

Razlika vrednosti volumenskih gustina ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu je statistički značajna za sledeće grupe: K24 i K72 (p=0,027; U=1.000), K24 i AA 25/24 (p=0,014; U= 0.000), K24 i AA 50/24 (p=0,014; U=0,000), K72 i AA 25/72 (p=0,009; U=0.000), K72 i AA 50/72 (p=0,009; U=0.000). Konstatovani pad vrednosti volumenske gustine ganglijskih ćelija pokazuje statistički značajan pad vrednosti u odnosu na kontrolne grupe. Nastalo oštećenje zavisi i od doze i od vremena izlaganja akrilamidu (*box plot 12*).



Box plot 12: Prikaz vrednosti volumenske gustine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu po grupama eksperimentalnih životinja

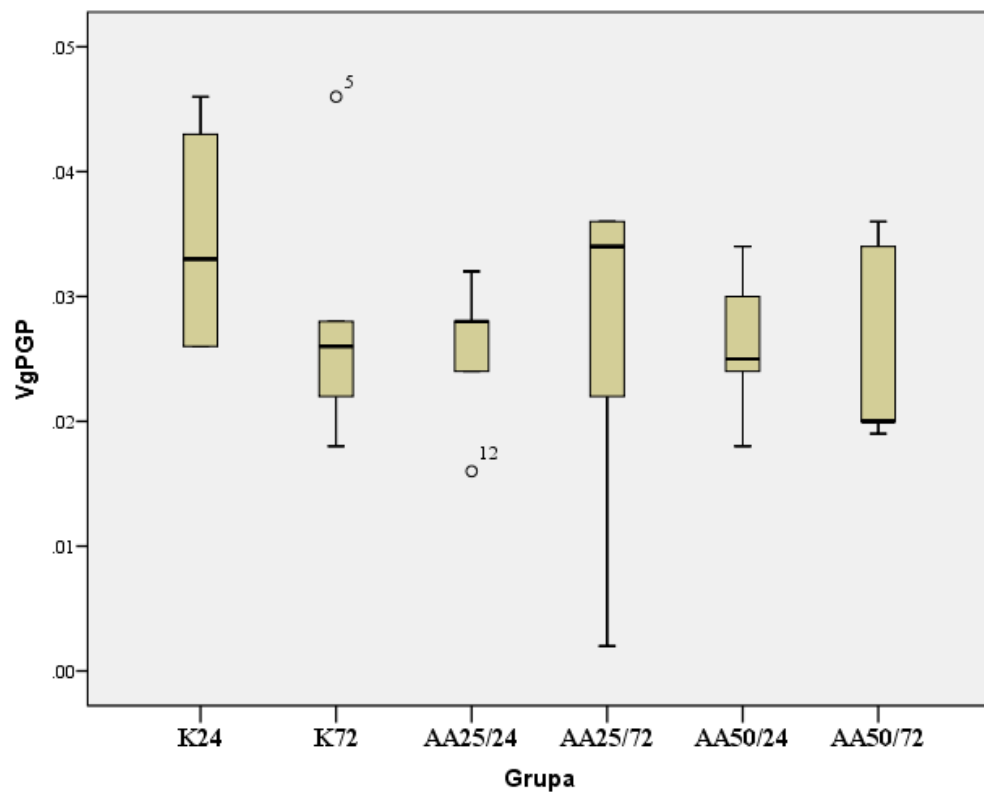
4.3.11. VOLUMENSKA GUSTINA PGP-POZITIVNIH ENDOKRINIH ĆELIJA

Merenje volumenske gustine PGP pozitivnih endokrinih ćelija pokazuje vrlo diskretan pad u eksperimentalnim grupama tretiranim akrilamidom (AA25/24, AA25/72, AA50/24, AA50/72) u odnosu na kontrolne grupe (K24, K72). U tabeli 22 mogu se videti brojčane vrednosti volumenske gustine PGP pozitivnih ćelija, gde se može izračunati da se razlika te vrednosti kreće između 0,002-0,01 u eksperimentalnim u odnosu na kontrolne grupe, dok je među pojedinim eksperimentalnim grupama ta razlika zanemarljiva.

Tabela 22: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) volumenske gustine PGP pozitivnih ćelija u sluznici želuca u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
Vveć (mm⁰)	K24	0.0345	0.026	0.046	0.0101
	K72	0.0280	0.018	0.046	0.0108
	AA25/24	0.0256	0.016	0.032	0.0061
	AA25/72	0.0260	0.002	0.036	0.0146
	AA50/24	0.0262	0.018	0.034	0.0061
	AA50/72	0.0258	0.019	0.036	0.0084

Vrednosti volumenske gustine PGP pozitivnih ćelija u svim grupama tretiranim akrilamidom pokazuju blag pad u odnosu na kontrolne grupe koji nije statistički značajan (box plot 13).



Box plot 13: Prikaz vrednosti volumenske gustine PGP pozitivnih ćelija u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

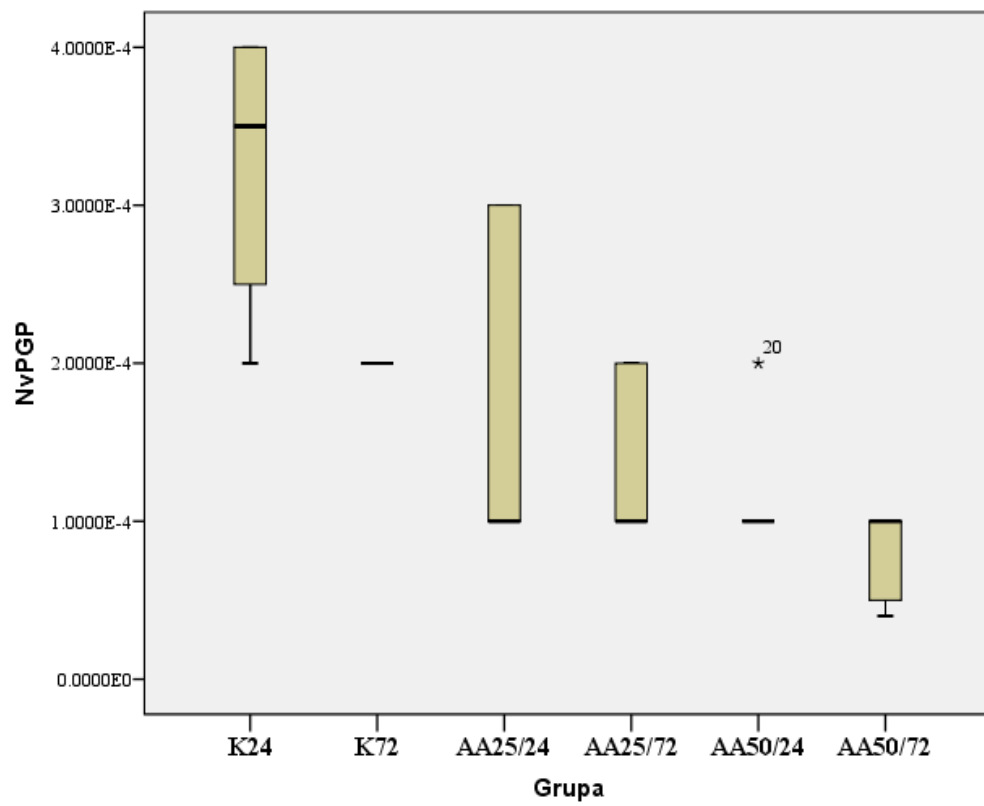
4.4. NUMERIČKA GUSTINA PGP-POZITIVNIH ENDOKRINIH ČELIJA

Tabela 23 daje prikaz vrednosti numeričke gustine PGP pozitivnih ćelija. U kontrolnim grupama i eksperimentalnoj grupi AA25/24 numerička gustina PGP pozitivnih ćelija ima vrednosti od 0,0003 (K24) i 0,0002 (K72, AA25/24) mm^{-3} , dok se u ostalim eksperimentalnim grupama konstatuje pad vrednosti numeričke gustine PGP pozitivnih ćelija i iznosi 0,0001 mm^{-3} (tabela 23).

Tabela 23: Srednja vrednost (mean), minimalna (min), maksimalna vrednost (max) i standardna devijacija (SD) numeričke gustine PGP pozitivnih ćelija u sluznici želuca u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
<i>Nveć</i> <i>(mm⁻³)</i>	K24	0.0003	0.0002	0.0004	0.0001
	K72	0.0002	0.0002	0.0002	0.0000
	AA25/24	0.0002	0.0001	0.0003	0.0001
	AA25/72	0.0001	0.0001	0.0002	0.0001
	AA50/24	0.0001	0.0001	0.0002	0.0000
	AA50/72	0.0001	0.0000	0.0001	0.0000

Vrednosti numeričke gustine PGP pozitivnih ćelija statistički su značajno različite između grupa K24 i K72 ($p=0,03$; $U=2.500$), K24 i AA 50/24 ($p=0,014$; $U=0.000$), K72 i AA 50/72 ($p=0,005$; $U=0.000$). Ovakva distribucija rezultata (*box plot 14*) pokazuje da pad vrednosti numeričke gustine ne zavisi od dužine izlaganja akrilamidu, odnosno oštećenje nastalo pri odgovarajućoj dozi, neće se povećavati produženjem vremena izlaganja.



Box plot 14: Prikaz vrednosti numeričke gusline PGP pozitivnih ćelija u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

4.5. LINEARNA MERENJA

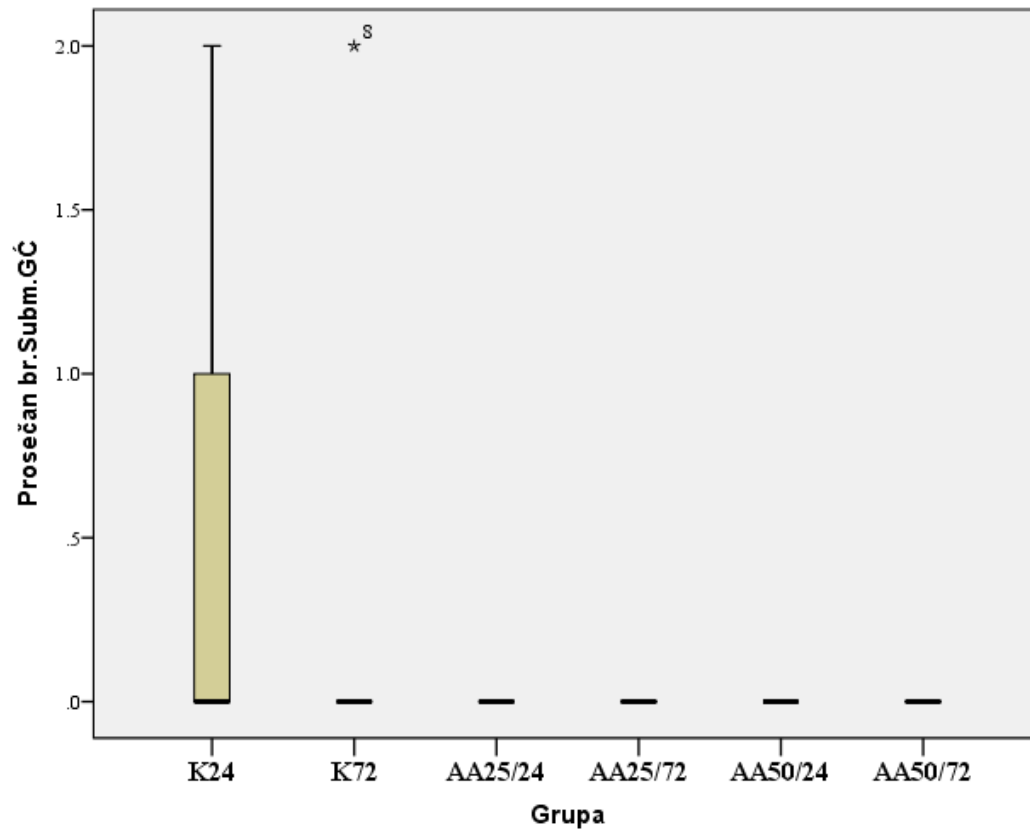
4.5.1. PROSEČAN BROJ GANGLIJSKIH ĆELIJA PO JEDINICI LINEARNE DUŽINE

4.5.1.1. PROSEČAN BROJ GANGLIJSKIH ĆELIJA U SUBMUKOZNOM NERVNOM PLEKSUSU

Broj ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu za sve kontrolne i eksperimentalne grupe prikazan je u tabeli (tabela 24, box plot 15). Bitno je naglasiti da su u kontrolnim grupama nađene ganglijske ćelije, dok u eksperimentalnim grupama životinja tretiranim akrilamidom ganglijske ćelije u submukoznom nervnom pleksusu nisu nađene (tabela 24), što ukazuje na postojanje statistički značajne razlike kontrolnih u odnosu na eksperimentalne grupe životinja.

Tabela 24: Prosečan broj ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu, (Mean), minimalna (Min), maksimalna vrednost (Max) u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.
Broj SMGĆ (na360 µm)	K24	2	0	2
	K72	2	0	2
	AA25/24	0	0	0
	AA25/72	0	0	0
	AA50/24	0	0	0
	AA50/72	0	0	0



Box plot 15: Prikaz vrednosti broja ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

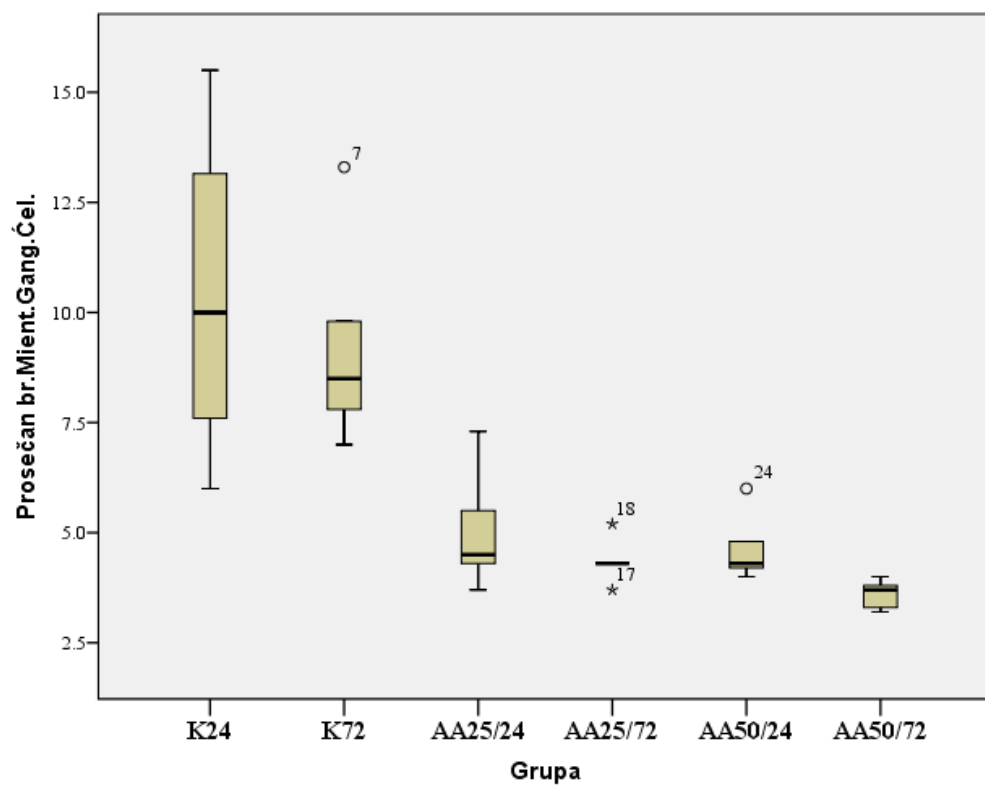
4.5.1.2. PROSEČAN BROJ GANGLIJSKIH ĆELIJA U MIENTERIČNOM NERNVOM PLEKSUSU

Primenjena linearna mikrometrija daje rezultat po kom je broj ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu u kontrolnim grupama duplo veći u odnosu na sve eksperimentalne grupe tretirane akrilamidom. Produženje vremena izlaganja akrilamidu vodi padu broja zabeleženih ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu na posmatranoj linearnoj dužini (tabela 25).

Tabela 25: Prosečan broj ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu, (Mean), minimalna (Min), maksimalna vrednost (Max) i standardna devijacija (SD) u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
Broj MienGĆ (na 360 µm)	K24	10.375	4	23	3.957
	K72	9.280	4	21	2.471
	AA25/24	5.060	0	10	1.410
	AA25/72	4.360	0	8	0.537
	AA50/24	4.660	0	12	0.805
	AA50/72	3.600	0	7	0.339

Između srednjih vrednosti broja ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu (box plot 16) konstatovana je statistički značajna razlika između sledećih grupa: K24 i AA 25/24 ($p=0,027$; $U=1.000$), K24 i AA 50/24 ($p=0,019$; $U=0.500$), K72 i AA 25/72 ($p=0,008$; $U=0.000$), K72 i AA 50/72 ($p=0,009$; $U=0.000$), AA 50/24 i AA 50/72 ($p=0,012$; $U=0.500$), AA 25/72 i AA 50/72 ($p=0,034$; $U=2.500$). Ovakvi rezultati govore u prilog tome da je statistički značajan pad broja ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu u vezi sa povećanjem doze, kao i produženjem vremena izlaganja akrilamidu.



Box plot 16: Prikaz vrednosti broja ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

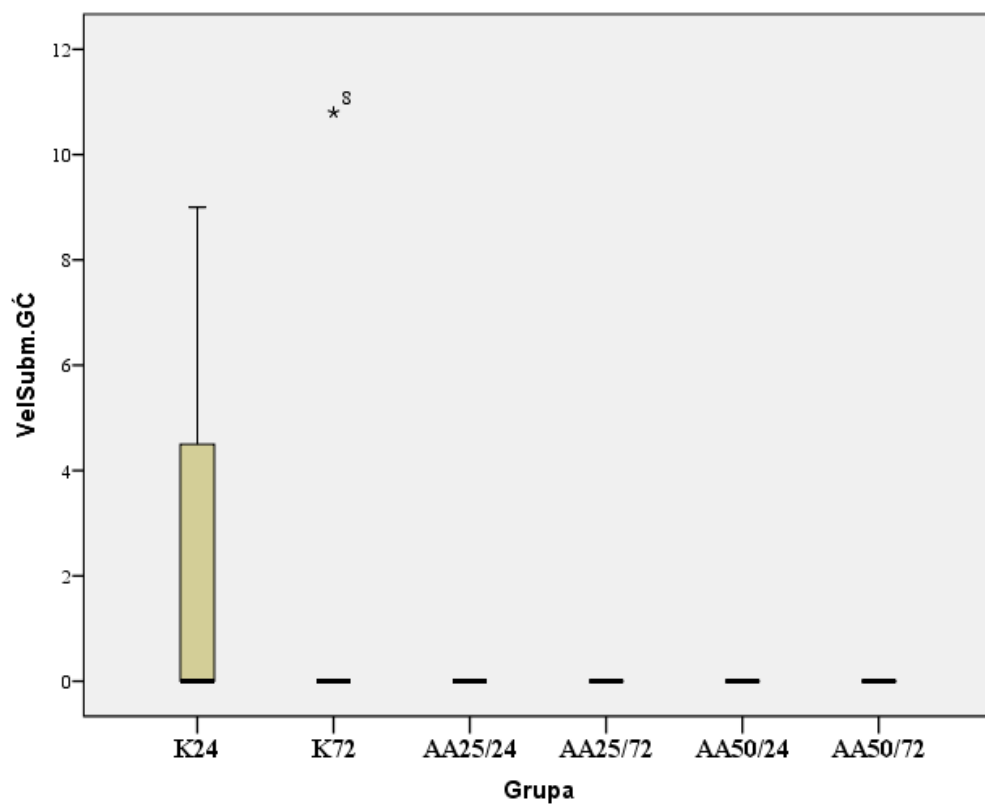
4.5.2.1. PROSEČNA VELIČINA GANGLIJSKIH ĆELIJAU SUBMUKOZNOM NERNVOM PLEKSUSU

Veličina ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu merena linearnom mikrometrijom pokazuje vrednosti preko 2 μm i zabeležene su samo u kontrolnim grupama, jer u eksperimentalnim grupama ganglijske ćelije u submukozi nisu konstatovane (tabela 26, box plot 17).

Tabela 26: Prosečna veličina ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu, (Mean), minimalna (Min), maksimalna vrednost (Max) i standardna devijacija (SD) izražena u μm u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
Vel SMGĆ	K24	2.250	0.0	9.0	4.500
	K72	2.160	0.0	10.8	4.829
	AA25/24	0.000	0.000	0.000	0.000
	AA25/72	0.000	0.000	0.000	0.000
	AA50/24	0.000	0.000	0.000	0.000
	AA50/72	0.000	0.000	0.000	0.000

Vrednosti veličine ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu ne pokazuju statistički značajnu razliku u grupama životinja obuhvaćenim eksperimentom.



Box plot 17: Prikaz vrednosti veličine ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

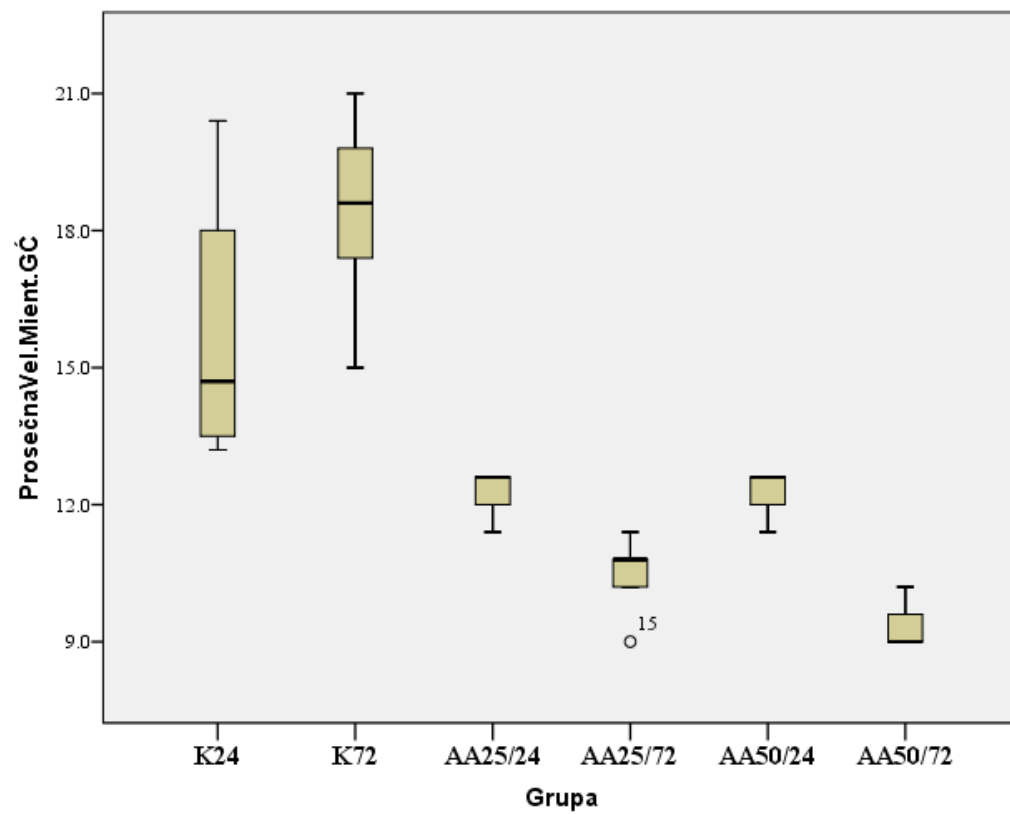
4.5.2.2. PROSEČNA VELIČINA GANGLIJSKIH ČELIJA U MIENTERIČNOM NERNVOM PLEKSUSU

Lineranim merenjima dobijene su vrednosti veličine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu i rezultati pokazuju da su vrednosti veće u kontrolnim grupama. Posmatrajući ekperimentalne grupe, veličina ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu se smanjuje u odnosu na kontrolne grupe, kao i sa produženjem vremena izlaganja akrilamidu u obe dozne grupe eksperimentalnih životinja (tabela 27).

Tabela 27: Prosečna veličina ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu, (Mean), minimalna (Min), maksimalna vrednost (Max) i standardna devijacija (SD) izražena u μm u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.	SD
Vel MGĆ	K24	15.750	13.2	20.4	3.263
	K72	18.360	15.0	21.0	2.308
	AA25/24	12.240	11.4	12.6	0.537
	AA25/72	10.440	9.0	11.4	0.909
	AA50/24	12.240	11.4	12.6	0.537
	AA50/72	9.360	9.0	10.2	0.537

Veličina ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu se značajnije smanjuje u eksperimentalnim grupama u poređenju sa kontrolnim grupama, kao i sa produženjem vremena delovanja akrilamida, što potkrepljuju rezultati koji su statistički značajno različiti u sledećim grupama: K24 i AA25/24 ($p=0,013$; $U=0.000$), K24 i AA 50/24 ($p=0,013$; $U=0.000$), K72 i AA 25/72 ($p=0,009$; $U=0.000$), K72 i AA 50/72 ($p=0,008$; $U=0.000$), AA 25/24 i AA 25/72 ($p=0,011$; $U=0.500$), AA 50/24 i AA 50/72 ($p=0,007$; $U=0.000$).



Box plot 18: Prikaz vrednosti veličine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu u kontrolnim i eksperimentalnim grupama životinja

4.5.3. PROSEČAN BROJ INTAKTNIH MASTOCITA PO JEDINICI POVRŠINE

4.5.3.1. PROSEČAN BROJ INTAKTNIH MASTOCITA U LAMINI PROPRIJI MUKOZE PO JEDINICI POVRŠINE

Analiza intaktnih mastocita u lamini propriji pokazuje prisustvo istih u kontrolnoj grupi K24, gde je registrovan prosečan broj intaktnih mastocita u lamini propriji 0, 25 po ispitivanom vidnom polju, kao i u eksperimentalnoj grupi AA25/24, gde je vrednost 0,2 intaktna mastocita po ispitivanom vidnom polju. U ostalim grupama obuhvaćenim eksperimentom intaktni mastociti u lamini propriji nisu zabeleženi.

Tabela 28: Prosečan (Mean), minimalan (Min) i maksimalan (Max) broj intaktnih mastocita u lamini propriji u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.
IntMLP	K24	0,25	0	1
	K72	0	0	0
	AA25/24	0,2	0	1
	AA25/72	0	0	0
	AA50/24	0	0	0
	AA50/72	0	0	0

Statistički značajna razlika u broju intaktnih mastocita u lamini propriji među grupama obuhvaćenim eksperimentom nije konstatovana.

4.5.3.2. *PROSEČAN BROJ INTAKTNIH MASTOCITA U SUBMUKOZI PO JEDINICI POVRŠINE*

Linearnim merenjem broja intaktnih mastocita u submukozi dolazimo do rezultata gde se najveći broj intaktnih mastocita u submukozi registruje u kontrolnoj grupi K24. Kontrolna grupa K72 i eksperimentalna grupa AA25/24 broje vrednost od 0,2 intaktna mastocita u submukozi po ispitivanom vidnom polju, dok se taj broj povećava u eksperimentalnim grupama AA25/72 -0,6, a u grupi AA50/24 iznosi 0,4, dok u grupi AA50/72 intaktni mastociti u submukozi nisu konstatovani (tabela 29).

Tabela 29: *Prosečan (Mean), minimalan (Min) i maksimalan (Max) broj intaktnih mastocita u submukozi u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom*

	GRUPA	Mean	Min.	Max.
IntMSM	K24	1	0	1
	K72	0,2	0	1
	AA25/24	0,2	0	1
	AA25/72	0,6	0	1
	AA50/24	0,4	0	1
	AA50/72	0	0	0

Ispitivanje postojanja statistički značajne razlike u broju intaktnih mastocita u submukozi među grupama obuhvaćenim eksperimentom dalo je negativan rezultat.

4.5.4. PROSEČAN BROJ DEGRANULISANIH MASTOCITA PO JEDINICI POVRŠINE

4.5.4.1. PROSEČAN BROJ DEGRANULISANIH MASTOCITA U LAMINI PROPRIJI MUKOZE PO JEDINICI POVRŠINE

Degranulisani mastociti u lamini propriji u kontrolnim grupama i u eksperimentalnoj grupi AA50/72 nisu zabeleženi. U eksperimentalnoj grupi AA25/24 prosečna vrednost broja degranulisanih mastocita u lamini propriji je 0,2 mastocita po vidnom polju, dok je u eksperimentalnim grupama AA25/72 i AA50/24 ta vrednost 0,8 (tabela 30).

Tabela 30: Prosečan (Mean), minimalan (Min) i maksimalan (Max) broj degranulisanih mastocita u lamini propriji u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.
DegrMLP	K24	0	0	0
	K72	0	0	0
	AA25/24	0,2	0	1
	AA25/72	0,8	0	2
	AA50/24	0,8	0	1
	AA50/72	0	0	0

Statistički značajna razlika u broju degranulisanih mastocita u lamini propriji nije konstatovana.

4.5.4.2. **PROSEČAN BROJ DEGRANULISANIH MASTOCITA U SUBMUKOZI PO JEDINICI POVRŠINE**

Analiza prosečnog broja degranulisanih mastocita u submukozi daje rezultate po kojima je u kontrolnim grupama zabeležen manji broj degranulisanih mastocita u odnosu na grupe tretirane akrilamidom. U eksperimentalnim grupama tretiranim akrilamidom konstatuje se veći broj degranulisanih mastocita čija je vrednost od 0,4-16 puta veća u odnosu na vrednosti dobijene u kontrolnim grupama.

Tabela 31: Prosečan (Mean), minimalan (Min) i maksimalan (Max) broj degranulisanih mastocita u submukozi u grupama životinja obuhvaćenih eksperimentom

	GRUPA	Mean	Min.	Max.
DegrMSM	K24	0,25	0	1
	K72	0,4	0	1
	AA25/24	1,6	0	2
	AA25/72	3	0	3
	AA50/24	1,6	0	2
	AA50/72	4	0	3

Tabela 31 daje prikaz broja degranulisanih mastocita u submukozi i iz nje se jasno može videti da povećanje doze ne utiče na povećanje broja degranulisanih mastocita u submukozi, dok produženje izlaganja akrilamidu dovodi do povećanja broja istih u submukozi-konstatovana je statistički značajna razlika između grupa K72 i AA50/72 [$p=0,008$; $U=0,000$].

4.6. KORELACIJE

4.6.1. KORELACIJE PARAMETARA DOBIJENIH SEMIKVANTITATIVNOM HISTOLOŠKOM ANALIZOM

Semikvantitativnom histološkom analizom meren je stepen PAS-AB bojenja, prisustvo limfocita, kao i prisustvo i stepen gustine granulocita u sluznici želuca eksperimentalnih životinja.

Statistički značajna pozitivna korelacija konstatovana je između vrednosti PAS-AB i semikvantitativne vrednosti granulocita u epitelu želuca [$p = 0,01$, $r = 0,471$] (tabela 32).

Tabela 32: Korelacije između vrednosti parametara dobijenih semikvantitativnom histološkom analizom

	PAS-AB	Ly	Gr
PAS-AB	1.000 -	.273 .152	.471** .010
Ly	.273 .152	1.000 -	.352 .061
Gr	.471** .010	.352 .061	1.000 -

4.6.2. KORELACIJE VREDNOSTI SEMIKVANTITATIVNIH PARAMETARA U ODNOSU NA PARAMETRE ANALIZIRANE STEREOLOŠKIM I LINEARNIM MERENJIMA

Između vrednosti **PAS-AB** i vrednosti volumenske gustine ćelija u mitozu nađena je pozitivna, statistički značajna korelacija [$p = 0,003$; $r = 0,536$], kao i između semikvantitativno određene vrednosti **granulocita** i volumenske gustine ćelija u mitozu [$p = 0,000$; $r = 0,749$] (tabela 33).

Statistički značajna negativna korelacija konstatovana je između vrednosti **PAS-AB** i vrednosti volumenske gustine lamine muskularis [$p = 0,036$; $r = -0,391$] (tabela 33).

Negativnu statistički značajnu korelaciju pokazuju i stepen gustine **granulocita** i vrednost volumenske gustine lamine proprije [$p = 0,001$; $r = -0,564$] (tabela 33).

Tabela 33: Korelacije između vrednosti parametara dobijenih semikvantitativnom analizom i volumenske gustine ćelija u mitozu, volumenske gustine PGP pozitivnih ćelija i volumenske gustine delova sluznice želuca

	Vvm	Vveć	Vvtm	Vvpe	Vvž	Vvlp	Vvlm
PAS-AB	.536** .003	.171 .375	-.193 .316	.021 .913	-.170 .377	-.305 .108	-.391* .036
Ly	.096 .620	.007 .972	-.020 .917	-.115 .552	.014 .944	-.068 .726	-.277 .146
Gr	.749** .000	.290 .127	-.008 .966	-.169 .380	.165 .392	-.564** .001	-.110 .571

Iz tabele broj 34, jasno se vidi da statistički značajna negativna korelacija postoji između:

- vrednosti **PAS-AB** i vrednosti volumenske gustine mienteričnog nervnog plexusa [$p = 0,02$; $r = -0,430$]
- vrednosti **PAS-AB** i vrednosti volumenske gustine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom plexusu [$p = 0,007$; $r = -0,487$]
- vrednosti **PAS-AB** i vrednosti volumenske gustine ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom plexusu [$p = 0,00$; $r = -0,660$]

Vrednosti **granulocita** pokazuju statistički značajnu negativnu korelaciju sa dobijenom vrednošću volumenske gustine mienteričnog nervnog plexusa [$p = 0,008$; $r = -0,484$], vrednošću volumenske gustine submukoznog nervnog plexusa [$p = 0,04$; $r = -0,384$], vrednošću volumenske gustine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom plexusu [$p = 0,044$; $r = -0,377$], kao i sa vrednošću volumenske gustine ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom plexusu [$p = 0,000$; $r = -0,635$] (tabela 34).

Statistički značajna pozitivna korelacija nađena je između vrednosti granulocita i vrednosti volumenske gustine tunike muskularis [$p = 0,045$; $r = 0,376$] (tabela 34).

Tabela 34: Korelacije između vrednosti parametara dobijenih semikvantitativnom analizom i volumenske gustine tunike submukoze, tunike muskularis, mienteričnog i submukoznog nervnog plexusa i volumenske gustine ganglijskih ćelija

	Vvtsm	Vvtmusc	Vvmnp	Vvsmnp	Vvgćmp	Vvgćsmp
PAS-AB	-.286 .133	.031 .871	-.430* .020	-.323 .088	-.487** .007	-.660** .000
Ly	-.339 .072	.027 .889	-.027 .889	-.041 .832	.000 1.000	-.223 .244
Gr	-.194 .312	.376* .045	-.484** .008	-.384* .040	-.377* .044	-.635** .000

Iz tabele 35. Može se jasno uočiti negativna, statistički značajna korelacija između:

- vrednosti **PAS-AB** i veličine mienteričnih ganglijskih ćelija [$p = 0,000$; $r = -0,634$]
- vrednosti **PAS-AB** i broja mienteričnih ganglijskih ćelija [$p = 0,002$; $r = -0,552$]
- vrednosti **granulocita** i veličine mienteričnih ganglijskih ćelija [$p = 0,000$; $r = -0,751$]
- vrednosti **granulocita** i broja mienteričnih ganglijskih ćelija [$p = 0,000$; $r = -0,641$]
(tabela 35).

Tabela 35: Korelacije između vrednosti parametara dobijenih semikvantitativnom analizom i veličine i broja submukoznih i mienteričnih ganglijskih ćelija

	VelSMGĆ	VelIMGĆ	Broj SMGĆ	Broj MGĆ
PAS-AB	-.273 .152	-.634** .000	-.273 .152	-.552** .002
Ly	-.092 .634	-.170 .377	-.092 .633	.048 .807
Gr	-.263 .168	-.751** .000	-.263 .168	-.641** .000

Korelacija **mastocita** sa semikvantitativnim parametrima pokazuje:

- vrednosti PAS-AB i broj degranulisanih mastocita u submukozi [$p = 0,002$; $r = 0,493$] pokazuju statistički značajnu pozitivnu korelaciju;
- semikvantitativno dobijene vrednosti limfocita su pokazale statistički značajnu pozitivnu korelaciju sa brojem intaktnih mastocita u submukozi [$p = 0,004$; $r = 0,521$];
- vrednosti granulocita i broj degranulisanih mastocita u submukozi [$p = 0,001$; $r = 0,566$] pokazuju jaku statistički značajnu pozitivnu korelaciju (tabela 36).

Tabela 36: Korelacije između vrednosti parametara dobijenih semikvantitativnom analizom i intaktnih mastocita u submukozi, degranulisanih mastocita u lamini propriji i submukozi

	IntMSM	DegrMLP	DegrMSM
PAS-AB	-.081 .677	-.109 .574	.493** .007
Ly	.521** .004	.127 .511	-.021 .915
Gr	.148 .443	.271 .155	.566** .001

4.6.3. MEĐUSOBNA KORELACIJA PARAMETARA DOBIJENIH STEREOLOŠKIM MERENJIMA

Primenom Spirmanove korelacije ranga na parametre dobijene stereološkim merenjima dobijeni su sledeći rezultati:

Iz rezultata prikazanih u tabeli 37 vidi se vrlo jaka pozitivna korelacija između volumenske gustine tunike mukoze i volumenske gustine žlezda [$p = 0,000$; $r = 0,914$];

Statistički značajna negativna korelacija javlja između sledećih parametara:

- volumenske gustine tunike mukoze i volumenske gustine tunike muskularis [$p = 0,001$; $r = -0,587$]
- volumenske gustine žlezda i volumenske gustine tunike submukoze [$p = 0,026$; $r = -0,413$]
- volumenske gustine žlezda i volumenske gustine tunike muskularis [$p = 0,019$; $r = -0,432$]
- volumenske gustine ćelija u mitozu i volumenske gustine lamine proprije [$p = 0,000$; $r = -0,674$]

Tabela 37: Korelacije između vrednosti parametara dobijenih stereološkim merenjima (deo I)

	Vvtm	Vvpe	Vvž	Vvlp	Vvlm
Vvtm	1.000 -	-.054 .782	.914** .000	-.212 .270	.236 .217
Vvpe	-.054 .782	1.000 -	-.277 .146	-.057 .768	.107 .579
Vvž	.914** .000	-.277 .146	1.000 -	-.292 .124	.112 .562
Vvlp	-.212 .270	-.057 .768	-.292 .124	1.000 -	-.004 .982
Vvlm	.236 .217	.107 .579	.112 .562	-.004 .982	1.000 -
Vvtsm	-.352 .061	-.033 .865	-.413* .026	.161 .404	.158 .412
Vvtmusc	-.587** .001	-.125 .519	-.432* .019	-.108 .577	-.049 .801
Vvm	.086 .657	.063 .746	.174 .366	-.674** .000	-.108 .576
Vveć	-.309 .103	-.019 .924	.409 .258	-.232 .225	-.159 .409
Nveć	.126 .514	.066 .735	-.003 .987	.371* .047	.291 .125

Statistički značajna pozitivna korelacija između vrednosti volumenske gustine lamine proprije i volumenske gustine mienteričnog nervnog plexusa [$p = 0,022$; $r = 0,423$] prikazana je u tabeli broj 38; Takođe pozitivna, na samoj granici statističke značajnosti je korelacija između vrednosti volumenske gustine lamine proprije i volumenske gustine ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom plexusu [$p = 0,047$; $r = 0,372$]

Statistički značajna negativna korelacija beleži se između vrednosti:

- volumenske gustine ćelija u mitozu i volumenske gustine mienteričnog nervnog plexusa [$p = 0,000$; $r = -0,760$]
- volumenske gustine ćelija u mitozu i volumenske gustine submukoznog nervnog plexusa [$p = 0,034$; $r = -0,396$]
- volumenske gustine ćelija u mitozu i volumenske gustine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom plexusu [$p = 0,000$; $r = -0,662$]
- volumenske gustine ćelija u mitozu i volumenske gustine ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom plexusu [$p = 0,000$; $r = -0,788$] (tabela 38).

Tabela 38: Korelacije između vrednosti parametara dobijenih stereološkim merenjima (deo II)

	Vvtsm	Vvtmusc	Vvmnp	Vvsmnp	Vvgćmp	Vvgćsmp
Vvtm	-.352 .061	-.587** .001	-.092 .636	.300 .113	.072 .709	-.071 .714
Vvpe	-.033 .865	-.125 .519	-.120 .535	-.217 .258	-.104 .590	.061 .754
Vvž	-.413* .026	-.432* .019	-.112 .563	.216 .261	.079 .683	-.171 .376
Vvlp	.161 .404	-.108 .577	.423* .022	.121 .532	.256 .180	.372* .047
Vvlm	.158 .412	-.049 .801	.202 .294	.330 .080	.214 .264	.203 .292
Vvtsm	1.000 .	.130 .500	.088 .648	-.065 .736	.028 .887	.234 .221
Vvtmusc	.130 .500	1.000 -	.064 .740	-.190 .323	.323 .790	.113 .561
Vvm	-.113 .561	.137 .477	-.760** .000	-.396* .034	-.662** .000	-.788** .000
Vveć	.020 .918	.333 .077	-.127 .512	-.198 .303	-.039 .842	.003 .986
Nveć	.083 .669	-.259 .176	.589** .001	.343 .069	.579** .001	.608** .000

Statistički značajna pozitivna korelacija nađena je između:

- numeričke gustine PGP pozitivnih ćelija i volumenske gustine mienteričnog nervnog plexusa [$p = 0,001$; $r = -0,589$]
- numeričke gustine PGP pozitivnih ćelija i volumenske gustine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom plexusu [$p = 0,001$; $r = -0,579$]
- numeričke gustine PGP pozitivnih ćelija i volumenske gustine ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom plexusu [$p = 0,000$; $r = -0,608$]

4.6.4. KORELACIJA PARAMETARA DOBIJENIH STEREOLOŠKIM MERENJIMA SA PARAMETRIMA LINEARNIH MERENJA

Pozitivna, statistički značajna korelacija dobijena je između sledećih parametara:

- volumenske gustine lamine proprije i veličine mienteričnih ganglijskih ćelija [$p = 0,009$; $r = 0,477$]
- volumenske gustine lamine proprije i broja submukoznih ganglijskih ćelija [$p = 0,049$; $r = 0,368$]
- volumenske gustine lamine proprije i broja mienteričnih ganglijskih ćelija [$p = 0,000$; $r = 0,623$] (tabela 39);

Statistički značajna negativna korelacija nađena je za sledeće parametre:

- vrednosti volumenske gustine ćelija u mitozu i veličine submukoznih ganglijskih ćelija [$p = 0,053$; $r = -0,363$]
- vrednosti volumenske gustine ćelija u mitozu i veličine mienteričnih ganglijskih ćelija [$p = 0,000$; $r = -0,853$]
- vrednosti volumenske gustine ćelija u mitozu i broja submukoznih ganglijskih ćelija [$p = 0,053$; $r = -0,363$]

- vrednosti volumenske gustine ćelija u mitozu i broja mienteričnih ganglijskih ćelija [p = 0,000; r = -0, 834] (tabela 39);

Statistički značajna pozitivna korelacija konstatovana je između:

- vrednosti volumenske gustine ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu i veličine mienteričnih ganglijskih ćelija [p = 0,000; r = 0,795]
- vrednosti volumenske gustine ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu i broja mienteričnih ganglijskih ćelija [p = 0,000; r = 0, 741]
- vrednosti numeričke **gustine PGP pozitivnih ćelija** i veličine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu [p = 0,001; r = 0, 604]
- vrednosti numeričke gustine PGP pozitivnih ćelija i broja ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu [p = 0,000; r = 0, 796] (tabela 39);

Tabela 39: Korelacije između parametara dobijenih stereološkim merenjima i dobijenih vrednosti veličine i broja submukoznih i mienteričnih ganglijskih ćelija

	VelSMGĆ	VelMGĆ	Broj SMGĆ	Broj MGĆ
Vvtm	.034 .862	-.077 .693	.041 .834	-.095 .622
Vvpe	-.176 .360	-.033 .864	-.171 .375	.031 .872
Vvž	-.068 .724	-.125 .517	-.065 .737	-.180 .351
Vvlp	.365 .052	.477** .009	.368* .049	.623** .000
Vvlm	.083 .668	.129 .504	.083 .668	.220 .252
Vvtsm	.295 .120	.100 .607	.294 .122	.023 .906
Vvtmusc	.067 .728	-.094 .628	.057 .769	-.048 .804
Vvm	-.363 .053	-.853** .000	-.363 .053	-.834** .000
Vvgćsmp	.356 .058	.795* .000	.358 .057	.741** .000
Vveć	-.273 .152	-.139 .473	-.269 .158	-.126 .516
Nveć	.274 .151	.604** .001	.277 .145	.796** .000

Broj intaktnih mastocita u submukozi i volumenska gustine tunike submukoze

[$p = 0,033$; $r = -0,396$], kao i broj degranuliranih mastocita u submukozi i volumenska gustine lamine proprije [$p = 0,010$; $r = -0,468$] pokazuju negativnu statistički značajnu korelaciju što je prikazano u tabeli broj 40.

Tabela 40: Korelacije između broja mastocita i parametara dobijenih stereološkim merenjima (deo I)

	Vvtm	Vvpe	Vvž	Vvlp	Vvlm	Vvtsm	Vvtmusc
IntMSM	.073 .705	.051 .794	.115 .552	-.083 .670	-.036 .852	-.396* .033	-.128 .508
DegrMLP	.227 .236	-.088 .649	.315 .096	.006 .976	.004 .985	-.165 .393	.081 .676
DegrMSM	.131 .499	-.026 .894	.186 .334	-.468* .010	.084 .663	-.035 .858	.097 .618

Broj **degranulisanih mastocita** u submukozi i vrednost volumenske gustine ćelija u mitozima [p = 0,000; r = 0,656] pokazuju pozitivnu statistički značajnu korelaciju (tabela 41);

Negativna statistički značajna korelacija konstatovana je između sledećih parametara (tabela 41):

- broja degranulisanih mastocita u lamini propriji i volumenske gustine nienteričnog nervnog plexusa [p = 0,048; r = -0,370]
- broja degranulisanih mastocita u submukozi i volumenske gustine mienteričnog nervnog plexusa [p = 0,002; r = -0,559]
- broja degranulisanih mastocita u submukozi i volumenske gustine submukoznog nervnog plexusa [p = 0,033; r = -0,397]
- broja degranulisanih mastocita u submukozi i volumenske gustine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom plexusu [p = 0,008; r = -0,480]
- broja degranulisanih mastocita u submukozi i volumenske gustine ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom plexusu [p = 0,000; r = -0,653]

Tabela 41: Korelacije između broja mastocita i parametara dobijenih stereološkim merenjima (deo II)

	Vvm	Vveć	Vvmnp	Vvsmnp	Vvgćmp	Vvgćsmp
IntMSM	-.069 .723	-.106 .584	.001 .995	-.200 .298	.003 .990	-.047 .808
DegrMLP	.222 .247	-.240 .209	-.370* .048	-.203 .292	-.327 .083	-.369 .049
DegrMSM	.656** .000	.317 .094	-.559** .002	-.397* .033	-.480** .008	-.653** .000

4.6.5. MEĐUSOBNA KORELACIJA PARAMETARA DOBIJENIH LINEARNIM MERENJIMA

Broj degranulisanih mastocita u submukozi i veličina mienteričnih ganglijskih ćelija [$p = 0,000$; $r = -0,726$] su u negativnoj jakoj, statistički značajnoj korelaciji, kao i broj degranulisanih mastocita u submukozi i broj mienteričnih ganglijskih ćelija [$p = 0,000$; $r = -0,621$] (tabela 42).

Tabela 42: Korelacije između broja mastocita i dobijenih vrednosti veličine i broja submukoznih i mienteričnih ganglijskih ćelija

	VelSMGĆ	VelMGĆ	Broj SMGĆ	Broj MGĆ
IntMSM	-.167 .387	-.013 .945	-.167 .386	.000 1.000
DegrMLP	-.153 .429	-.155 .422	-.153 .429	-.251 .190
DegrMSM	-.212 .270	-.726** .000	-.217 .259	-.621** .000

Između broja intaktnih i degranulisanih mastocita u lamini propriji i submukozi nisu nađene statistički značajne korelacije (tabela 43).

Tabela 43: Korelacije između broja intaktnih mastocita u submukozi i degranulisanih mastocita u lamini propriji i submukozi

	IntMSM	DegrMLP	DegrMSM
IntMSM	1.000 -	.196 .308	-.188 .329
DegrMLP	.196 .308	1.000 -	.008 .966
DegrMSM	-.188 .329	.008 .966	1.000 -

5.DISKUSIJA

Savremen, brz način života uz neadekvatnu brigu oko ishrane nosi sa sobom posledice koje se odražavaju na zdravlje digestivnog sistema čoveka. Poslednjih desetak godina u porastu je broj tegoba povezanih sa lošim varenjem, osećajem gorušice ili bolovima u predelu želuca. Nije retka pojava da se redovni obroci zamenjuju suvom i brzom hranom, pripremljenom za vrlo kratko vreme pečenjem i prženjem na visokim temperaturama. Uz to, konzumiraju se i velike količine kafe, uz sve popularniju primenu instant kafa i na našim prostorima, gde je do pre jedne decenije bilo tradicionalno da se konzumira turska kafa. Od 2000. godine, kada je u Švedskoj slučajno otkrivena pojava monomera akrilamida u prženoj, pečenoj hrani, pecivu, keksima, čipsu, instant kafi, javlja se sve veća potreba ispitivanja dejstva akrilamida na ljudski organizam (172, 173).

Do sada su vrlo dobro ispitana i dokazana dejstva akrilamida na nervni sistem (174), genotoksičnost (175) i kancerogeni efekat (176), dok je dejstvo akrilamida na digestivni sistem, a posebno želudac, nedovoljno istraženo i ispitano (26, 29, 62, 177). S obzirom da promene izazvane dejstvom akrilamida na tkivo želuca mogu biti jedan od uzročnih činilaca pomenutih tegoba u digestivnom traktu, opravdana je osnova za sprovođenje našeg eksperimenta.

Efekti delovanja akrilamida unetog u organizam zavise od načina unosa akrilamida (31). Najprikladniji način aplikacije otrovnog monomera akrilamida u cilju ispitivanja njegovog dejstva na tkivo želuca je peroralan. Želudac se izlaže direktnom dejstvu akrilamida, a sluznica kao prva linija odbrane u odnosu na spoljašnju sredinu prva trpi promene. Histološkom analizom materijala svetlosnim mikroskopom dobijenog u našoj studiji uočena je očuvanost svih slojeva zida želuca. Međutim, daljom analizom, primenom semikvantitativnih, stereoloških i linearnih merenja, stečen je bolji uvid u diskretnije i finije promene u tkivu želuca.

Određivanjem volumenske gustine sluznice želuca uočen je porast njene vrednosti u grupama životinja tretiranih akrilamidom. Vrednosti volumenske gustine sluznice želuca rastu, kako sa produženjem vremena izlaganja akrilamidu, isto tako i sa povećanjem doze primenjenog akrilamida. Rezultati naše studije su u korelaciji sa do sada skromnim istraživanjima iste tematike koji navode da dolazi do zadebljanja sluznice pri peroralnoj primeni akrilamida (178).

Daljim određivanjem volumenske gustine za pojedine kompartmane sluznice u našoj studiji, detaljnije su ispitane promene izazvane akrilamidom. Konstatovano je smanjenje volumenske gustine površnog epitela u eksperimentalnim grupama tretiranim akrilamidom u odnosu na kontrolne. Pri primeni manjih doza akrilamida od 25 mg/kg, duže vreme izlaganja dovodi do još izraženijeg smanjenja volumenske gustine površnog epitela, dok se pri primeni većih doza akrilamida od 50 mg/kg i vremenu izlaganja od 72h konstatuje blagi porast volumenske gustine površnog epitela. Altinoz E i saradnici ispitivanjem dejstva akrilamida na tanko i debelo crevo pacova konstatuju oštećenje površnog epitela (179). Istraživanje sprovedeno 2012. godine pokazuje da dejstvom akrilamida na sluznicu creva takođe dolazi do oštećenja površnog epitela (178). Rezultati dobijeni u našoj studiji mogu se objasniti na sledeći način: Svaki organizam, u cilju svog opstanka, bori se da održava homeostazu, odnosno stanje ravnoteže. U zavisnosti od težine oštećenja tkiva uzrokovano dejstvom štetnog agensa, nastale promene izazvaće reakcije organizma različitog stepena. Primenjene male doze akrilamida dovode do prvobitne reakcije u vidu eksfolijacije oštećenih i umrlih ćelija površnog epitela. Produženje vremena izlaganja akrilamidu pri istoj dozi od 25 mg/kg, dovodi do dalje reakcije eksfolijacije. Doza primenjenog akrilamida od 25 mg/kg verovatno nije toliko velika da bi izazvala promptnu reakciju obnove površnog epitela. Izlaganje sluznice želuca većim dozama akrilamida (50 mg/kg) sa produženjem delovanja agensa, dovodi do bržeg i jačeg odgovora organizma u smislu obnove oštećenog površnog epitela, te se s toga konstatuje blag porast

volumenske gustine površnog epitela u grupi pacova tretiranih akrilamidom 72h u dozi od 50 mg/kg, u odnosu na grupu životinja tretiranih dozom od 50 mg/kg u periodu od 24h.

Volumenska gustina žlezda pokazuje porast u tretiranim grupama akrilamidom, koji je izraženiji, kako sa povećanjem doze, tako i produženjem vremena izloženosti akrilamidu. S napomenom, da se u grupi životinja tretiranoj 72h dozom od 50 mg/kg akrilamida javlja pad vrednosti volumenske gustine žlezda. Ovakav rezultat se može objasniti beleženjem ekstremno niske vrednosti u okviru grupe (videti rezultate), a što sve može biti odlika individualnih karakteristika organizma jedinke i izostankom adekvatne reakcije na primenjen agens ili adaptacijom na novonastale uslove i iscrpljenjem kapaciteta obnove. Da li je u pitanju adaptacija na novonastale uslove moglo bi se ispitati eksperimentalnim dodatnim produženim delovanjem akrilamida na tkivo želuca. Rezultati u pogledu promene na žlezdama u našoj studiji su u korelaciji sa rezultatima sličnih studija (26, 29, 178).

Vrednosti volumenske gustine lamine proprije smanjuju se proporcionalno sa povećanjem doze i vremena izlaganja akrilamidu, ali bez konstatovanja statističke značajnosti za posmatrani parametar. S obzirom da rezultati pokazuju istovremeno porast volumenske gustine žlezda, samim time je logično da mora doći do pada vrednosti volumenske gustine pojedinih od kompartmana u okviru sluznice, što se u ovom slučaju odlikuje padom vrednosti volumenske gustine lamine proprije.

Studije koje su se bavile ispitivanjem inflamatornog odgovora na dejstvo primenjenog akrilamida ukazuju da se na tkivu tretiranom akrilamidom javlja akutna inflamatorna reakcija (180, 181). Semikvantitativnom analizom u lamini propriji pokazano je sporadično prisustvo limfocita, kao i prisustvo i povećanje stepena brojnosti granulocita u grupama tretiranim akrilamidom. Međutim, prisustvo granulocita ograničeno je na laminu propriju, ne javlja se u takvom stepenu da se može konstatovati jak akutni inflamatorni odgovor na tkivu želuca jedinki

iz naše studije. Nastala inflamatorna reakcija može biti u skladu sa nastalim oštećenjem površnog epitela i epitela žlezda, posebno ako se ima u vidu mogući mehanizam nastanka i uspostavljanja nove ravnoteže.

Dobijene vrednosti volumenske gustine lamine muskularis u eksperimentalnim grupama tretiranih akrilamidom pokazuju manje vrednosti u odnosu na kontrolne grupe. Iako te vrednosti nisu statistički značajne, zapaža se da produženo delovanje istom dozom akrilamida (25 mg/kg) dovodi do većeg pada vrednosti volumenske gustine lamine muskularis. Tretiranjem tkiva želuca isti vremenski period većom dozom akrilamida (50 mg/kg) dovodi do blagog zadebljanja lamine muskularis. U literaturi nisu nađeni podaci iz sličnih studija za poređenje sa rezultatima naše studije.

Ispitivanjem volumenske gustine tunike muskularis konstatuje se najpre smanjenje njene vrednosti pri primeni i manje (25 mg/kg) i veće doze (50 mg/kg) akrilamida u odnosu na kontrolne grupe. Produženje delovanja akrilamida dovodi do zadebljanja muskularnog sloja, kako pri primenjenoj dozi od 25 mg/kg, tako i pri primenjenoj dozi od 50 mg/kg. Studija sprovedena na Wistar pacovima na Univerzitetu u Novom Sadu, a koja je ispitivala uticaj akrilamida na srčani mišić navodi porast kako površinske gustine kardiomiocita, tako i povećanje volumenske gustine intersticijuma kod tretiranih životinja (182). Istina, ne može se u potpunosti povući paralela u reakciji ove dve vrste mišićnog tkiva na dejstvo akrilamida, ali se zbog malog broja studija ispitivanog dejstva akrilamida na glatkomišićno tkivo daje osvrt generalno na ispitivanje dejstva akrilamida na bilo koju vrstu mišićnog tkiva. Mansour i saradnici prikazuju rezultate po kojima mišićni sloj zida želuca obiluje prisutnim inflamatornim ćelijskim infiltratom (29), što može biti doprinoseći faktor povećanja volumena mišićnog kompartmana zida. Međutim, podaci studije, Dobrolowski i saradnici, koja je ispitivala promene tkiva tankog creva pod dejstvom akrilamida, ukazuju da dolazi do smanjenja mišićnog sloja, što je opet u suprotnosti sa

rezultatima naše studije (183). Zadebljanje muskularnog sloja mogao bi biti uzrok pojave bola u želucu i istovremeno doprinoseći faktor pojavi tegoba od strane digestivnog trakta.

Mucini su glikoproteini visoke molekulske težine sa mnogobrojnim bočno razgranatim oligosaharidima vezanim za proteinsko jezgro. Imaju protektivnu ulogu i deo su urođenog lokalnog imuniteta u sluznicama koje oblažu (184). Promene u sastavu i kvalitetu mucina utiču na promenu funkcije u odbrani od infektivnih agenasa (185), propustljivosti sluznice, a i doprinoseći su faktor u razvoju karcinoma (186, 187). Kvantitativne i kvalitativne promene mucina zapažaju se i kod ulceroznog kolitisa i celijačne bolesti (188). Semikvantitativnom analizom PAS-AB pozitivnosti mucina u ćelijama odredili smo tip mucina u epitelnim ćelijama želuca. Kontrolne grupe pokazuju prisustvo neutralnih mucina, dok se u svim eksperimentalnim grupama registruje AB pozitivnost i samim tim prisustvo kiselih mucina, što je u skladu sa dobijenim vrednostima parametara: volumenska gustina površnog epitela, volumenska gustina žlezda i volumenska gustina ćelija u mitozu i potvrđuju prisustvo regeneracije epitela. Poznato je da se u želucu u normalnom stanju luče neutralni mucini. Iako je dokazano da kod pacova i miševa vratne mukusne ćelije imaju mogućnost produkcije kiselih mucina, sazrevanjem i njihovom migracijom ka površini gube se te karakteristike (189). S toga, naglašeno povećanje prisustva kiselih mucina u ćelijama površnog epitela je znak nedovoljne zrelosti mukoproduktivnih ćelija i regeneracije u ovom slučaju (190-193).

Sumirajući ove podatke, dolazimo do zaključka da u sluznici želuca jedinki iz naše studije dolazi do pojave nezrelih mukoproduktivnih ćelija, a što sve vodi do produkcije kiselih mucina koji u daljem razvoju patologije želuca mogu biti doprinoseći faktor drugih gastrointestinalnih oboljenja.

Vrednosti volumenske gustine mitozu u sluznici želuca pokazuju statistički značajan porast, kako sa povećanjem primenjene doze, tako i sa produženjem vremena izlaganja

akrilamidu. Takav rezultat ukazuje na reakciju sluznice na nastala oštećenja u cilju održavanja homeostaze i obnove oštećene sluznice. Pozitivna korelacija konstatovana je između vrednosti volumenske gustine mitoze i PAS-AB pozitivnosti, prisustva granulocita u sluznici i prisustva degranulisanih mastocita u submukozi, što sve ide u prilog da akrilamid ima odlike toksične reakcije sa oštećenjem sluznice. Ova korelacija govori u prilog, kako pojave oštećene sluznice praćene određenim stepenom zapaljenske reakcije, tako i pojavom pojačane proliferacije u žlezdama u cilju regeneracije i samoobnove oštećene sluznice. Međutim, ne slažu se svi autori da dolazi do povećanja proliferacije. Dobrowolski i saradnici navode pad proliferacije kao posledicu dejstva akrilamida na digestivni sistem (178). Raju J i saradnici sprovode studiju na F344 pacovima praćeci histopatološke promene na sluznici creva, gde rezultati ukazuju da ne dolazi do statistički značajnog porasta proliferacije (194). Studija sprovedena 2012. godine na Indiana Univerzitetu (Indianapolis), gde su mužjaci F344 pacova 14 dana izlagani peroralno dozama akrilamida od 15 mg/kg pokazuju proliferaciju tkiva, ali u drugim organima: jetre, štitaste i nadbubrežne žlezde (128). Nagi i saradnici sprovode studiju na Swiss albino miševima primenjujući oralno dozu od 40 µg/kg 8 nedelja, gde se prate promene na tkivu jetre. Iako histopatološke promene na tkivu jetre nisu konstatovane, javlja se difuzna proliferacija Kupferovih ćelija uz obilan zapaljenski infiltrat (180).

Podaci o dejstvu akrilamida na nervno tkivo i neurotoksično dejstvo su mnogobrojni i svi govore u prilog njegovog oštećenja (94, 96, 97). Obim i vrsta oštećenja zavise od doze primenjenog akrilamida, od načina primene, kao i vremena izloženosti akrilamidu. Određena je srednja letalna doza akrilamida za pacove i kreće se od 150 do 413 mg/kg (American Cyanamid Company 1973,1977; Dow Chemical Company 1957; Fullerton and Barnes 1966; McCollister et al. 1964; Tilson and Cabe 1979; Union Carbide Corporation 1947) (26). WHO navodi , na osnovu raspoloživih podataka, da pojedinačna doza od 100 mg/kg dovodi do pojave kliničkih

znakova neurotoksičnosti, dok pri primeni doze od 1 mg/kg u periodu od tri meseca dolazi do histopatološki vidljivih oštećenja perifernih nerava (26). Istraživanja sprovedena na pacovima soja Wistar, Sprague Dawley pacovima i Trembler J miševima pokazuju da akutna primena velikih doza, ima za posledicu bržu i jaču reakciju izloženog organizma, dok manje doze i istovremeno duži period izlaganja imaju za posledicu blaža oštećenja i blaži odgovor oštećenog tkiva na dejstvo akrilamida (68, 76, 91, 97). Navode se rezultati studija gde je maksimalna tolerantna doza akrilamida za pacove 40 mg/kg. U našoj studiji primenjivane su doze od 25 i 50 mg/kg akrilamida. Oštećenja koja su konstatovana na nervnom sistemu u našem eksperimentu (rezultati volumenske gustine nervnih pleksusa, volumenske gustine, broja i veličine ganglijskih ćelija) u nekim studijama su rezultovala tek posle duže primene akrilamida, ali su i doze primenjene u njima bile manje (160, 195). Dosadašnja ispitivanja su vršena kako na CNS-u i na PNS-u, tako i na autonomnom nervnom sistemu (92, 196). Studija, koja je za cilj postavila ispitivanje uticaja akrilamida na senzitivne neurone malog dijametra u koži, nakon 5 dana peroralnog tretmana akrilamidom u dozi od preko 90 mg/kg pokazuje progresivnu redukciju gustine senzitivnih nerava u epidermisu (197). Tretiranje jedinki akrilamidom dovodi do bihevioralnih promena, gubitka koordinacije, nesigurnog hoda na širokoj osnovi, što je sve posledica oštećenja nervnog sistema (45, 76, 198). Ispitivanjem tkiva mozga uočeno je smanjenje težine mozga tretiranih jedinki, kao i pojava destrukcije i deformiteta moždanih ćelija, pojava mikronukleusa, kondenzovanje jedara i druge promene (76, 199). Allam i saradnici, 2011. godine sprovedli su studiju u kojoj su praćeni mladunci pacova in utero i 28 dana postnatalno tretiranih dozom od 10 mg/kg akrilamida. Pored pada u dobijanju telesne mase, kod jedinki su konstatovane strukturne promene u vidu smanjenja broja neurona u molekularnom sloju mozga, gubitak Purkinjeovih ćelija i slabija definisanost granularnog sloja (150). Ispitivanjem dejstva akrilamida na periferne nerve, uočeno je smanjenje broja vlakana perifernih nerava, oštećenje aksona, a ukoliko se deluje većim dozama, dolazi i do oštećenja i smrti cele ćelije (92, 93).

Podeljeni su rezultati istraživanja na polju delovanja akrilamida na ganglijske ćelije. Po nekim autorima broj i veličina ganglijskih ćelija posle dejstva akrilamida su intaktni, dok se opet po drugima javljaju jasne promene u vidu oštećenja istih, smanjenja broja, pa čak i oštećenja mikroglije (76, 99). Međutim, i drugi faktori, pored primenjene doze i vremena izlaganja akrilamidu, utiču na stepen i brzinu javljanja oštećenja kod tretiranih jedinki. Veliki broj studija navodi podatak da uzrast ispitivanih jedinki ima značajan uticaj na stepen oštećenja i reakciju na akrilamid. Što je jedinka mlađa, promene se ranije javljaju i jačeg su stepena (200, 201). Ko i saradnici u studiji rađenoj na pacovima starim tri nedelje pokazuje da peroralna primena akrilamida od 50 mg/kg dovodi mnogo ranije do pojave oštećenja na nervima u odnosu na primenu iste doze kod odraslih jedinki (198, 201, 202). Ovi podaci su značajni, jer je to jedan od faktora kojim se može objasniti brzina i stepen oštećenja nastalih na mienteričnom i submukoznom nervnom pleksusu kod jedinki u našoj studiji, a koje su detektovane u drugim studijama tek pri primeni većih doza i u dužem periodu tretiranja akrilamidom. Rezultati našeg istraživanja pokazuju pad volumenske gustine mienteričnog i submukoznog nervnog pleksusa, pad volumenske gustine, broja i veličine ganglijskih ćelija koji je statistički značajan u odnosu na povećanje doze i produženje vremena izlaganja akrilamidu. Lo Pachin i saradnici izučavali su sličnu tematiku i po njihovim rezultatima doza od 50 mg/kg ne izaziva jače oštećenje nerava u odnosu na dozu od 21 mg/kg (203, 204). Rezultati studije sprovedene u Kini 2012. godine govore u prilog pojave dozno nezavisne rane progresivne degeneracije nerava (99). Važno je u analizi rezultata pomenuti individualne razlike jedinki, kako u konstitucionalnim karakteristikama, tako i u specifičnosti reakcije na agens. Velika odstupanja u vrednostima kod jedne jedinke u grupi, mogu se odraziti na prosečnu vrednost u grupi i samim time dovesti do ekstremnih vrednosti u rezultatima, a koje je teško logično objasniti. Jedan od faktora koji ne možemo zanemariti, a koji može biti doprinoseći faktor u brzini i obimu oštećenja tkiva jedinki je pol eksperimentalne jedinke. Mužjaci pacova imaju manji kapacitet za biorazgradnju ksenobiotika u odnosu na ženke

(205). Nije precizno utvrđen obim i način umanjavanja efekta štetnog dejstva akrilamida kod jedinki ženskog pola. Da bismo dobili rezultati dejstva akrilamida na tkivo želuca pacova bez upliva drugih faktora, odlučili smo se za tretman akrilamidom samo kod mužjaka pacova. Hang i saradnici navode da oštećenja u digestivnom sistemu mogu biti posledica oštećenja nervnog sistema u gastrointestinalnom traktu (GIST-u), što je u skladu sa rezultatima naše studije (206). U cilju ispitivanja ove mogućnosti Dobrowolski i saradnici ispituju i nervni sistem tankog creva kao osnov oštećenja u GIST-u. (178).

Istražujući u dostupnim literaturnim podacima efekte akrilamida na PGP pozitivne ćelije nismo došli do podataka (pregled PubMed baze do 30. Maja 2015.). Našom studijom obuhvatili smo određivanje volumenske i numeričke gustine PGP pozitivnih ćelija. Rezultati pokazuju da u odnosu na kontrolne grupe, u grupama tretiranim akrilamidom dolazi do smanjenja kako volumenske, tako i numeričke gustine PGP pozitivnih ćelija. Opet, promene su takve da povećanje doze ili produženje vremena izlaganja akrilamidu ne dovodi do značajnijeg pada pomenutih vrednosti. Određivanje numeričke gustine je senzitivnija vrednost, jer daljom statističkom obradom dobijenih podataka uočen je statistički značajan pad vrednosti u grupama tretiranim akrilamidom u odnosu na kontrolne grupe, ali bez daljih promena u odnosu na dozu i dužinu ekspozicije. Jaka pozitivna korelacija javlja se između vrednosti numeričke gustine enteroendokrinih ćelija i volumenske gustine mienteričnog nervnog plexusa, volumenske gustine ganglijskih ćelija u submukoznom i mienteričnom nervnom plexusu, kao i broja i veličine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom plexusu. Ovakvi rezultati pokazuju da enteroendokrine ćelije pokazuju sličnu osetljivost na dejstvo akrilamida kao i mienterični nervni plexus i ganglijske ćelije u mienteričnom nervnom plexusu.

Linearnim merenjima omogućeno je kvantifikovanje rezultata u mikroskopiji. Vrlo su jednostavna, precizna i laka za primenu, uz mogućnost dobijanja vrednih rezultata. Rezultati

linearnih merenja u našoj studiji pokazuju pad broja ganglijskih ćelija, isto tako smanjenje veličine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu u grupama tretiranim akrilamidom. Povećanje doze i dužine izlaganja akrilamidu dovodi do statistički značajnog pada broja i veličine ganglijskih ćelija u mienteričnom nervnom pleksusu. Ovi podaci pokazuju da je za ispitivanje promena na ganglijskim ćelijama senzitivnija metoda određivanje broja i veličine istih u odnosu na volumensku gustinu ganglijskih ćelija. S obzirom da je u grupama tretiranim akrilamidom zastupljenost submukznog nervnog pleksusa izuzetno mala, nije bilo moguće odrediti volumensku gustinu submukoznog nervnog pleksusa, kao ni volumensku gustinu, veličinu, niti broj ganglijskih ćelija u submukoznom nervnom pleksusu.

Mastociti odnosno Erlihove ćelije su ćelije koje u perifernim tkivima sazrevaju i ispoljavaju svoju funkciju, a poreklo im je od stem ćelija kostne srži (207-211). Mastociti u mukozi digestivnog trakta se nalaze u blizini nervnih završetaka i krvnih sudova (212, 213), te u sadejstvu sa nervnim sistemom reaguju na stres oslobađanjem kortikotropnog oslobađajućeg hormona (CRH), koji autokrinim putem može indukovati degranulaciju istih (214). Ispitivanjem povezanosti pojave bola u želucu i prisustva mastocita utvrđena je visoka povezanost pojave mastocita kod osoba koje su se žalile na simptom bola (215). Takođe, utvrđeno je prisustvo mastocita kod pojave gastritisa, a posebno i kod pojave gastritisa udruženog sa infekcijom *Helicobacter Pylori* (216). S obzirom na ulogu mastocita u reakciji na razne hemijske agense, realno je očekivati da će i mastociti imati udela u reakciji na tretiranje akrilamidom. Međutim, bitno je naglasiti da nema dejstva mastocita bez njihove aktivacije i oslobađanja sadržaja granula koje skladište medijatore reakcija koje one izazivaju. Degranulacija je parametar aktivacije mastocita i pojava degranulisanih mastocita je dokaz postojanja adekvatne reakcije (217). S toga, u smislu komentarisanja uloge mastocita u nekom reaktivnom procesu bitan je odnos broja degranulisanih u odnosu na broj intaktnih mastocita. Naši rezultati ukazuju na sporadično

detektovane intaktne mastocite, bez posebne zakonitosti povećanja njihovog broja u određenoj grupi životinja tretiranih akrilamidom ili u kontrolnim grupama. Studija sprovedena na Prirodno-matematičkom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu, 2012. godine ispitala je prisustvo mastocita u dermisu kože kod pacova tretiranih akrilamidom (218). Iako regionalno i po poreklu i funkciji različiti mastociti od onih u sluznici digestivnog sistema, može se uočiti da se u kontrolnim grupama mastociti javljaju sporadično i pretežno su intaktni (218). Broj degranulisanih mastocita u našoj studiji u submukozi pokazuje povećanje, kako u odnosu na kontrolne grupe, isto tako dolazi do povećanja broja degranulisanih mastocita sa produženjem vremena izlaganja akrilamidu, a koje pokazuje i statističku značajnost. Uticaj i efekti akrilamida na mastocite mukoze digestivnog sistema do sada nisu bili predmet istraživanja u naučnim studijama. Međutim, ukoliko povežemo podatak da su mastociti lokalizovani oko nervnih završetaka i krvnih sudova, a da akrilamid dovodi do oštećenja istih, može se zaključiti da je aktivacija mastocita i njihova degranulacija jedan od mehanizama reakcije tkiva želuca na oštećenja autonomnog nervnog sistema digestivnog trakta i ujedno sastavni deo inflamatornog odgovora.

6. ZAKLJUČAK

1. Akutni tretman akrilamidom prouzrokovao je histološke promene u strukturama želuca pacova soja *Wistar* u vidu blagog direktnog oštećenja površnog epitela sa propratnom blagom akutnom inflamatornom reakcijom i povećanom degranulacijom mastocita.
2. Akutna primena akrilamida u strukturama želuca pacova soja *Wistar* prouzrokovala je promene na nivou Maissner-ovog i Auerbach-ovog nervnog plexusa koje su kvantifikacionim metodama verifikovane kao pad volumenske gustine nervnih vlakana i ganglijskih ćelija, smanjenje veličine i broja ganglijskih ćelija u oba nervna plexusa.
3. Efekat akutno primenjenog akrilamida na želudac pacova soja *Wistar*, u zavisnosti da li su ispitivani inflamatorni ili degenerativni parametri, pokazuje pozitivnu korelaciju u odnosu na dozu i/ili dužinu ekspozicije akrilamidu.
4. Odabrani i izračunati kvantitativni stereološki i linearni parametri daju precizan i tačan prikaz lokalizacije, tipa i stepena oštećenja želuca pacova soja *Wistar* nakon akutne primene akrilamida.
5. Obzirom da akutna primena akrilamida ima direktno toksično delovanje na epitel sluznice želuca pacova soja *Wistar*, što dovodi do posledične obnove epitela, u ispitivanim grupama je potvrđeno prisustvo nezrelih oblika mukoproduktivnih ćelija u čijim citoplazmama je potvrđeno prisustvo kiselih, AB pozitivnih mucina.

7. LITERATURA

1. Rohen WJ, Yokochi C, Lütjen-Drecoll E. Stomach [picture]. In: Color Atlas of Anatomy. 7th Edition. Philadelphia: Schattauer GmbH; 2011.
2. Gray, Henry. Anatomy of the Human Body. Philadelphia: Lea & Febiger, 1918; Bartleby.com [internet]. 2000 [cited 2013 September 13]. Available from: <http://www.bartleby.com/107/>
3. DeBurgh J, editor. The human body. London: Amber books; 2003.
4. Day WD et al. Normal stomach [picture]. In: Morson and Dawson's Gastrointestinal Pathology. 4th edition. Berlin: Blackwell Science; 2003.
5. Somer Lj , Anđelković Z. Digestivni trakt. U: Anđelković Z i sar. U: Histološka građa organa. 1. izdanje. Niš: Bonafides; 2001.
6. Ross HM, Pawlina W. Digestive system II: esophagus and gastrointestinal tract. In: Histology. 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 2006.
7. Kiss A, Rethelyi M. Histology a color atlas. Budapest: General Pres Kiado; 2005.
8. He SH. Key role of mast cells and their major secretory products in inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol. 2004;10(3):309-18.
9. Metcalfe DD, Baram D, Mekori YA. Mast Cells. Physiological Reviews. 1997;77(4): 1033-79.
10. Mahjoub FE, Farahmand F, Pourpak Z, Asefi H, Amini Z. Mast cell gastritis: Children complaining of chronic abdominal pain with histologically normal gastric mucosal biopsies except for increase in mast cells, proposing a new entity. Diagnostic pathology [internet]. 2009 October [cited 2013 September 15];4:34. Available from: <http://www.diagnosticpathology.org/content/4/1/34>
11. Bischoff SC. Role of mast cells in allergic and non-allergic immune responses: comparison of human and murine data. Nature Reviews. 2007;7: 93-104.

12. Groschwitz KR, Hogan SP. Intestinal barrier function: Molecular regulation and disease pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol*. 2009;124(1):2-19.
13. Bischoff SC. Physiological and pathophysiological functions of intestinal mast cells. *Semin Immunopathol*. 2009;31:185–205.
14. Cao J, Papadopoulou N, Kempuraj D, Boucher WS, Sugimoto K, Cetrulo CL et al. Human Mast Cells Express Corticotropin-Releasing Hormone (CRH) Receptors and CRH Leads to Selective Secretion of Vascular Endothelial Growth Factor1. *The Journal of Immunology*. 2005;174:7665–75.
15. Hampton DD, Hale LP. Mast Cells Are Critical for Protection against Peptic Ulcers Induced by the NSAID Piroxicam. *PLoS ONE* [internet]. 2011 [cited 2013 September 15]6(8):e23669. Available from: doi:10.1371/journal.pone.0023669
16. Weller K, Foitzik K, Paus R, Syska W, Maurer M. Mast cells are required for normal healing of skin wounds in mice. *FASEB J*. 2006;20:1628–35.
17. Penissi AB, Rudolph MI, Piezzi RS. Role of mast cells in gastrointestinal mucosal defense. *Biocell*. 2003;27(2):163-72.
18. Sun Q, Li W, She R, Wang D, Han D, Li R, et al. Evidence for a role of mast cells in the mucosal injury induced by Newcastle disease virus. *Poultry Science*. 2009;88:554–61.
19. Strobel S, Miller HR, Ferguson A. Human intestinal mucosal mast cells: evaluation of fixation and staining techniques. *J Clin Pathol*. 1981;34:851-8.
20. Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ. Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2011;62(6):591-9.
21. Farhadi A, Fields JZ, Keshavarzian A. Mucosal mast cells are pivotal elements in inflammatory bowel disease that connect the dots: Stress, intestinal hyperpermeability and inflammation. *World J Gastroenterol*. 2007;13(22):3027-30.
22. Maltby S, Khazaie K, McNagny KM. Mast Cells in Tumor Growth: Angiogenesis, Tissue Remodeling and Immune-modulation. *Biochim Biophys Acta* [internet]. 2009 [cited 2013 September 15];1796(1):19–26. Available from: doi:10.1016/j.bbcan.2009.02.001

23. Shinichi Ban. The normal stomach: anatomy, specimen dissection and histology relevant to pathological practice. In: Morson and Dawson's Gastrointestinal Pathology. 5th edition. Oxford: Blackwell Science; 2013.
24. Eriksson S. Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology [dissertation]. Sweden: Stockholm University, Department of Environmental Chemistry; 2005.
25. Sharma A, Jain J. Effects of Oral Exposure of Acrylamide on Plasma Levels of Thyroid Hormones and Haematological Parameters in the Swiss Albino Mice. Asian J Exp Sci. 2008;22(3):317-24.
26. U.S. Department of Health and Human Services, public health service. Toxicological profile for acrylamide. Agency for toxic substances and disease registry; 2012.
27. Hogervorst J. Dietary acrylamide intake and human cancer risk. Amsterdam (Holland): Janneke Hogervorst; 2009.
28. Acrylamide [editorial]. IARC Monographs. 2009;60:389-433.
29. Mansour KM, Ibrahim EM, El-Kholy MM, El-Madawy AS. Antioxidant and histopathological effect of catechin and neem leaves extract in acrylamide toxicity of rats. Egypt J Comp Path & Clinic Path. 2008;21(1):290-313.
30. U.S. Department of Health and Human Services. Acrylamide. Report on Carcinogens. National Toxicology Program. 12th edition; 2011.
31. World Health Organisation. Acrylamide in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality; 2011.
32. Office of Pollution Prevention and Toxics. Chemical summary for acrylamide. U.S. Environmental Protection Agency; 1994.
33. Besaratinia A, Pfeifer PG. A review of mechanisms of acrylamide carcinogenicity. Carcinogenesis. 2007;28(3):519–28.
34. Aguilar RM, Elvira C, Gallardo A, Vázquez B, Román SJ. Smart polymers and Their Applications as Biomaterials. Topics in Tissue Engineering. 2007;(3):1-27.
35. Pejić JB. Kvalitet fermentisanog mlečnog napitka pakovanog u različitim uslovima [dissertation]. Novi Sad: tehnološki fakultet; 2013.

36. Petrovčić T, Pilipović A. Hidrogelovi. Polimeri. 2011;32(1):31-3.
37. Radaković SS i sar. Nutrigenetika-uloga ishrane i nasleđa u nastanku i sprečavanju malignih bolesti. Vojnosanit Pregl. 2004;61(1):65-70.
38. Konings E, Baars A, Klaveren V, Spanjer D et al. Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risks. Food Chem Toxicol. 2003;41(11):1569-79.
39. Friedman M, Mottram D, editors. Chemistry and Safety of Acrylamide in Food. New York: Springer Science+Business Media; 2005.
40. El-Sayyad HI, Abou-Egla MH, El-Sayyad FI, El-Ghawet HA, Gaur RL, Fernando A, Raj MHG, Ouhtit A. Effects of fried potato chip supplementation on mouse pregnancy and fetal development. Nutrition. 2011;27:343–50.
41. Dutra Caldas E, Nunes Oliveira, Jardim A. Exposure to toxic chemicals in the diet: Is the Brazilian population at risk? Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology. 2012;22:1–15.
42. Stellungnahme der Kommission Human-Biomonitoring des Umweltbundesamtes. Acrylamide and Human-Biomonitoring. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz. 2008;51:98–108.
43. Seal CA, de Mul A, Eisenbrand G, Haverkort AJ, Franke K, Lalljie SPD, Mykkanen H, Reimerdes E, Scholz G, Somoza V, Tuijelaars S, van Boekel S, van Klaveren J, Wilcockson SJ, Wilms L. Risk-Benefit Considerations of Mitigation Measures on Acrylamide Content of Foods – A Case Study on Potatoes, Cereals and Coffee. British J of Nutrition. 2007; p.1-47.
44. Chen J-H, Yang C-H, Wang Y-S, Lee J-G, Cheng C-H, Chou C-C. Acrylamide-induced mitochondria collapse and apoptosis in human astrocytoma cells. Food and Chemical Toxicology. 2013;51:446–52.
45. Zhang MA, Chen FH, Huang ZY, Zhang XC. Elaidic acid enhanced the simultaneous neurotoxicity attributable to the cerebral pathological lesion resulted from oxidative damages induced by acrylamide and benzo(a)pyrene. Toxicology and Industrial Health. 2011;27(7):661–72.

46. Ogawa B, Ohishi T, Wang L, Takahashi M, Taniai E, Hayashi H, Mitsumori H, Shibutani M. Disruptive neuronal development by acrylamide in the hippocampal dentate hilus after developmental exposure in rats. *Arch Toxicol*. 2011;85:987–94.
47. Ma Y, Shi J, Zheng M, Liu J, Tian S, He X, Zhang D, Li G, Zhu J. Toxicological effects of acrylamide on the reproductive system of weaning male rats. *Toxicology and Industrial Health*. 2011;27(7):617–27.
48. Tran NL, Barraj LM, Murphy MM, Bi X. Dietary Acrylamide Exposure and Hemoglobin Adducts – National Health and Nutrition Examination Survey (2003–04). *Food and Chemical Toxicology*. 2010;48:3098–108.
49. Das AB, Srivastav PP. Acrylamide in snack foods. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2012; 22(3):163–9.
50. Friedman M, Levin CE. Review of Methods for the Reduction of Dietary Content and Toxicity of Acrylamide. *J Agric Food Chem*. 2008;56:6113–40.
51. Erkekoglu P, Baydar T. Toxicity of acrylamide and evaluation of its exposure in baby foods. *Nutrition Research Reviews*. 2010;23:323–33.
52. Mojska H, Gielecinska I, Stos K. Determination of acrylamide level in commercial baby foods and an assessment of infant dietary exposure. *Food and Chemical Toxicology*. 2012;50:2722–8.
53. Editorial. Fried potato chips and French fried. Are they safe to eat? *Nutrition* 2011;27:1076–7.
54. Spivey A. A Matter of degrees. *Environmental Health Perspectives*. 2010;118:161–7.
55. Shojaee-Aliabadi S, Nikoopour H, Kobarfard F, Parsapour M, Moslehishad M, Hassanabadi H, Frias JM, Hashemia M, Dahaghin E. Acrylamide reduction in potato chips by selection of potato variety grown in Iran and processing conditions. *J Sci Food Agric*. 2013;93:2556–61.
56. Jaeger H, Janositz A, Knorr D. The Maillard reaction and its control during food processing. The potential of emerging technologies. *Pathologie Biologie*. 2010;58:207–13.
57. Halford NG, Curtis TY, Muttucumar N, Postles J, Elmore JS, Mottram DS. The acrylamide problem: a plant and agronomic science issue. *Journal of Experimental Botany*. 2012;63(8):2841–51.

58. Mucci LA, Wilson KA. Acrylamide Intake through Diet and Human Cancer Risk. *J Agric Food Chem.* 2008;56:6013–19.
59. Somoza V. The Maillard reaction in food and medicine: Current status and future aspects. *Mol Nutr Food Res.* 2009;53:1485–6.
60. Lofstedt R. Communicating Food Risks in an Era of Growing Public Distrust: Three Case Studies. *Risk Analysis.* 2013;33(2):192-202.
61. Birlouez-Aragon I, Morales F, Fogliano V, Pain J-P. The health and technological implications of a better control of neoformed contaminants by the food industry. *Pathologie Biologie.* 2010;58:232–8.
62. Mottram DS. Symposium on the Chemistry and Toxicology of Acrylamide. *J Agric Food Chem.* 2008;56:5983.
63. Doerge DR, Young JF, Chen JJ, Dinovi MJ, Henry SH. Using Dietary Exposure and Physiologically Based Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Modeling in Human Risk Extrapolations for Acrylamide Toxicity. *J Agric Food Chem.* 2008;56:6031–8.
64. Hirvonena T, Jestoi M, Tapanainen H, Valsta L, Virtanen SM, Sinkkø H, Kronberg-Kippilä H, Konttö J, Virtanen J, Simell O, Peltonen K. Dietary acrylamide exposure among Finnish adults and children: the potential effect of reduction measures. *Food Additives and Contaminants.* 2011;28(11):1483–91.
65. Zhanga X, Cao J, Jiang L, Geng C, Zhong L. Protective effect of hydroxytyrosol against acrylamide-induced cytotoxicity and DNA damage in HepG2 cells. *Mutation Research.* 2009; 664:64–8.
66. Zhanga X, Jiang L, Geng C, Yoshimura H, Zhong L. Inhibition of acrylamide genotoxicity in human liver-derived HepG2 cells by the antioxidant hydroxytyrosol. *Chemico-Biological Interactions.* 2008;176:173–8.
67. Rodríguez-Ramiro I, Martín MA, Ramos S, Bravo L, Goya L. Olive oil hydroxytyrosol reduces toxicity evoked by acrylamide in human Caco-2 cells by preventing oxidative stress. *Toxicology.* 2011;288:43–8.
68. Lakshmi D, Gopinath K, Jayanthi G, Anjum S, Prakash D, Sudhandiran G. Ameliorating Effect of Fish Oil on Acrylamide Induced Oxidative Stress and Neuronal Apoptosis in Cerebral Cortex. *Neurochem Res.* 2012;37:1859–67.
69. American Chemical Society. Comment on Curcumin Attenuates Acrylamide-Induced

- Cytotoxicity and Genotoxicity in HepG2 Cells by ROS Scavenging. *J Agric Food Chem.* 2009;57:5644–6.
70. Cao J, Liu Y, Jia L, Jiang L-P, Geng C-Y, Yao X-F, Kong Y, Jiang B-N, Zhong L-F. Curcumin Attenuates Acrylamide-Induced Cytotoxicity and Genotoxicity in HepG2 Cells by ROS Scavenging. *J Agric Food Chem.* 2008;56:12059–63.
71. Prasad SN, Muralidhara. Neuroprotective Efficacy of Eugenol and Isoeugenol in Acrylamide-Induced Neuropathy in rats: Behavioral and Biochemical evidence. *Neurochem Res.* 2013;38:330–45.
72. Zhang L, Wang E, Chen F, Yana H, Yuan Y. Potential protective effects of oral administration of allicin on acrylamide-induced toxicity in male mice. *Food Funct.* 2013;4:1229-36.
73. Zhang L, Zhang H, Miao Y, Wu S, Ye H, Yuan Y. Protective effect of allicin against acrylamide-induced hepatocyte damage in vitro and in vivo. *Food and Chemical Toxicology.* 2012;50:3306–12.
74. Alturfan AA, Tozan-Beceran A, Sehirli AO, Demiralp E, Sener G, Omurtag GZ. Resveratrol ameliorates oxidative DNA damage and protects against acrylamide-induced oxidative stress in rats. *Mol Biol Rep.* 2012;39:4589–96.
75. Rodríguez-Ramiro I, Ramos S, Bravo L, Goya L, Martín MA. Procyanidin B2 and a cocoa polyphenolic extract inhibit acrylamide-induced apoptosis in human Caco-2 cells by preventing oxidative stress and activation of JNK pathway. *Journal of Nutritional Biochemistry.* 2011;22:1186–94.
76. Zhang Xichun¹ and Zhang Min'ai. Protective role of dark soy sauce against acrylamide induced neurotoxicity in rats by antioxidative activity. *Toxicology Mechanisms and Methods.* 2009;19(5):369–74.
77. Zeng X, Kong RPW, Cheng K-W, D Y, Tang Y-S, Chu IK, Lo C, Sze K-H, Chen F, Wang M. Direct Trapping of Acrylamide as a Key Mechanism for Niacin's Inhibitory Activity in Carcinogenic Acrylamide Formation. *Chem Res Toxicol.* 2010;23:802–7.
78. European Food Safety Authority. Acrylamide carcinogenicity new evidence in relation to dietary exposure. EFSA scientific colloquium no. 11. Tabiano, Italy; 2008.
79. Employment, Social Affairs & Inclusion. Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for Acrylamide. SCOEL Recommendation on acrylamide; 2011, annex 2012.

80. Hirvonen T, Kontto J, Jestoi M, Valsta L, Peltonen K, Pietinen P, Virtanen SM, Sinkko H, Kronberg-Kippila C, Albanes D, Virtamo J. Dietary acrylamide intake and the risk of cancer among Finnish male smokers. *Cancer Causes Control*. 2010;21:2223–9.
81. Wirfalt E, Paulsson B, Tornqvist M, Axmon A, Hagmar L. Associations between estimated acrylamide intakes and hemoglobin AA adducts in a sample from the Malmo Diet and Cancer cohort. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2008;62:314–23.
82. Kutting B, Wolfgang A, Uter A, Drexler H. The association between self-reported acrylamide intake and hemoglobin adducts as biomarkers of exposure. *Cancer Causes Control*. 2008;19:273–81.
83. Kutting B, Schettgen T, Schwegler U, Fromme H, Uter W, Angerer J, Drexler H. A health risk assessment for the general population based on the internal acrylamide burden. *Int J Hyg Environ Health*. 2009;212:470–80.
84. College of Medicine (USA). ITER Peer Review on Acrolein, Acrylamide, & Acrylonitrile Meeting Summary. Ohio: University of Cincinnati; 1998.
85. Ferguson SA, Garey J, Smith ME, Twaddle NC, Doerge DR, Paule MG. Prewaning behaviors, developmental landmarks, and acrylamide and glycidamide levels after pre- and postnatal acrylamide treatment in rats. *Neurotoxicology and Teratology*. 2010;32:373–82.
86. Takahashi M, Shibutani M, Nakahigashi J, Sakaguchi N, Inoue K, Morikawa T, Yoshida M, Nishikawa A. Limited lactational transfer of acrylamide to rat offspring on maternal oral administration during the gestation and lactation periods. *Arch Toxicol*. 2009;83:785–93.
87. Takahashi M, Shibutani M, Inoue K, Fujimoto H, Hirose M, Nishikawa A. Pathological assessment of the nervous and male reproductive systems of rat offspring exposed maternally to acrylamide during the gestation and lactation periods—a preliminary study. *J Toxicol Sci*. 2008;33(1):11–24.
88. JIFSAN/NCFST Working Group. Overview of Acrylamide Toxicity and Metabolism. JIFSAN/NCFST Workshop on Acrylamide in Food Toxicology and Metabolic Consequences Working Group; 2002.

89. Klaunig EJ, Kamendulis ML. Mechanisms of acrylamide induced rodent carcinogenesis. In: Chemistry and Safety of Acrylamid in Food. Idianapolis: Friedman and Mottram; 2005. p.49-62.
90. U.S. Environmental Protection Agency. Toxicological review of acrylamide. Washington, D.C. In: Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS); 2007.
91. Parka HR, Kima M-S, Kima SJ, Parka M, Konga KH, Kima HS, Kwackb SY, Kangb TS, Kimb SH, Kima HS, Leea J. Acrylamide induces cell death in neural progenitor cells and impairs hippocampal neurogenesis. *Toxicology Letters*. 2010;193:86–93.
92. Lourenssen S, Miller KG, Blennerhassett MG. Discrete responses of myenteric neurons to structural and functional damage by neurotoxins in vitro. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2009;297:228–39.
93. Schaumburg HH, Zotova E, Raine CS, Tar M, Arezzo J. The rat caudal nerves: a model for experimental neuropathies. *Journal of the Peripheral Nervous System*. 2010;15:128–39.
94. Muller M, Wacker K, Getts D, Ringelstein EB, Kiefer R. Further Evidence for a Crucial Role of Resident Endoneurial Macrophages in Peripheral Nerve Disorders: Lessons from Acrylamide-Induced Neuropathy. *GLIA*. 2008;56:1005–16.
95. Zhang L, Gavin T, Barber DS, LoPachin RM. Role of the Nrf2-ARE pathway in acrylamide neurotoxicity. *Toxicology Letters*. 2011;205:1–7.
96. Ahmed HH, Elmegeed GA, El-Sayed EM, Abd-Elhalim MM, Shousha WG, Shafic RW. Potent neuroprotective role of novel melatonin derivatives for management of central neuropathy induced by acrylamide in rats. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010;45:5452-9.
97. Ewaleifoh O, Trinh M, Griffin JW, Nguyen T. A novel system to accelerate the progression of nerve degeneration in transgenic mouse models of neuropathies. *Experimental Neurology*. 2012;237:153–9.
98. Goffeng LO, Heier MS, Kjuus H, Sjöholm H, Sørensen KA, Skaug V. Nerve conduction, visual evoked responses and electroretinography in tunnel workers previously exposed to acrylamide and N-methylolacrylamide containing grouting agents. *Neurotoxicology and Teratology*. 2008;30:186–94.

99. Shi Y, Ma Y, Zheng M, Ruan Z, Liu J, Tian S, Zhang D, He X, Li G. Effect of sub-acute exposure to acrylamide on GABAergic neurons and astrocytes in weaning rat cerebellum. *Toxicology and Industrial Health*. 2011;28(1):10–20.
100. PubH. Acrylamide . Exposure to environmental Hazards, Fall Semester; 2003.
101. Haber LT, Maier A, Kroner OL, Kohrman MJ. Evaluation of human relevance and mode of action for tunica vaginalis mesotheliomas resulting from oral exposure to acrylamide. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2009;53:134–49.
102. Hogervorst JGF, Schouten LJ, Konings EJM, Goldbohm RA, Brandt PA. Dietary acrylamide intake and the risk of renal cell, bladder, and prostate cancer. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:1428 –38.
103. Dourson M, Hertzberg R, Allen B, Haber L, Parker A, Kroner O, Maier A, Kohrman M. Evidence-based dose–response assessment for thyroid tumorigenesis from acrylamide. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2008;52:264–89.
104. Altaeva A, Sycheva LP, Belyaeva NN. Mutagenic Activity of Acrylamide in the Rat Thyroid Cells under Conditions of a Subacute Experiment. *Byulleten Eksperimental noi Biologii I Meditsiny*. 2011;152(8):238-40.
105. Hamdy SM, Bakeer HM, Eskander EF, Sayed ON. Effect of acrylamide on some hormones and endocrine tissues in male rats. *Human and Experimental Toxicology*. 2011;31(5):483–91.
106. Olesen PT, Olsen A, Frandsen H, Frederiksen H, Overvad K, Tjønneland A. Acrylamide exposure and incidence of breast cancer among postmenopausal women in the Danish Diet, Cancer and Health study. *Int J Cancer*. 2008;122:2094–100.
107. Lyn-Cook LE, Tareke E, Word B, Starlard-Davenport A, Lyn-Cook BD, Hammons GJ. Food contaminant acrylamide increases expression of Cox-2 and nitric oxide synthase in breast epithelial cells. *Toxicology and Industrial Health*. 2011;27(1):11–8.
108. Maier A, Kohrman-Vincent M, Hertzberg R, Allen B, Haber LT, Dourson M. Critical review of dose–response options for F344 rat mammary tumor for acrylamide – Additional insights based on mode of action. *Food and Chemical Toxicology*. 2012;50:1763–75.

109. Hogervorst JGF, Schouten LJ, Konings EJM, Goldbohm RA, Brandt PA. Lung Cancer Risk in Relation to Dietary Acrylamide Intake. *Natl Cancer Inst.* 2009;101:651–62.
110. Hogervorst JG, Schouten LJ, Konings EJ, et al. A prospective study of dietary acrylamide intake and the risk of endometrial, ovarian, and breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16(11):2304-13.
111. Larsson SC, Akesson A, Wolk A. Long-term dietary acrylamide intake and breast cancer risk in a prospective cohort of Swedish women. *Am J Epidemiol.* 2009;169(3):376-81.
112. Larsson SC, Akesson A, Wolk A. Long-term dietary acrylamide intake and risk of epithelial ovarian cancer in a prospective cohort of Swedish women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18(3):994-7.
113. Von Tungeln LS, Doerge DR, da Costa GG, Marques MM, Witt WM, Koturbash I, Pogribny IP, Beland FA. Tumorigenicity of acrylamide and its metabolite glycidamide in the neonatal mouse bioassay. *Int J Cancer.* 2012;131:2008–15.
114. Sun X, Ji J, Jiang D, Li X, Zhang Y, Li Z, Wuc Y. Development of a novel electrochemical sensor using pheochromocytoma cells and its assessment of acrylamide cytotoxicity. *Biosensors and Bioelectronics.* 2013;44:122–6.
115. Hogervorst JGF, Schouten LJ, Konings EJM, et al. Dietary Acrylamide Intake and Brain Cancer Risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18:1663-6.
116. Pelucchi C, Galeone C, Talamini R, Negri E, Polesel J, Serraino D, Vecchia LA. Dietary acrylamide and pancreatic cancer risk in an Italian case-control study. *Annals of Oncology.* 2011;22:1910–5.
117. Larsson SC, Akesson A, Wolk A. Dietary acrylamide intake and prostate cancer risk in a prospective cohort of Swedish men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18(6):1939-41.
118. Hogervorst JG, Schouten LJ, Konings EJ, et al. Dietary acrylamide intake and the risk of renal cell, bladder, and prostate cancer. *Am J Clin Nutr.* 2008;87(5):1428-38.
119. Wilson KM, Bealter K, Adami H-O, Greenberg H, Vikstroom AC, Paulsson B, Teornqvist M, Mucci LA. Acrylamide exposure measured by food frequency questionnaire and hemoglobin adduct levels and prostate cancer risk in the Cancer of the Prostate in Sweden Study. *Int J Cancer.* 2009;124:2384–90.

120. Wilson KM, Giovannucci E, Stampfer MJ, Mucci LA. Dietary acrylamide and risk of prostate cancer. *Int J Cancer*. 2012;131:479–87.
121. Hogervorst JG, Schouten LJ, Konings EJ, et al. Dietary acrylamide intake is not associated with gastrointestinal cancer risk. *J Nutr*. 2008;138(11):2229-36.
122. Larsson SC, Hakansson N, Akesson A, Wolk A. Long-term dietary acrylamide intake and risk of endometrial cancer in a prospective cohort of Swedish women. *Int J Cancer*. 2009;124:1196–9.
123. Larssona SC, Akessona A, Bergkvistb L, Wolk A. Dietary acrylamide intake and risk of colorectal cancer in a prospective cohort of men. *European Journal of Cancer*. 2009;45:513–6.
124. Zhang X. Simultaneous exposure to dietary acrylamide and corn oil developed carcinogenesis through cell proliferation and inhibition of apoptosis by regulating p53-mediated mitochondria-dependent signaling pathway. *Toxicology and Industrial Health*. 2009; 25:101–9.
125. Mucci LA , Adami H-O. The Plight of the Potato: Is Dietary Acrylamide a Risk Factor for Human Cancer? *JNCI*. 2009;101(9):618-21.
126. Chen M-J, Hsu H-T, Lin C-L, Ju W-Y. A statistical regression model for the estimation of acrylamide concentrations in French fries for excess lifetime cancer risk assessment. *Food and Chemical Toxicology*. 2012;50:3867–76.
127. Sen A, Ozgun O, Arinç E, Arslan S. Diverse action of acrylamide on cytochrome P450 and glutathione S-transferase isozyme activities, mRNA levels and protein levels in human hepatocarcinoma cells. *Cell Biol Toxicol*. 2012;28:175–86.
128. Klaunig JE. Acrylamide Carcinogenicity. *J Agric Food Chem*. 2008;56:5984–8.
129. Ehlersa A, Lenzeb D, Broll H, Zagona J, Hummel M, Lampen A. Dose dependent molecular effects of acrylamide and glycidamide in human cancer cell lines and human primary hepatocytes. *Toxicology Letters*. 2013;217:111–20.
130. Qiu Y, Qu X, Dong J, Ai S, Han R. Electrochemical detection of DNA damage induced by acrylamide and its metabolite at the graphene-ionic liquid-Nafion modified pyrolytic graphite electrode. *Journal of Hazardous Materials*. 2011;190:480–5.

131. Galesa K, Bren U, Kranjc A, Mavri J. Carcinogenicity of Acrylamide: A Computational Study. *J Agric Food Chem.* 2008;56:8720–7.
132. Tardiff RG, Gargas ML, Kirman CR, Carson ML, Sweeney LM. Estimation of safe dietary intake levels of acrylamide for humans. *Food and Chemical Toxicology.* 2010; 48:658–67.
133. Ao L, Liu S-X, Yang M-S, Fong C-C, An H, Cao J. Acrylamide-induced molecular mutation spectra at HPRT locus in human promyelocytic leukaemia HL-60 and NB4 cell lines. *Mutagenesis.* 2008;23(4):309–15.
134. Marchetti F, Bishop J, Lowe X, Wyrobek AJ. Chromosomal Mosaicism in Mouse Two-Cell Embryos after Paternal Exposure to Acrylamide. *Toxicological Sciences.* 2009;107(1):194–205.
135. Recio L, Hobbs C, Caspary W, Witt KL. Dose-response assessment of four genotoxic chemicals in a combined mouse and rat micronucleus (MN) and Comet assay protocol. *J Toxic Sci.* 2010;35(2):149-62.
136. Hansen SH, Olsen AK, Söderlund EJ, Brunborg G. In vitro investigations of glycidamide-induced DNA lesions in mouse male germ cells and in mouse and human lymphocytes. *Mutation Research.* 2010;696:55–61.
137. Koyama N, Yasui M, Kimura A, Takami S, Suzuki T, Masumura K, Nohmi T, Masuda S, Kinae N, Matsuda T, Imai T, Honma M. Acrylamide genotoxicity in young versus adult gpt delta male rats. *Mutagenesis.* 2011;26(4):545–9.
138. Mei N, Mc Daniel LP, Dobrovolsky VN, Guo X, Shaddock JG, Mittelstaedt RA, Azuma M, Shelton SD, Mc Garrity LJ, Doerge DJ, Heflich RH. The Genotoxicity of Acrylamide and Glycidamide in Big Blue Rats. *Toxicological Sciences.* 2010; 115(2):412–21.
139. Abramsson-Zetterberga L, Vikstrom AC, Tornqvist M, Hellenas K-E. Differences in the frequency of micronucleated erythrocytes in humans in relation to consumption of fried carbohydrate-rich food. *Mutation Research.* 2008;653:50–6.
140. Koyama N, Yasui M, Oda Y, Suzuki S, Satoh T, Suzuki T, Matsuda T, Masuda S, Kinae N, Honma M. Genotoxicity of Acrylamide In Vitro: Acrylamide Is Not Metabolically Activated in Standard In Vitro Systems. *Environmental and Molecular Mutagenesis.* 2011;52:12-9.

141. Kimmins S. Expanding Waistlines Heighten the Risk for Reproductive Toxicity. *Biology of Reproduction*. 2010;82:1–3.
142. Wanga H, Huang P, Lie T, Li J, Hutz RJ, Li K, Shi F. Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. *Reproductive Toxicology*. 2010;29:225–30.
143. Oshida K, Hirakata M, Maeda A, Miyoshi T, Miyamoto Y. Toxicological effect of emodin in mouse testicular gene expression profile. *J Appl Toxicol*. 2011;31:790–800.
144. Ghanayem BI, Bai R, Kissling GE, Travlos G, Hoffler U. Diet-Induced Obesity in Male Mice Is Associated with Reduced Fertility and Potentiation of Acrylamide-Induced Reproductive Toxicity. *Biology of Reproduction*. 2010;82:96–104.
145. Kermani-Alghoraishi M, Anvari M, Talebi AR, Amini-Rad O, Ghahramani R, Miresmaili SM. The effects of acrylamide on sperm parameters and membrane integrity of epididymal spermatozoa in mice. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2010;153:52–5.
146. Wang R-S, Mc Daniel LP, Manjanatha MG, Shelton SD, Doerge DR, Mei N. Mutagenicity of Acrylamide and Glycidamide in the Testes of Big Blue Mice. *Toxicological Sciences*. 2010;117(1):72–80.
147. Nixon BJ, Stanger SJ, Nixon B, Roman SD. Chronic Exposure to Acrylamide Induces DNA Damage in Male Germ Cells of Mice. *Toxicological Sciences*. 2012;129(1):135–45.
148. Takahashi M, Inoue K, Koyama N, Yoshida M, Irie K, Morikawa T, Shibutani M, Honma M, Nishikawa A. Life stage-related differences in susceptibility to acrylamide-induced neural and testicular toxicity. *Arch Toxicol*. 2011;85:1109–20.
149. Mustafa HN. Effect of acrylamide on testis of albino rats. *Saudi Med J*. 2012;33(7):722–31.
150. Allam A, El-Ghareeb AA, Abdul-Hamid M, Baikry A, Sabri MI. Prenatal and perinatal acrylamide disrupts the development of cerebellum in rat: Biochemical and morphological studies. *Toxicology and Industrial Health*. 2011;27(4):291–306.
151. Ogawa B, Wang L, Ohishi T, Tanai E, Akane H, Suzuki K, Mitsumori K, Shibutani M. Reversible aberration of neurogenesis targeting late-stage progenitor cells in the hippocampal dentate gyrus of rat offspring after maternal exposure to acrylamide. *Arch Toxicol*. 2012;86:779–90.

152. Garey J, Paule MG. Effects of chronic oral acrylamide exposure on incremental repeated acquisition (learning) task performance in Fischer 344 rats. *Neurotoxicology and Teratology*. 2010;32:220–5.
153. HümeýraYerlikaya F, Yener Y. The Dietary Acrylamide Intake Adversely Affects the Serum Trace Element Status. *Biol Trace Elem Res*. 2013;152:75–81.
154. Lopachin RM, Gavin T. Acrylamide-Induced Nerve Terminal Damage: Relevance to Neurotoxic and Neurodegenerative Mechanisms. *J Agric Food Chem*. 2008;56:5994–6003.
155. LoPachin RM, Barber DS, Gavin T. Molecular Mechanisms of the Conjugated a,b-Unsaturated Carbonyl Derivatives: Relevance to Neurotoxicity and Neurodegenerative Diseases. *Toxicological Sciences*. 2008; 104(2):235–49.
156. Berger FI, Feld J, Bertow D, Eisenbrand G, Fricker G, Gerhardt N, Merz K-H, Richling E, Baum M. Biological effects of acrylamide after daily ingestion of various foods in comparison to water: A study in rats. *Mol Nutr Food Res*. 2011;55:387–99.
157. Ghanayem et al. Effect of Dose Volume on the Toxicokinetics of Acrylamide and Its Metabolites and 2-Deoxy-D-glucose. *DMD*. 2009;37:259–63.
158. Fuhr U, Boettcher MI, Kinzig-Schippers M, et al. Toxicokinetics of acrylamide in humans after ingestion of a defined dose in a test meal to improve risk assessment for acrylamide carcinogenicity. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15(2):266-71.
159. Vikström AC, Warholm M, Paulsson B, Axmon A, Wirfält E, Törnqvist M. Hemoglobin adducts as a measure of variations in exposure to acrylamide in food and comparison to questionnaire data. *Food and Chemical Toxicology*. 2012;50:2531–9.
160. Bjellaas T, Stolen LH, Haugen M, et al. Urinary acrylamide metabolites as biomarkers for shortterm dietary exposure to acrylamide. *Food Chem Toxicol*. 2007;45(6):1020-6.
161. Boettcher MI, Angerer J. Determination of the major mercapturic acids of acrylamide and glycidamide in human urine by LC-ESI-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2005;824(1-2):283-94.
162. Huang YF, Chen ML, Liou SH, et al. Association of CYP2E1, GST and mEH genetic polymorphisms with urinary acrylamide metabolites in workers exposed to acrylamide. *Toxicol Lett*. 2011;203(2):118-26.

163. Huang YF, Wu KY, Liou SH, et al. Biological monitoring for occupational acrylamide exposure from acrylamide production workers. *Int Arch Occup Environ Health*. 2011; 84(3):303-13.
164. Doerge DR, da Costa GG, McDaniel LP, et al. DNA adducts derived from administration of acrylamide and glycidamide to mice and rats. *Mutat Res*. 2005;580(1-2):131-41.
165. Gamboa da Costa G, Churchwell MI, Hamilton LP, et al. DNA adduct formation from acrylamide via conversion to glycidamide in adult and neonatal mice. *Chem Res Toxicol*. 2003;16(10):1328-37.
166. Watzek N, Böhm N, Feld J, Scherbl D, Berger F, Merz KH, Lampen A, Reemtsma T, Tannenbaum SR, Skippe PL, Baum M, Richling E, Eisenbrand G. N7-Glycidamide-Guanine DNA Adduct Formation by Orally Ingested Acrylamide in Rats: A Dose-Response Study Encompassing Human Diet-Related Exposure Levels. *Chem Res Toxicol*. 2011;25:381-90.
167. Sadek MK. Antioxidant and Immunostimulant Effect of *Ca rica Papa ya Linn*. Aqueous Extract in Acrylamide Intoxicated Rats. *Acta Inform Med*. 2012;20(3):180-5.
168. Husoy T, Abramsson-Zetterberg L, Olstorn HB, Paulsen JE, Alexander J. Adenomatous polyposis coli influences micronuclei induction by PhIP and acrylamide in mouse erythrocytes. *Mutat Res*. 2005;580(1-2):111-8.
169. Miller MJ, Carter DE, Sipes IG. Pharmacokinetics of acrylamide in Fisher 334 rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1982;63:36-44.
170. Djolai M. Validnost stereoloških i linearnih merenja u proceni regeneracije sluznice debelog creva u ulceroznom kolitisu. Magistarska teza. Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet. 2002.
171. Gudović R, Matavulj M, Stefanović N, Lozanov-Crvenković Z. Osnovi stereologije. *Folia anatomica*, Novi Sad. 1994.
172. Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Toˆrnqvist M. Acrylamide: a cooking carcinogen? *Chem Res Toxicol* 2000;13:517-22.
173. Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Toˆrnqvist M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J Agric Food Chem* 2002;50:4998-5006.

174. Lo Pachin RM, Balaban CD, Ross JF. Acrylamide axonopathy revisited. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003;188:135-53.
175. Mei N, McDaniel LP, Dobrovolsky VN, Guo X, Shaddock JG, Mittelstaedt RA, Azuma M, Shelton SD, McGarrity LJ, Doerge DR, et al. The genotoxicity of acrylamide and glycidamide in Big Blue rats. *Toxicol Sci* 2010;115:412–21.
176. Friedman MA, Dulak LH, Stedham MA. A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam Appl Toxicol* 1995;27:95-105.
177. Raju J, Roberts J, Sondagar C, Kapal K, Aziz SA, Caldwell D, et al. Negligible Colon Cancer Risk from Food-Borne Acrylamide Exposure in Male F344 Rats and Nude (*nu/nu*) Mice-Bearing Human Colon Tumor Xenografts. *PLoS ONE* [internet]. 2013 [cited 2014 September 11];8(9): e73916. Available from: doi:10.1371/journal.pone.0073916
178. Dobrowolski P, Huet P, Karlsson P, Eriksson S, Tomaszewska E, Gawron A, et al. Potato fibre protects the small intestine wall against the toxic influence of acrylamide. *Nutrition*. 2012;28:428–35.
179. Altinoz E, Turkoz Y, Vardi N. The protective effect of N-acetylcysteine against acrylamide toxicity in liver and small and large intestine tissues. *Bratisl Lek Listy*. 2015;116(4):252-8.
180. Nagi HM, Amin WSM, Zaki SA. The Potential Effect of Fruits and Vegetables on Liver Functions and Liver Alterations Induced by Acrylamide in Mice. 3rd International Conference on Nutrition and Food Sciences. IPCBEE [internet]. 2014 [cited 2014 October 1];71(2):5-9. Available from: DOI: 10.7763/IPCBEE. 2014.
181. Maronpot RR, Thoolen RJMM, Hansen B. Two-year carcinogenicity study of acrylamide in Wistar Han rats with in utero exposure. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2015; 67(2):189-95.
182. Injac D. Efekat subhroničnog tretmana akrilamidom na strukturu miokarda. Master rad. Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet. 2012.
183. Editorial. A new polemic to acrylamide toxicity. *Nutrition*. 2012;28:426–7.
184. Itoh Y, Kamata-Sakurai M, Denda-Nagai K, Nagai S, Tsuiji M, Ishii-Schrade K, Okada K, Goto A, Fukayama M, Irimura T. Identification and expression of human epiglycanin/MUC21: a novel transmembrane mucin. *Glycobiology*. 2008;18:74-83.
185. Hansson GC. Role of mucus layers in gut infection and inflammation. *Curr Opin Microbiol*. 2012;15:57–62.
186. Kim YS, Ho SB. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. *Curr Gastroenterol Rep*. 2010;12:319–30.

187. Andrianifahanana M, Moniaux N, Batra SK. Regulation of mucin expression: mechanistic aspects and implications for cancer and inflammatory diseases. *Biochim Biophys Acta*. 2006;1765:189-222.
188. Kim JJ, Khan WI. Goblet Cells and Mucins: Role in Innate Defense in Enteric Infections . *Pathogens*. 2013;2:55-70.
189. Greave P, Boiziau JL. Altered Patterns of Mucin Secretion in Gastric Hyperplasia in Mice. *Vet Pathol*. 1984;21:224-8.
190. Suzuki I, Taguch I, Kojima A, Matsuyam MA, Nishizuka Y. Fine structure of giant hypertrophic gastritis developed in thymectomized mice. *Lab Invest*. 1981;45:209-17.
191. Tsiftsid S, Jass JR, Filipem I, Wastel CL. Altered patterns of mucin secretion in precancerous lesions induced in the glandular part of the rat stomach by the carcinogen N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Invest Cell Pathol*. 1980;13:399-408.
192. Prathima S, Harendra Kumar ML. Mucin profile of Upper gastrointestinal tract lesions. *J Clin Biomed Sci*. 2012;2(4):185-91.
193. Meenakshi GI, Subramani D, Halagoud S. Mucin glycoarray in gastric and gall bladder epithelia. *J Carcinogenesis*. 2007;6:1477-83.
194. Raju J, Sondagar C, Roberts J, Aziz SA, Caldwell D, Vavasour E, Mehta R. Dietary acrylamide does not increase colon aberrant crypt foci formation in male F344 rats. *Food Chem Toxicol*. 2011;49:1373–80.
195. Bowyer JF, Latendresse JR, Delongchamp RR, Warbritton AR, Thomas M, Divine B, Doerge DR. The mRNA expression and histological integrity in rat forebrain motor and sensory regions are minimally affected by acrylamide exposure through drinking water. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2009;240:401–11.
196. Belai A, Burnstock G. Acrylamide-induced neuropathic changes in rat enteric nerves: similarities with effects of streptozotocin-diabetes. *J Auton Nerv Syst*. 1996;58(1-2):56-62.
197. Ko MH, Chen WP, Hsieh ST. Neuropathology of skin denervation in acrylamide induced neuropathy. *Neurobiol Dis*. 2002;11:155-65.
198. Seale SM, Feng Q, Agarwal AK, El-Alfy AT. Neurobehavioral and transcriptional effects of acrylamide in juvenile rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2012;101:77–84.
199. Yener Y, Dikmenli M . Increased micronucleus frequency in rat bone marrow after acrylamide treatment. *Food and Chemical Toxicology*. 2009;47:2120–3.

200. Suzuki K, Pfaff L. Acrylamide neuropathy in rats. An electron microscopic study of degeneration and regeneration. *Acta Neuropathol.* 1973;24:197-203.
201. Ko MH, Chen WP, Lin-Shiau SY, Hsieh ST. Age-dependent acrylamide neurotoxicity in mice: morphology, physiology, and function. *Exp Neurol.* 1999;158(1):37–46.
202. Sa´nchez J, Cabrer JM, Rossello´ CA, Palou A, Pico C. Formation of Hemoglobin Adducts of Acrylamide after Its Ingestion in Rats Is Dependent on Age and Sex. *J Agric Food Chem.* 2008;56:5096–101.
203. Lehning EJ, Balaban CD, Ross JF, LoPachin RM. Acrylamide neuropathy. II.Spatiotemporal characteristics of nerve cell damage in rat brainstem and spinal cord. *NeuroToxicology.* 2002a;23:415-29.
204. Lehning EJ, Balaban CD, Ross JF, LoPachin RM. Acrylamide neuropathy. III. Spatiotemporal characteristics of nerve cell damage in rat forebrain. *NeuroToxicology.* 2003;24:109-23.
205. Konstandi M, Cheng J, Gonzalez FJ. Sex steroid hormones regulate constitutive expression of CYP2E1 in female mouse liver. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013;304(10):1118-28.
206. Hang CH, Shi JX, Li JS, Wu W, Yin HX. Alternations of interstinal mucosa structure and barrier function following traumatic brain injury in rats. *World J Gastroenterol.* 2003;9:2776–81.
207. Ehrlich P. Beiträge zur Theorie und Praxis der histologischen Färbung. Dissertation at Leipzig University.
208. Church M, Benyon RC, Clegg LS, Holgate ST. Immunopharmacology of mast cells. In: Greaves MW, Schuster S, eds. *Handbook of experimentally pharmacology.* Berlin Heidelberg:Springer-Verlag; 1989.
209. Metcalfe DD, Baram D, Mecori YA. Mast cells. *Physiol Rev.* 1997;77(4):1033-79.
210. Penissi AB, Rudolph MI, Piezzi RS. Role of mast cells in gastrointestinal mucosal defense. *Biocell.* 2003;27(2):163-72.
211. Ramsay DB, MD, Stephen S, Borum M, Voltaggio L, Doman DB. Mast Cells in Gastrointestinal Disease. *Gastroenterology & Hepatology .* 2010;6(12):772-7.
212. Barbara G, Stanghellini V, De Giorgio R, Corinaldesi R. Functional gastrointestinal disorders and mast cells:implications for therapy. *Neurogastroenterol Motil.* 2006;18: 6–17.
213. Walker MM , Talley NJ, Prabhakar M, Pennaneac’h CJ, Aro P, Ronkainen J, Storskrubb T, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Agreus L. Duodenal mastocytosis, eosinophilia and

intraepithelial lymphocytosis as possible disease markers in the irritable bowel syndrome and functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;29:765–73.

214. Cao J, Papadopoulou N, Kempuraj D, Boucher WS, Sugimoto K, Cetrulo CL, Theoharides TC. Human mast cells express corticotrophin-releasing hormone (CRH) receptors and CRH leads to selective secretion of vascular endothelial growth factor. *J Immunol.* 2005;174(12):7665-75.
215. Taylor TJ, Youssef NN, Shankar R, Kleiner DE, Henderson WA. The association of mast cells and serotonin in children with chronic abdominal pain of unknown etiology. *BMC Research Notes.* 2010;3:265-73.
216. Frăţilă O, Crăciun C, Maghiar A, Mihăilă R, Puşcaşiu D, Avram G. Helicobacter pylori gastric infection and mast cells -ultrastructural study. *Studia Universitatis.* 2008;18:209-13.
217. Braga T, Grujic M, Lukinius A, et al. Serglycin proteoglycan is required for secretory granule integrity in mucosal mast cells. *Biochem J.* 2006;403:49–57.
218. Mina O. Efekat subhroničnog tretmana akrilamidom na mastocite kože. Master rad. Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet. 2012.

LISTA SKRAĆENICA

PAS -*Periodic Acid Schiff*

HCl -hlorovodonična kiselina

IgE -imunoglobulin E

VIP -vazoaktivni intestinalni peptid

TNF α - *tumor necrosis factor α*

GM-CSF - granulocitno-makrofagni faktor stimulacije kolonija

MCP-makrofagni hemotaksični peptid

FDA- *Food and Drug Administration*

CEN-*Commission for European Normalization*

EPA-U.S. -*Environmental Protection Agency OF United States*

DNA -deoksiribonukleinska kiselina

dr. - drugo

COX-2-ciklooksigenaza tip 2

Vvf – volumenska gustina ispitivane faze

Pf –broj tačaka testnog sistema koje padaju na ispitivanu fazu

Pt –broj tačaka primenjenog testnog sistema

Nvf- numerička gustina ispitivanih čestica

Na –broj preseka ispitivanih čestica sa dužima testnog sistema

Il –broj preseka kontura sa testnim dužima

γ_1 , γ_2 -koeficijenti koji ukazuju na oblik geometrijskog tela koji odgovara obliku ispitivanih čestica

N-ukupan broj preseka čestica

At –testna površina

Vvtm-volumenska gustina *tunicae mucosae*

Vvpe-volumenska gustina površnog epitela

Vvž-volumenska gustina žlezda

Vvlp-volumenska gustina *laminae propriae*

Vvlm-volumenska gustina *laminae muscularis*

Vvtsm-volumenska gustina *tunicae submucosae*

Vvtmusc-volumenska gustina *tunicae muscularis*

Vvm-volumenska gustina ćelija u mitozu

Vvmnp-volumenska gustina *Meissner*-ovog i Vvsmnp- *Auerbach*-ovog nervnog plexusa

Vvgćmp-volumenska gustina ganglijskih ćelija *Meissner*-ovog i Vvgćsmp-*Auerbach*-ovog plexusa

Vveć-volumenska gustina *PGP*-pozitivnih endokrinih ćelija

Nveć-numerička gustina *PGP*-pozitivnih endokrinih ćelija

PAS/AB- *Periodic Acid Schiff/Alcian Blue*

NIH -*National Institutes of Health*

K24-Kontrolna grupa koja je tretirana destilovanom vodom u količini od 50µl u toku 24h

K72-Kontrolna grupa koja je tretirana destilovanom vodom u količini od 50µl u toku 72h (ukupan volumen jedne aplikovane doze je 50µl)

AA25/24-Eksperimentalna grupa koja je tretirana dozom akrilamida od 25 mg/kg telesne mase u toku 24h, ukupan volumen aplikovane doze je 50µl

AA25/72-Eksperimentalna grupa koja je tretirana dozom akrilamida od 25 mg/kg telesne mase u toku 72h, ukupan volume jedne aplikovane doze je 50µl

AA50/24-Eksperimentalna grupa koja je tretirana dozom akrilamida od 50 mg/kg telesne mase u toku 24h, ukupan volumen aplikovane doze je 50 μ l

AA50/72-Eksperimentalna grupa koja je tretirana dozom akrilamida od 50 mg/kg telesne mase u toku 72h, ukupan volumen jedne aplikovane doze je 50 μ l

PGP 9.5- *Protein Gene Product*

HE- hematoksilin-eozin

br. - broj

mean - srednja vrednost

min - minimalna vrednost

max - maksimalna vrednost

SD - standardna devijacija

Broj SMGĆ- broj submukoznih gsnglijskih ćelija

Broj MienGĆ- broj mienteričnih gsnglijskih ćelija

Vel SMGĆ- veličina submukoznih gsnglijskih ćelija

Vel MGĆ- veličina mienteričnih gsnglijskih ćelija

IntMLP-intaktni mastociti u lamini propriji

IntMSM- intaktni mastociti u submukozi

DegrMLP-degranulisani mastociti u lamini propriji

DegrMSM- degranulisani mastociti u submukozi

Ly-limfociti

Gr-granulociti

GIST-gastrointestinalni trakt

CRH-kortikotropni oslobađajući hormon