



UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
DEPARTMAN ZA HEMIJU, BIOHEMIJU
I ZAŠTITU ŽIVOTNE SREDINE



Mr Dejan Prvulović

**ALUMINOSILIKATI U ISHRANI PILIĆA:
BIOHEMIJSKI PARAMETRI I
ANTITOKSIČNI EFEKTI**

- DOKTORSKA DISERTACIJA -

Novi Sad, novembar 2011.

Ovom prilikom i na ovaj način želim da se zahvalim mentoru Prof. dr Gordani Grubor-Lajšić, redovnom profesoru Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu i Prof. dr Milanu Popoviću, redovnom profesoru Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu, na dragocenom, profesionalnom usmeravanju i nesebičnoj pomoći koju su mi pružili u različitim fazama izrade ove doktorske disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem i kolegama sa Prirodno-matematičkog i Poljoprivrednog fakulta u Novom Sadu, a naročito Doc. dr Danijeli Kojić i Ani Blanuši.

Mojoj supruzi Nadi takođe jedno veliko hvala!

Ova disertacija je posvećena Sofiji i Andriji koji su uvek bili moja velika inspiracija.

PREDGOVOR

Doktorska disertacija „Aluminosilikati u ishrani pilića: biohemijski parametri i antitoksični efekti“ je urađena u laboratorijama za biohemiju Departmana za biologiju i ekologiju Prirodno-matematičkog fakulteta i Departmana za ratarstvo i povrtarstvo Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu. Deo disertacije je urađen i na oglednoj farmi Departmana za stočarstvo Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu, na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Nišu i na Institutu za higijenu i tehnologiju mesa u Beogradu.

Doktorska disertacija je proizvod višegodišnjeg rada na proučavanju uticaja preparata na bazi prirodnih aluminosilikata na različite životinjske vrste i to sa različitih aspekata, u cilju da se dobije sveobuhvatna slika o tome na koji način ovakvi preparati deluju i koje su sve mogućnosti njihove primene.

Mentoru Prof. dr Gordani Grubor-Lajšić, predsedniku komisije Prof. dr Miri Popović i članovima komisije Prof. dr Milanu Popoviću, Prof. dr Svetlani Trivić i Prof. dr Niki Miloševiću se zahvaljujem na stručnoj pomoći i profesionalnom odnosu u uobličavanju ove doktorske disertacije.

Novi Sad, novembar, 2011.

Dejan Prvulović

Lista slika

Slika 1. Umrežena struktura klinoptilolita

Slika 2. Primeri struktura različnih filosilikatnih glina

Slika 3. Kristalna struktura monmorilonita

Slika 4. Struktura parakvata

Slika 5. Strukture aflatoksina

Slika 6. Strukture ohratoksina

Slika 7. Struktura mikrocistina

Lista tabela

Tabela 1. Hemijski sastav smeše za tov pilića

Tabela 2. Hematološki pokazatelji pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

Tabela 3. Koncentracija pojedinih metabolita seruma pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

Tabela 4. Koncentracije pojedinih elektrolita seruma pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

Tabela 5. Aktivnost pojedinih enzima krvnog seruma pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

Tabela 6. Relativne mase unutrašnjih organa pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

Tabela 7. Sadržaj proteina i aktivnost glutation S-transferaze jetre pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

Tabela 8. Prirast i konverzija hrane u toku šestonedelnog uzgoja pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

Tabela 9. Hemijski sastav mišićnog tkiva grudi i bataka pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

Tabela 10. Sadržaj pojedinih parametara krvnog seruma pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 11. Aktivnost ALP, ALT, GGT i AMY jetre pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 12. Koncentracija hemoglobina, aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx, PPx i GST) i intenzitet lipidne peroksidacije u hemolizatu krvi pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 13. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx, PPx i GST) i intenzitet lipidne peroksidacije u jetri pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 14. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u bubrezima pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 15. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u pankreasu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 16. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u slezini pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 17. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u plućima pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 18. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u mozgu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 19. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u duodenumu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 20. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u srčanom mišiću pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 21. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u mišićnom tkivu grudi (belo meso) pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 22. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u mišićnom tkivu bataka (crveno meso) pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 23. Prirast i konverzija hrane u toku tronedelnog uzgoja pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 24. Relativne mase unutrasnjih organa pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 25. Relativne mase pojedinih delova trupa pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

Tabela 26. Sadržaj pojedinih parametara krvog seruma pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 27. Aktivnost ALP, ALT, GGT i AMY jetre pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata (PK) ili ohratoksina(OTA)

Tabela 27. Aktivnost ALP, ALT, GGT i AMY jetre pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata (PK) ili ohratoksina(OTA)

Tabela 28. Koncentracija hemoglobina, aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx, PPx i GST) i intenzitet lipidne peroksidacije u krvnom hemolizatu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata (PK) ili ohratoksina (OTA)

Tabela 29. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx, PPx i GST) i intenzitet lipidne peroksidacije u jetri pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 30. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u bubrezima pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 31. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u pankreasu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 32. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u slezini pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 33. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u plućima pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 34. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u mozgu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 35. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u duodenumu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 36. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u srcu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 37. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u mišićnom tkivu grudi (belom mesu) pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 38. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u mišićnom tkivu bataka (crvenom mesu) pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 39. Prirast i konverzija hrane u toku tronedelnog uzgoja pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 40. Relativne mase unutrasnjih organa pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Tabela 41. Relativne mase pojedinih delova trupa pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

Lista skraćenica

AFT – Aflatoksini

AFTB₁ - Aflatoksin B₁

ALP – Alkalna fosfataza

ALT – Alanin aminotransferaza

AMY – α -amilaza

ATN – Antitoksični nutritiv

AST – Aspartat aminotransferaza

ATN – Antitoksični nutritiv

CAT - Katalaza

CK – Kreatin kinaza

GGT – γ -glutamilttransferaza

GPx- Gvajakol peroksidaza

GSH-Px – Glutation peroksidaza

GST – Glutation S-transferaza

Hb – Hemoglobin

LDH – L-laktat dehidrogenaza

MC – Mikrocistini

MDA - Malonildialdehid

OTA – Ochratoksin A

PK – Parakvat

PPx – Pirogalol peroksidaza

SOD-1 – Superoksid dismutaza

SADRŽAJ

1.	Uvod	4
2.	Opšti deo	6
2.1.	Osnovni principi ishrane životinja	6
2.2.	Aluminosilikati	7
2.2.1.	Građa aluminosilikata	7
2.2.1.1.	Zeoliti	8
2.2.1.2.	Filosilikatne gline	11
2.2.2.	Primena aluminosilikata	12
2.3.	Pesticidi	20
2.3.1.	Parakvat	21
2.4.	Teški metali	25
2.4.1.	Olovo	26
2.5.	Mikotoksini	28
2.5.1.	Aflatoksini	31
2.5.2.	Ohratoksini	36
2.6.	Mikrocistini	38
3.	Cilj rada	42
4.	Materijal i metode	43
4.1.	Antitoksični nutritiv (ATN)	43

4.2.	Ogled 1	43
4.2.1.	Uzgoj pilića	43
4.2.2.	Hematološke i biohemijske analize krvi	44
4.2.3.	Mase unutrašnjih organa i biohemijska analiza jetre	45
4.2.4.	Hemijska analiza kvaliteta mesa	46
4.3.	Ogled 2	46
4.3.1.	Uzgoj pilića	46
4.3.2.	Biohemijska analiza krvi	49
4.3.3.	Mase unutrašnjih organa i delova trupa	49
4.3.4.	Biohemijske analize tkiva i organa pilića	50
4.4.	Ogled 3	51
4.4.1.	Uzgoj pilića i analize tkiva i organa pilića	51
4.5.	Statistička analiza	52
5.	Rezultati	53
5.1.	Ogled 1	53
5.2.	Ogled 2	57
5.3.	Ogled 3	71
6.	Diskusija	83
6.1.	Ogled 1	83
6.1.1.	Hematološki pokazatelji	83
6.1.2.	Biohemijske analize seruma pilića	84
6.1.2.1.	Analiza metabolita	84
6.1.2.2.	Analiza elektrolita	88
6.1.2.3.	Aktivnosti enzima	90

6.1.3.	Određivanje glutation S-transferaze u jetri pilića	94
6.1.4.	Mase unutrašnjih organa	96
6.1.5.	Prirast i konverzija hrane	97
6.1.6.	Hemijski sastav mesa	98
6.2.	Ogled 2	99
6.2.1.	Mikrocistini	99
6.2.2.	Olovo	105
6.2.3.	Aflatoksin	114
6.3.	Ogled 3	122
6.3.1.	Parakvat	122
6.3.2.	Ohratoksin	131
7.	Zaključak	136
8.	Literatura	139

1. UVOD

Porast broja stanovnika na planeti, uz istovremenu industrijalizaciju i degradaciju obradivih površina, doveo je do velikih promena u životnoj sredini. Kao posledica antropogenog delovanja veliki procenat obradivih površina je kontaminiran nekom vrstom zagađivača. To mogu biti različita organska i neogranska jedinjenja, poput jona različitih metala, pesticida, hlorovanih bifenola i dr. Ti kontaminanti deluju na biohemijske i fiziološke procese koji se odvijaju u biljkama dovodeći do njenog slabijeg rasta, manjeg prinosa, pa čak i uvenuća. Pojedine biljne vrste mogu da usvoje te štetne materije iz zemljišta i da je translociraju u različite organe. Na ovaj način ti štetni agensi ulaze u dalji lanac ishrane. Savremeni čovek se suočava sa problemom kako proizvesti dovoljne količine zdravstveno-bezbedne hrane koja je higijenski i toksikološki ispravna, a bez dodatnog remećenja ekosistema. Ta hrana mora i da zadovoljava osnovne nutritivne kriterijume. Da bi se povećala nutritivna vrednost hrane i/ili da bi se sprečilo delovanje potencijalno štetnih i opasnih supstanci koje su prisutne u hrani biljnog porekla, u hranu i hraniva se dodaju različiti aditivi. Mnogobrojni aditivi koji su danas u upotrebi su sintetičkog porekla i predstavljaju sami po sebi zagađivače životne sredine, a mogu ostaviti i nepoželjne rezidue u tkivu životinja.

Preparati na bazi prirodnih i sintetičkih aluminosilikata (zeoliti i gline) su, zbog svojih fizičkih i hemijskih karakteristika, u dosta širokoj upotrebi kao dodaci hranivima za životinje. Aluminosilikati poseduju veliku moć adsorpcije prema

određenim molekulima, imaju jonoizmenjivačke osobine, a deluju i kao "molekulska sita".

Cilj ovog rada je bio da se ispita bezbednost primene antitoksičnog nutritiva (ATN), preparata na bazi prirodnih aluminosilikata, u ishrani pilića i njegov uticaj na zdravstveno stanje i performanse. Drugi cilj je bio da se ustanovi zaštitna uloga ATN-a od različitih toksina u *in vivo* uslovima. Ispitivanja su obuhvatala hematološke analize, biohemijske analize krvi i mnogih unutrašnjih organa, parametre prirasta, kao i tehnološke karakteristike mesa.

2. OPŠTI DEO

2.1. Osnovni principi ishrane životinja

Pravilna ishrana životinja je jedan od najbitnijih preduslova za pravilan rast, razvoj i zdravstveno stanje životinja i mora biti prilagođena životinjskoj vrsti i trenutnim metaboličkim potrebama. Zbog toga ishrana treba životinji da obezbedi sve neophodne hranjive materije shodno njenom fiziološkom stanju, što u najvećoj meri zavisi od kategorije, starosti životinje i faze životnog ciklusa. Adekvatnom ishranom se poboljšava zdravlje životinja, povećava konzumiranje i efikasnost korišćenja hrane, menjaju se određeni fiziološki procesi u organizmu životinja i tako stimuliše njihov rast i poboljšava kvalitet dobijenih proizvoda.

Potrebe za proteinima i energijom su najveće, ali deficit samo jednog vitamina ili minerala u obroku izaziva specifične poremećaje i tako dolazi do pogoršanja opšteg stanja životinje i smanjene proizvodnje. U obrocima namenjenim životinjama je neophodno obezbediti preko 30 različitih hranjivih supstanci u odgovarajućoj količini i odnosu. Da bi se postigao optimum u hraniva se često dodaju različiti dodaci-premiksi ili aditivi. Najčešće se dodaju vitamini, minerali, esencijalne aminokiseline, masne kiseline, različiti pro- i prebiotici (Kovčín, 1993; National Research Council, 1994). Različiti aluminosilikati su našli svoju široku primenu u ishrani životinja.

2.2. Aluminosilikati

2.2.1. Građa aluminosilikata

Aluminosilikati (ili aluminosilikati) su supstance koje u svom sastavu obavezno sadrže aluminijum u obliku Al_2O_3 i silicijum u obliku SiO_2 . U prirodi postoji veliki broj minerala koji bi se, prema ovom kriterijumu, mogli svrstati u aluminosilikate. Oko 97% zemljine kore je izgrađeno od silicijum (IV) oksida, silikata i aluminosilikata. Osnova svega su metasilicijumska kiselina H_2SiO_3 i ortosilicijumska kiselina H_4SiO_4 iz kojih daljom polimerizacijom nastaju polisilicijumske kiseline. Aluminijum je sa silicijumom u silikatima tesno vezan i gradi aluminosilicijumske kiseline, odnosno njene soli-aluminosilikate. Opšta formula aluminosilikata po Vernadskom je:



Minerali slobodne silicijumske kiseline, odnosno SiO_2 , u prirodi grade silikate koji mogu na različite načine kristalisati. Aluminijum u aluminosilikatima se može zameniti atomima drugih elementa, poput hroma, gvožđa ili bora, pa stoga, analogno aluminosilikatima, nastaju hromsilikati, ferisilikati ili borsilikati. (Ilić i Milovanović, 1950).

Pored aluminosilikata koji se javljaju u prirodi oni takođe mogu biti i laboratorijski i industrijski sintetisani. Polazne sirovine za sintezu mogu biti veoma raznovrsne (Barrer, 1985).

Najtipičniji, a istovremeno i najzastupljeniji u prirodi, predstavnici aluminosilikata su zeoliti i gline. Pored toga što su najvećim delom izgrađeni od aluminijuma i silicijuma, i zeoliti i gline mogu da sadrže i primese drugih metala, naročito alkalnih i zemnoalkalnih metala, kao i veću količinu vode (Taylor, 1999).

2.2.1.1. Zeoliti

Zeoliti su kristalni, hidratizirani aluminosilikati alkalnih i zemnoalkalnih katjona i poseduju beskrajnu trodimenzionalnu kristalnu strukturu. Imaju sposobnost da reverzibilno primaju i otpuštaju vodu i da izmenjuju neke od katjona bez većih promena u svojoj strukturi. Većina zeolita u vulkanogenim sedimentnim stenama su nastali rastvaranjem vulkanskog pepela i njegovom kasnijom precipitacijom u vidu mikrometarskih kristala koji imitiraju oblik i morfologiju njihovih bazaltnih srodnika. Sedimentne zeolitske naslage su generalno meke, male težine i najčešće sadrže 50-95% zeolita jedne vrste. Ipak, nekoliko zeolita mogu koegzistirati zajedno sa nereaktivnim vulkanskim staklom, kvarcom, K-feldsparom, monmorilonitom, kalcitom, gipsom i kristobalitom/tridimitom (Flanigen, 1984).

Zeoliti su kristalni, hidratizirani aluminosilikati alkalnih i zemnoalkalnih katjona, koja sadrži trodimenzionalnu mrežu od SiO_4^{4-} i AlO_4^{5-} tetraedara povezanih preko zajedničkih atoma kiseonika (Papaioannou i sar. 2005). Ipak, u građi zeolita neki katjoni četvorovalentnog silicijuma bivaju zamenjeni katjonima trovalentnog aluminijuma što dovodi do deficita u pozitivnom neto naboju u mrži. To se balansira uvođenjem u strukturi jedno- i dvovalentnih katjona poput Na^+ , K^+ , Ca^{2+} i Mg^{2+} . Empirijska formula zeolitnih materija u tom slučaju iznosi:

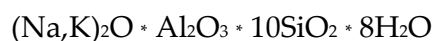
$\text{M}_{2/n}\text{O} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot x\text{SiO}_2 \cdot y\text{H}_2\text{O}$ M - katjon alkalnog ili zemnoalkalnog metala

n – valenca tog katjona

x – broj 2-10

y – broj 2-8

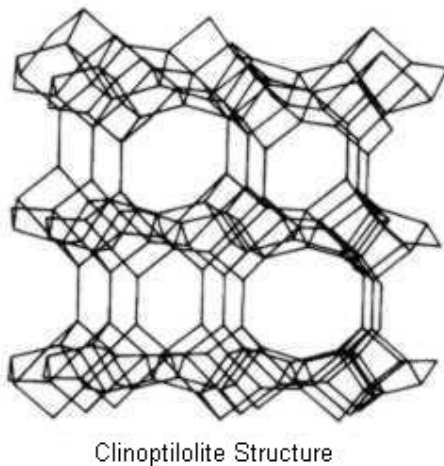
Empirijska formula klinoptilolita bi u tom slučaju iznosila:



odnosno zbirno:



Joni unutar prve zagrade se nazivaju izmenjivi katjoni. Oni unutar druge su strukturni katjoni jer zajedno sa kiseonikom grade tetraedarsku strukturnu mrežu. Treba napomenuti da je odnos $(\text{Al} + \text{Si}) : \text{O}$ uvek 1 : 2. Nije poznato da bilo koji zeolit sadrži više atoma aluminijuma od silicijuma tako da je molski odnos $\text{SiO}_2 : \text{Al}_2\text{O}_3$ uvek isti ili veći od 2 : 1.



Slika 1. Umrežena struktura klinoptilolita

Katjoni se slobodno zamenjuju jedni drugima u izmenjivim katjonskim mestima u zeolitima i jedina restrikcija tim zamenama je ukupan naboj molekula. U praksi se u izmenjivačkim mestima prirodnih zeolita retko sreću tro- i četvorovalentni katjoni iako je moguće sintetički pripremiti takve proizvode koji bi sadržavali značajnu količinu takvih jona. Labavo vezani molekuli vode koji okružuju izmenjive katjone u šupljinama velikih pora sreću se u strukturi svih zeolita bez obzira da li je u pitanju prirodni proizvod ili veštački sintetisan. Voda čini 10% mase jedinjenja i može biti reverzibilno uklonjena zagrevanjem do 350°C. Kada se zagrevanjem hidratna voda ukloni izmenjivi katjoni se vraćaju približno na svoja mesta u unutrašnjosti kanala i pora blizu mesta suprotnog naboja u

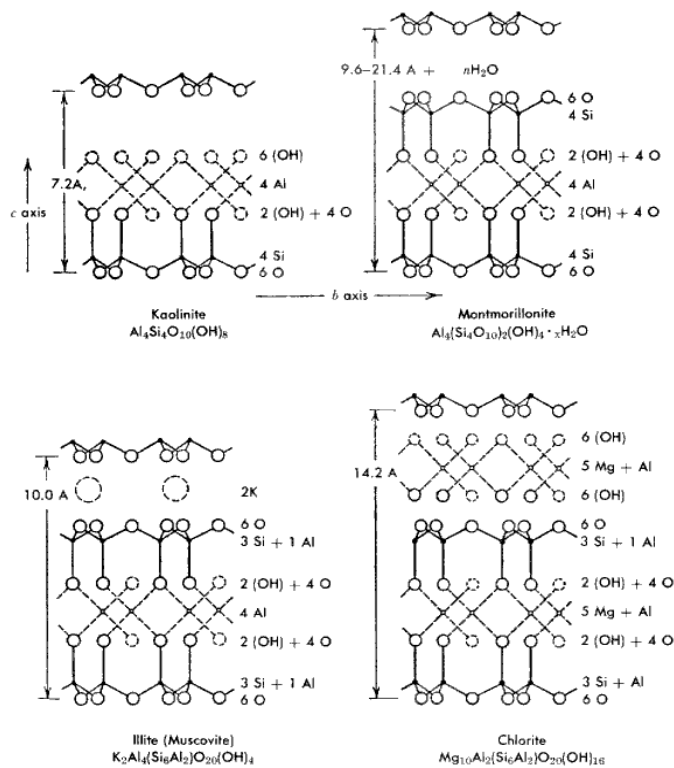
strukturi tetraedra. Na svim temperaturama sadržaj vode u zeolitima je u korelaciji sa parcijalnim pritiskom vodene pare u okolnoj atmosferi. Nasuprot trodimenzionalnoj strukturi feldspara i kvarca koja je dosta gusto “upakovana” i zbijena ($d=2,6-2,7 \text{ g/cm}^3$), struktura zeolita je znatno poroznija i rastresitija ($d=2,1-2,2 \text{ g/cm}^3$). Svaki tip zeolita ima svoju sopstvenu specifičnu kristalnu strukturu i samim tim karakteristične fizičke i hemijske osobine (Mumpton, 1984b, 1999).

Intrakristalne šupljine mogu činiti 20-50% ukupne zapremine kristala mnogih zeolita. Šupljine sintetičkih zeolita A, X i Y čine blizu 50% zapremine, kod habazita i erionita je to oko 30%, a kod klinoptilolita, mordenita i ferierita 20%. Diametri pora se kreću od 3 do $10 \times 10^{-10} \text{ m}$. Mesta svih adsorptivnih, katalitičkih i jonoizmenjivačkih reakcija i kod sintetičkih i kod prirodnih zeolita su unutar kristalne strukture. Celokupna unutrašnja struktura ove mreže je izrazito hidrofilna i pokazuje velik afinitet prema molekulima vode.

Strukture zeolita sadrže nekoliko tipova gradivnih jedinica. Najjednostavnija je primarna gradivna jedinica: tetraedar (TO_4) u kojem četiri jona kiseonika okružuju centralni jon (T) Si^{4+} ili Al^{3+} . Primarne gradivne jedinice su trodimenzionalno povezane sa susednim tetraedrima preko kiseoničnih jona koji su im zajednički $(\text{TO}_4)_n$. U strukturi zeolita postoji i sekundarna gradivna jedinica koja se sastoji od jednostrukih ili dvostrukih prstenova sa 4, 6 ili 8 stranica. Zeoliti sadrže i veće simetrične poliedre poput oktaedra, 11-edra ili 14-edra. Svi zeoliti se mogu posmatrati kao umrežena struktura sekundarnih gradivnih jedinica i poliedara u prostoru (Flanigen, 1984). Izmena jona natrijuma u NaX zeolitu dvovalentnim katjonima poput jona Co, Ni, Zn ili Cd, značajno menja adsorpcione karakteristike NaX zeolita. (Hercigonja i sar. 2005.)

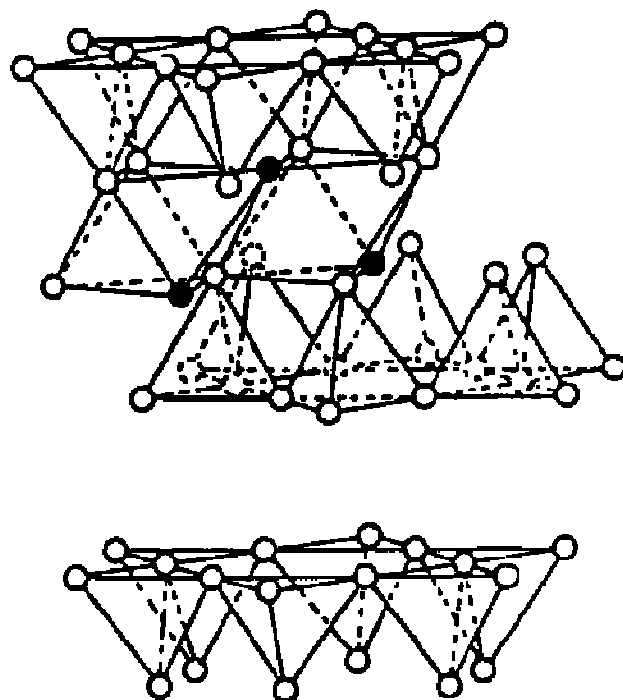
2.2.1.2. Filosilikatne gline

Filosilikatne gline su izgrađene od slojevitih (laminarnih) ili lančastih silikata u kojima se naizmenično smenjuju dvovalentni ili trovalentni katjoni, poput aluminijuma, koji su oktaedarski koordinisani sa atomima kiseonika ili hidroksilnim grupama i silicijum koji je tetraedarski koordinisan sa atomima kiseonika ili hidroksilnim grupama. Kondenzacija slojeva u odnosu 1:1 daje dimorfne filosilikatne gline sa opštom formulom $M_{2-3}Si_2O_5(OH)_4$. Trimorfni filosilikati su kondenzovani u odnosu 2:1 sa oktaedarski koordinisanim aluminijumom između dva sloja tetraedarski koordinisanih atoma silicijuma opšte formule $M_{2-3}Si_4O_{10}(OH)_2$. Lančasti filosilikati su izgrađeni od trimornih slojeva grupisanih u lance ili grupe koji su međusobno povezani jonima kiseonika.



Slika 2. Primeri struktura različitih filosilikatnih glina

Pored morfo-strukturnih karakteristika te gline mogu biti podeljene i na osnovu drugih važnih funkcionalnih osobina kao što je pH, gustina površinskih slojeva, sposobnost bubrenja, dominantni izmenjivi katjoni, jonoizmenjivački kapacitet, dimenzija i zapremina pora, vezani ligandi i sl. (Phillips i sar. 1991).



Slika 3. Kristalna struktura monmorilonita

2.2.2. Primena aluminosilikata

Prirodni zeoliti su u upotrebi zbog jedne ili više njihovih osobina:

- jonoizmenjivačke osobine,
- sposobnost adsorpcije i prosejavanja molekula,
- katalizatorske osobine,
- dehidratacija i rehidratacija i
- biološka reaktivnost.

Na bazi ovih osobina iskustvom se doslo do pojave geofagije, konzumiranje zemlje. Geofagija među ljudima i životinjama je odavno poznat fenomen, sa pozitivnim i negativnim efektima. Pojedini tipovi zemljišta mogu menjati pH sredinu digestivnog trakta. Unosom manjih količina pojedinih zemljišta se može uneti dovoljna količina minerala koji su neophodni organizmu, ali isto izazvati i

disbalans. Preteranom konzumacijom može doći do trovanja, naročito ako su u zemljištu prisutni joni teških metala. Na taj način se u organizam mogu uneti i larve pojedinih parazita. Kod ljudi koji su se otrovali usled preterane konzumacije zemlje se uočavaju karakteristične promene i naslage na samim crevima (Abrahams 2001).

Uticaj zeolita na performanse životinja zavisi od vrste zeolita, stepena čistoće, fizikohemijskih osobina, kao i od količine dodate hranivu. Pored toga i veličina granula zeolita, veličina kristala, stepen agregacije, kao i poroznost svake pojedinačne granule određuje u kojoj meri će tečnosti gastrointestinalnog trakta imati pristup površini zeolita tokom njegovog prolaska kroz digestivni trakt, što itekako utiče na jonoizmenjivačke, adsorpcione i katalitičke osobine samog zeolita.

Prirodni zeoliti utiču na učestalost pojave dijareje, kao i na njen intenzitet i dužinu trajanja. Tačan mehanizam još uvek nije sasvim poznat iako postoji dovoljno dokaza na osnovu kojih se može zaključiti da se upotrebom zeolita mogu eliminisati različiti faktori koji su povezani sa poremećajima rada creva. Zeoliti imaju usporavajući efekat na brzinu prolaska hranjivih materija kroz crevo a sposobnost da apsorbuju vodu, vodi do znatno suvljeg i kompaktnijeg fecesa. Smatra se da je značajno i to što zeoliti utiču na metaboličku acidozu i osmotski pritisak u lumenu digestivnog trakta. Pojedini autori smatraju da čestice zeolita u digestivnom traktu mogu da vežu i inaktiviraju bakteriju *Esherichia coli* iako to još nije sasvim naučno potvrđeno. Pojedini autori smatraju da je osnova povoljnog delovanja klinoptilolita u sposobnosti zeolita da vezuje za sebe ili žučne kiseline (koje su često endogeni uzročnik dijareje), ili aflatoksine ili možda glukozu čija visoka koncentracija u intestinalnoj tečnosti može biti značajan iritirajući faktor. Dodatak zeolita u hranivo krava značajno umanjuje pojavu mlečne groznice i ketoze kod krava (Papaioannou i sar., 2005). I u humanoj medicini se zeoliti

koriste kao sredstvo protiv diareje, spoljni tretman povreda, a pokazali su i povoljne efekte kod različitih bolesti, uključujući i tumore (Martin-Kleiner i sar., 2001). Klinoptilolit u velikoj meri smanjuje broj nematoda u digestivnom traktu jaganjaca i može biti iskorišten da se spreči prekomerna upotreba antihelmintika kod životinja (Deligiannis i sar., 2005). Kod teladi koja su napajana kolostrumom visokog kvaliteta, u koji je dodat mineralni adsorbent na bazi klinoptilolita, dolazi do maksimalne adsorpcije kolostralnih imunoglobulina (Fratric i sar., 2007). Ako se klinoptilolit doda hranivu u većoj količini može da dovede do smanjenja broja jedinki različitih parazita, prvenstveno nematoda, u lumenu crevnog trakta i na taj način spreči prekomerna upotreba antihelmintika (Papaioannou i sar., 2005).

Prirodni zeoliti se koriste kao efikasno sredstvo za prečišćavanje otpadnih voda (Vujaković i sar., 2003). Imaju značajnu ulogu i u akvakulturi: iz ribnjaka i akvarijuma uklanjaju amonijak koji nastaje ili razgradnjom ekskreta životinja ili od neiskorištenog hraniva, a istovremeno vrši i aeraciju samog sistema. Mnogo su efikasniji u slatkim nego u slanim vodama. Uočeno je da se dodatkom zeolita u vodu povećava i produkcija biomase do 10% bez ikakvih negativnih efekata po ribe (Mumpton, 1984, 1999). Amonijačni joni predstavljaju 40-60% ukupnog azota u svežem stajnjaku. U toku nekoliko sati azot može biti preveden u oblik slobodnog amonijaka i kao takav ispariti i biti izgubljen (Dwairi 1998). U stajama amonijak je rizičan po zdravlje životinja i ljudi jer dugotrajno izlaganje amonijaku, kombinovanom sa prašinom, može izazvati ozbiljna oštećenja pluća. Pored toga, visoka koncentracija amonijaka u prostorijama može smanjiti i prirast životinja (Portejoie i sar., 2003). Klinoptilolit i filipsit efikasno hvataju amonijum jone u prostirci i na taj način smanjuju emisiju amonijaka u atmosferu. Čak i ako se zeoliti daju u vidu aditiva hranivu mogu da dovedu do smanjenja koncentracije amonijaka u vazduhu štala, uklone neprijatne mirise i polutante, stvarajući zdraviju životnu sredinu za životinje i kontrolišući viskoznost i zadržavanje

nutrijenata u samoj prostirci (Dwairi, 1998; Portejoie i sar., 2003; Papaioannou i sar., 2005).

Zeoliti, a pre svega klinoptilolit, poseduju veliku moć adsorpcije amonijum jona koji nastaje razlaganjem neproteinskih azotnih jedinjenja (ureja, biuret ili amonijum-karbonat) u digestivnom traktu preživara, svinja i pacova. Na taj način se sprečava negativno delovanje viška amonijaka kod životinja. To sve može biti praćeno povećanim izbacivanjem azota iz organizma putem fecesa i smanjenom koncentracijom ureje u serumu, što za posledicu ima bolji rast i razviće životinja (Pond i Lee 1984, Mumpton 1999, Papaioannou i sar. 2005). Dobitak na masi se objašnjava time da zeolit služi kao rezervoar amonijaka omogućavajući životinji da uneti azot iskoristi mnogo efikasnije. Zeolit sa amonijakom bi mogao poslužiti kao supstrat za rast i razviće azotofiksirajućih bakterija koje pozitivno utiču na zdravlje životinja ili jednostavno regulišu pH u crevnom sistemu što rezultira ređom pojavom stomačnih problema i njihovim manjim obimom (Mumpton 1999).

Primenom prirodnih ili izmenjenih zeolita kao nosača aktivnih supstanci (lekova i pesticida) se produžava njihov rok trajanja. Davanjem različitih antihelmintika nanetih na zeolit kao nosač svinjama i pacovima uočeno je duže delovanje aktivnih supstanci i njihova veća efektivnost. Često je potrebno primeniti samo polovinu doze koja se koristi da bi se postigao optimalni efekat. Lekovi ostaju nepromenjeni i aktivni i nakon četiri meseca skladištenja (Mumpton, 1984; Dyer i sar., 2000; Kelly i sar., 2004; Cerri i sar., 2004; Papaioannou i sar., 2005). Klinoptilolit se pokazao kao vrlo pogodan nosač i punioc za pojedina mineralna đubriva, poput NPK, jer sporo oslobađa u zemljište mineralne materije (Čuvanová i sar., 2006).

Bentonit i klinoptilolit u smeši su se pokazali uspešnim u uklanjanju teških metala, posebno olova, arsena, bakra i cinka, a delimično i hroma i nikla iz

otpadnih voda koje bi mogle kontaminirati poljoprivredno zemljište. Efikasnost im je naročito bila izražena na početku primene dok kasnije dolazi do efekta zasićenja i potrebna je njihova regeneracija (Kayabali i Kezer, 1998). Aluminosilikati su se pokazali i vrlo uspešni u zaštiti životinja od trovanja jonima teških metala, prevenstveno jona olova i kadmijuma (Papaioannou i sar., 2005; El-Kady i sar., 2009). Dodatkom klinoptilolita u hraniva sa visokom koncentracijom olova u odnosu 10:1 klinoptilolit:Pb obezbeđuje delimičnu zaštitu od toksičnosti olova kod svinja i pacova u razvoju. Habazit nije korišćen u *in vivo* testovima ali se pretpostavlja da bi se i on mogao primenjivati jer ima veći afinitet prema olovu nego prema drugim katjonima vodenih rastvora ($Pb^{2+} > Na^{+} > Ca^{2+} > Mg^{2+}$) (Pond, 1995). Kadmijum i gvožđe interferiraju u digestivnom traktu što dovodi do pojave anemije usled nedostatka gvožđa koja se manifestuje smanjenim nivoom hemoglobina u krvi kao i smanjenom ukupnom zapreminom ćelijskih elemenata krvi. Povećava se nivo kadmijuma u jetri uz istovremeno smanjenje nivoa cinka u jetri i cinka i bakra u bubrezima. Dodatkom klinoptilolita u hranivo se sprečava anemija i povećan nivoa kadmijuma u jetri, ali optimalna količina dodatog klinoptilolita još uvek nije utvrđena. I sintetički zeolit NaA se pokazao efikasnim sredstvom protiv anemije izazvane kadmijum mada je nivo kadmijuma u jetri ostao isti. Zeolit NaA povećava biodostupnost cinka bez obzira na prisustvo kadmijuma u hranivu i na taj način štiti organizam od njegovog deficita (Pond i Lee, 1984, Pond i Yen 1984, Pond 1995).

Filosilikati tj. gline pokazuju zadovoljavajuće rezultate u vezivanju jona bakra u *in vivo* uslovima, i na taj način štite životinje od trovanja jonima ovog metala, što nije utvrđeno kod klinoptilolita i drugih zeolita (Papaioannou i sar., 2005). Odnos između klinoptilolita i visokih koncentracija bakra je vrlo kompleksan. Očekivalo bi se da će klinoptilolit u lumenu intestinuma ovaca, koje

su kao vrsta posebno osetljive na povišene koncentracije bakra u hranivu, vezati za sebeuneti bakar i smanjiti njegovu toksičnost. Ipak, dodatkom 2% klinoptilolita u hranivo sa 20 ppm bakra dovelo je do povećane smrtnosti među jaganjcima. Usled vezivanja amonijaka za klinoptilolit u lumenu intestinuma dolazi do povećane aktivnosti ureaze. Povećana toksičnost bakra kod ovaca može biti posledica pomeranja relativnog jonoizmenjivačkog kapaciteta za amonijak i bakar ili neke druge još kompleksnije interakcije koja za posledicu ima povećanu apsorpciju bakra u intestinumu. Zato je potrebno odrediti tačnu količinu dodatog klinoptilolita da bi se to sprečilo (Pond, 1995).

Klinoptilolit pokazuje veliku adsorptivnu moć prema jonima cinka u vodenim sistemima (Markovska i sar., 2006). Pored toga što vezuju teške metale zeoliti takođe mogu da adsorbuju i radioaktivne elemente u *in vitro* i u *in vivo* uslovima. Do jonske izmene radionuklida na zeolitu dolazi unutar digestivnog trakta pa se oni izbacuju iz organizma putem fecesa. Na taj način se sprečava njihovo usvajanje u organizam. Pozitivne rezultate su dali klinoptilolit, habazit i mordenit i to za vrlo različite radionuklide poput ^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{60}Co , ^{45}Ca i ^{51}Cr (Chelishchev, 1995; Papaioannou i sar., 2005). Iako poseduju izvesnu adsorptivnu moć prema jonima urana prirodni zeoliti su mnogo efikasniji u adsorpciji ovih jona ako se površinski izmene i prevedu u organozeolite (Matijašević i sar., 2006). Klinoptilolit pokazuje visok stepen zaštite fazana od radiokontaminanata. To se prvenstveno odnosi u slučaju istovremene aplikacije klinoptilolita sa radiokontaminantom ^{137}Cs i to oralnim putem (preko 80% efikasonosti). Vrlo je bitno da se radioprotektor nađe istovremeno sa radioaktivnim kontaminantom kako bi njegova efikasnost bila najizraženija, a efekat zaštite najveći (Vićentijević i sar., 2006).

Dodatak zeolita u hranivo značajno, umanjuje pojavu rahitičnih promena i sprečava tibijalnu dishondroplaziju, a analizom je utvrđen povećan sadržaj

pepela u kostima (Pond, 1995; Leach i sar., 1990; Papaioannou i sar., 2005). Međutim, efekat zeolita je pre svega uslovljen sadržajem jona kalcijuma i fosfata u hranivu kao i njihovim međusobnim odnosom (Papaioannou i sar., 2005). Dodatak sintetičkog zeolita NaA u hraniva koka nosilja pozitivno utiče na debljinu ljuske jajeta, a samim tim se smanjuju i ekonomski gubici zbog loma. Ovaj efekat se postiže zahvaljujući visokom jonoizmenjivačkom kapacitetu zeolita za katjon kalcijuma što dovodi do njegovog boljeg usvajanja i iskorištavanja (Pond, 1995; Leach i sar., 1990). Ipak, pojedini autori nisu zabeležili takve pozitivne efekte zeolita. Na-zeolit A nije uticao na učestalost pojave niti na intenzitet tibijalne dishondroplazije kod pilića (Yalcin i sar., 1995.), a Öztürk i sar. (1998) u svom radu su zaključili da prirodni klinoptilolit dodat u hranivo koka nosilja nema nikakvog uticaja na broj ili kvalitet jaja. Jedini efekat koji je klinoptilolit pokazao je smanjenje sadržaja vode u fecesu. Kod krava hranjenih kukuruznom silažom sa dodatim klinoptilolitom uočen je povećan sadržaj mlečne masti, proteina i kalcijuma u mleku (Pond, 1995).

Klinoptilolit unet oralno može da zaštiti životinje od trovanja organofosfatnim jedinjenjima. Klinoptilolit sprečava inhibiciju holinesteraze pod dejstvom organofosfata, a isto tako štiti i mikrofloru rumena (Papaioannou i sar., 2005). Dodatak 5% prirodnog zeolita u hraniva bogata lišćem drvenastih biljaka povećava digestibilnost samog hraniva i bolje iskorištavanje hranjivih materija iz nje. Najveća prednost je bolje iskorištavanje azotnih supstanci (Ly i sar., 2007). Bentonit je u *in vitro* uslovima uklonio iz sistema toksičnu materiju biljke locoweed, međutim, izostao je *in vivo* efekat na jaganjcima. Bentonit nije pružio nikakvu zaštitu životinjama od alkaloida koji ova biljka sintetiše (Pulsipher i sar., 1994).

Urađeno je mnoštvo ogleda da se ispita mogućnost inaktivacije mikotoksina u samom digestivnom traktu životinja i aluminosilikati (gline i zeoliti) su se

pokazali posebno podesnim za to jer su sposobni da adsorbuju pojedine mikotoksine *in vivo*. Najbolje rezultate su ipak pokazali za aflatoksine (Huff i sar., 1992; Ibrahim i sar., 2000; Pimpukdee i sar., 2004; Juan-juan i sar. 2010; Hassan i sar., 2010). U *in vitro* studijama hidratirani natrijum-kalcijum aluminosilikat (glina) uspešno adsorbuje aflatoksin B₁. Na pH 3 je adsorbovao 100% ovog mikotoksina i to u svim primenjenim koncentracijama. Isti rezultati su postignuti i pri drugim pH vrednostima (pH 5,7 i 9) (Ledoux i sar., 1999). I različite izmenjene forme (sa jonima kalcijuma, bakra, cinka i nikla) klinoptilolita i monmorilonita su visoko efikasni u vezivanju aflatoksina B₁ *in vitro*. Hemisorpcijski indeksi su bili veoma visoki za oba aluminosilikata, iako je klinoptilolit pokazao veću adsorptivnu moć od monmorilonita (Tomašević-Čanović i sar. 2001).

Postavlja se pitanje da li će dodatak zeolita u hranu proizvesti neki negativni efekat na pojedine medikamente ako se primenjuju simultano. Nespecifične adsorpcione osobine i jonoizmenjivački kapacitet zeolita mogu biti potencijalno rizični za primenu lekova. Čak i ako je veličina pora zeolita znatno manja od veličine molekula leka to ne znači da ne može doći do interakcije između aktivne supstance i spoljne površine čestice zeolita. Nekoliko studija je pokazalo da zeoliti delimično adsorbuju medikamente i na taj način umanjuju njihov efekat (Nešić i sar., 2003). Međutim, stepen adsorpcije zavisi kako od vrste i stepena čistoće primenjenog zeolita tako i od temperature i pH vrednosti sredine tokom digestije. . U nekim drugim eksperimentima je dokazano da nikakva interakcija između zeolita ne postoji (Papaioannou i sar. 2005). U naučnoj i stručnoj javnosti se vodi rasprava i da li u lumenu digestivnog trakta aluminosilikati vezuju za sebe vitamine i neke druge korisne supstance. Kod krava koje su u dužem vremenskom periodu dobijale klinoptilolit putem hrane i to čak u količini do 2,5% nije primećen nikakav disbalans u koncentraciji liposolubilnih vitamina seruma. Koncentracije β-karotena, vitamina A i E su sve vreme bile u granicama referentnih vrednosti i

približne vrednostima dobijenih kod krava kontrolne grupe (Katsoulos i sar., 2005).

2.3. Pesticidi

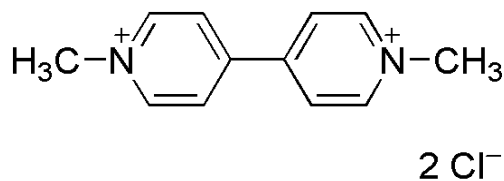
Naglo povećanje svetske populacije je povezano sa problemima nedostatka hrane. Prema izveštaju FAO UN 40% svetske populacije ne dobija dovoljne količine hrane, dok 20 miliona ljudi umire godišnje zbog gladi. Rešenje za ovaj problem je da se obezbedi veći prinos boljeg kvaliteta sa svake poljoprivredne površine uz upotrebu savremene poljoprivredne tehnike.

Pesticidi su jedan od najčešće korišćenih metoda da bi se obezbedio veći prinos i bolji kvalitet (Dere i Polat 2001). U pesticide se ubraja veliki broj hemikalija koje se koriste kao insekticidi, fungicidi, herbicidi i rodenticidi (Eddleston i Bateman 2007).

Najčešći vid trovanja domaćih životinja u Evropi je upravo pesticidima. U Francuskoj je 2003. godine od svih zabeleženih trovanja stoke 33% otpadalo na trovanje pesticidima. Veliki broj trovanja je zabeležen i u Grčkoj i u Španiji. Pesticidima su bili izloženi kako preživari tako i živina. Često se dešava da se biljke koje su tretirane fungicidima ili drugim pesticidima daju životinjama kao hranivo i na taj način se životinja izloži dejstvu ovih supstanci (Guitart i sar. 2010). Pesticidi su isto tako opasni i po zdravlje i živote ljudi, naročito onih koji rukuju sa njima. Na sreću, većina pesticida je relativno neškodljiva u malim količinama.. Ipak, svake godine u svetu umire oko 300.000 ljudi zbog trovanja ovim hemikalijama (Eddleston i Bateman 2007).

2.3.1. Parakvat

Parakvat (PK) je kvaternarni azotni herbicid koji se primenjuje za suzbijanje širokolisnih korova. Po svojoj hemijskoj strukturi PK je 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilijum dihlorid (Huh i sar. 2006).



Slika 4. Struktura parakvata

On je neselektivno jedinjenje koje brzo deluje i oštećuje tkiva zelenih biljaka dvojako: kontaktnim putem i translokacijom unutar same biljke (Soar i sar. 2003). PK ispoljava svoje herbicidno dejstvo tako što dovodi do poremećaja u elektron-transportnom lancu biljaka i inhibira redukciju NADP u NADPH tokom fotosinteze. Posledica ovog poremećaja je formiranje superoksid anjona, singlet kiseonika, kao i hidrosil- i peroksil-radikala (Turcsányi i sar. 1998, Dere i sar. 2001). Ove reaktivne kiseonične čestice reaguju sa nezasićenim membranskim lipidima dovodeći do destrukcije biljnih organela što rezultira ćelijskom smrti (Bus i sar. 1976).

Parakvat poseduje velik afinitet prema česticama zemljišta i organskoj materiji, što mu daje prednost pri njegovoj herbicidnoj primeni, jer se na taj način limitira njegova biodostupnost za biljke i mikroorganizme. PK nije mnogo mobilan u većini zemljišta, i deo koji se ne veže za čestice zemljišta brzo biva razložen do netoksičnih proizvoda od strane zemljišnih mikroorganizama. Pored mikroorganizama, na razgradnju PK utiče i sunčeva svetlost i UV zračenje. Zbog tih svojih osobina PK ne dovodi do zagađenja podzemnih voda (Suntres 2002).

Parakvat se pokazao kao izuzetno toksično jedinjenje za čoveka i životinje i mnogi slučajevi trovanja sa smrtnim ishodom su zabeleženi u poslednjih nekoliko

decenija. Najčešći put izlaganja čoveka ili životinje PK je njegov unos oralnim putem ili preko kože. PK izaziva osećaj pečenja u ustima i grlu, praćeno iritacijom gastrointestinalnog trakta, što dovodi do bolova u stomaku, gubitka apetita, povraćanja i dijareje (Suntres 2002, Eddleston i Bateman 2007). Direktni kontakt sa rastvorom PK ili aerosolom može izazvati opekotine na koži ili dermatitis (Dere i sar. 2001). Prskanje PK u oči dovodi do iritacije, opekotina i izaziva oštećenje rožnjače i ostavlja ožiljke na očima. Udisanjem aerosola PK je povezano sa fatalnim bolestima pluća.

Parakvat se i dalje često koristi u borbi protiv korova. Ipak, veliki broj smrtnih slučajeva, nakon slučajnog ili namernog unosa PK, je zabeležen u poslednjih nekoliko decenija (Huh i sar. 2006). Najveći broj slučajeva je zabeležen na azijskom kontinentu i to u Indiji (Sandhu i sar. 2003, Agarwal i sar. 2006), Južnoj Koreji (Hong i sar. 2000, Huh i sar. 2006), Tajvanu (Sun i sar. 2006) i Tajlandu (Chomchai i Tiawilai 2007). Japanska vlada je još 1986. godine zabranila upotrebu PK jer je, do tada u ovoj zemlji, svake godine umiralo 500-1200 ljudi zbog posledica trovanja ovim herbicidom, (Dere i Polat 2001).

Nezavisno od načina unosa, PK se brzo distribuira do većine tkiva kod kičmenjaka, a najveća koncentracija je pronađena u plućima i bubrezima. Akumulacija PK u plućima teče sporo preko jednog energetski zavisnog procesa. Ekskrecija PK u njegovom neizmenjenom obliku je dvofazna i zavisi od akumulacije u plućima. Najveći deo se izlučuje preko urina i u manjoj meri, putem žuči. Biotransformacija PK je vrlo slaba kod svih ispitivanih vrsta i ovo jedinjenje se u najvećoj meri izlučuje neizmenjeno (Suntres 2002).

Glavna oštećenja kod kičmenjaka prouzrokovana PK se javljaju na plućima gde se PK i akumulira. Oštećenja pluća izazvana PK se morfološki karakteriše jednom ranom destruktivnom fazom u toku koje se alveolarne epitelijalne ćelije tip I i tip II oštećuju i jednom sekundarnom proliferativnom fazom koja se karakteriše

zapaljenjem alveola, plućnim edemom, infiltracijom inflamatornih ćelija, hemoragijom, proliferacijom fibroblasta i povećanom sintezom kolagena (Mohammadi-Karakani i sar. 2006).

Pokazalo se da unos PK oštećuje pored pluća i druge organske sisteme, ali u nešto manjoj meri. Patološke promene su uočene i na jetri, bubrezima i srcu pri unosu velikih doza, ali je smrt najčešće posledica respiratorne insuficijencije. PK može prouzrokovati Fankoni (?) sindrom kod ljudi i dovesti do veoma izražene hipofosfatemije (Gil i sar. 2005).

Tokom poslednjih nekoliko decenija istraživanja toksičnosti PK su ukazala na nekoliko ključnih tačaka:

- generisanje superoksid anjona koji dovodi do formiranja još toksičnijih reaktivnih kiseoničnih čestica, poput vodonik peroksida i hidroksil-radikala. Značaj oksidativnog stresa kao mehanizma toksičnosti PK je dokazana u brojnim ogledima na biljkama, bakterijama, životinjama i različitim *in vitro* sistemima. Pojedini sojevi bakterije i neki drugi biološki sistemi koji imaju povišenu koncentraciju SOD-1, enzima koji je odgovoran za uklanjanje superoksid anjona, su se pokazali otporni na toksično delovanje PK (Suntres 2002);
- oksidaciju ćelijskog NADPH, glavnog izvora redukujućih ekvivalenata za intraćelijsku redukciju PK, što dovodi do prekida važnih NADPH-zavisnih hemijskih procesa u organizmu (Huh i sar. 2006);
- lipidnu peroksidaciju polinezasićenih masnih kiselina ćelijske membrane, što utiče na njenu strukturu i funkciju (Bus i sar. 1976, Suntres 2002).

Do sada je ispitan veliki broj supstanci koje bi mogle imati potpuno ili delimično protektivno dejstvo od PK. Neke od njih su pokazale dosta dobre efekte, dok su neke druge, kao metod zaštite, doživele neuspeh. Dobre rezultate su pokazali ekstrakti ili proizvodi različitih biljaka poput vodenog rastvora

polifenola (Sousa i sar. 2009) ili acilovanih antocijanina (Igarashi i sar. 2000) kupusa, proteina soje (Aoki i sar. 2002), ekstrakta lista krotona (Tieppo i sar. 2006) ili gumarabike (Gamal el-Din i sar. 2005a). I pojedini vitamini, provitamini, antioksidanti i hvatači slobodnih radikala se mogu uspešno koristiti, poput tokotrienola i α -tokoferola (Asmadi i sar. 2005), vitamina C (Wershana 2001), jedinjenja sa selenom (Attia i Nasr 2009) ili 3-metil-2-fenil-2-pirazolin-5-ona, hvatača slobodnih radikala (Saibara i sar. 2003, Zhi i sar. 2011). Kaptopril, lek protiv hipertenzije (Candan i Alagözlü 2001, Ghazi-Khansari i Mohammadi-Bardbori 2007) i ambroksol (trans-4(2-amino-3,5-dibrombenzil-amino)-cikloheksan dihidrid), mukolitički lek (Piotrowski i sar. 1996, Anguelov i Chichovska 2004) su ispoljili dobre rezultate u zaštiti organizama od toksičnog delovanja PK. Sa druge strane, pojedini lekovi od kojih se očekivalo da deluju protektivno, poput enalapрила i lizinopрила, lekova protiv hipertenzije, nisu pokazali željene efekte (Mohammadi-Bardbori 2007). I pojedina druga neorganska i organska jedinjenja mogu ispoljiti dobre zaštitne efekte u *in vivo* uslovima. Tu se mogu ubrojati natrijum-salicilat (Dinis-Oliveira i sar. 2007), hlorogena kiselina (Tsuchiya i sar. 1996), aminoguanidin (Mustafa i sar. 2002) i epigalokatehin i epigalokatehin galat (Igarashi i sar. 1998). Radioterapija kojoj su bili podvrgnuti pojedini pacijenti, se pokazala kao neodgovarajuća i neuspešna (Franzen i sar. 1991).

Pošto je već od ranije poznato da se PK lako vezuje za čestice zemljišta, urađen je veći broj oglada da se utvrdi da li silikati, a pre svega aluminosilikati, mogu u laboratorijskim uslovima da uklone rezidue PK iz vodene sredine tako što će apsorbovati ili adsorbovati molekule ovog pesticida. Dobri rezultati su dobijeni i kada je primenjen sepiolit (Rytwo i sar. 2002), površinski izmenjene gline (González-Pradas i sar. 2000, Tsai i Lai 2006) ili različiti zeoliti (Walcarius i Mouchotte 2004, Nur i sar. 2005). Ivanović i sar. (2007) su ispitivali mogućnost adsorpcije PK na prirodnom i sintetičkom bentonitu u *in vivo* uslovima. Rezultate

koje su dobili na pacovima su pokazali da aluminosilikati dodati hranivu mogu poslužiti i kao efikasna zaštita od toksičnog delovanja ovog pesticida u organizmu.

2.4. Teški metali

U teške metale se ubrajaju oni metali čija je gustina veća od 5g/cm^3 , koji nisu biogeni i koji na žive organizme deluju isključivo toksično poput olova, kadmijuma, žive, arsena ili talijuma. Oni se međusobno značajno razlikuju po fizičkim i hemijskim osobinama, ali i po svom fiziološkom delovanju na žive organizme. Teški metali predstavljaju ozbiljne zagađivače životne sredine, a izvori zagađenja mogu biti litogeni i pedogeni ili antropološki. Najznačajniji antropogeni izvori zagađenja su saobraćaj i prevozna sredstva, rudnici, topionice metala, metalska industrija, ali isto tako i organska i mineralna đubriva i komunalni otpad. Atmosfera je veoma važan činilac za zagađenje životne sredine teškim metalima jer se često može desiti da budu zagađena ona zemljišta koja su stotinama kilometara daleko od mesta emisije. Najveći problem predstavlja to što biljke lako mogu da usvajaju teške metale i na taj način ga unose u lanac ishrane. Biljke najvećim delom usvajaju teške metale preko korenovog sistema, ali je moguće da ih u manjoj meri, usvajaju i preko nadzemnih delova. Koliko će koja biljka usvojiti teških metala zavisi od brojnih endogenih i egzogenih faktora (Kastori 1993, Ubavić i sar. 1993,).

U severnoj Grčkoj je, posle pesticida, trovanje stoke jonima metala na drugom mestu po broju zabeleženih slučajeva trovanja. Trovanje olovom je relativno često u evropskim zemljama i slučajevi su zabeleženi u Belgiji, Francuskoj i Španiji. Najveći problem je što olovo ima dug poluživot u organizmu životinje i na taj način može ući u dalji lanac iskrane i ugroziti zdravlje ljudi (Guitart i sar. 2010).

2.4.1. Olovo

Olovo je najšire zastupljen kontaminant životne sredine upravo zbog svoje značajne uloge u modernoj industriji. To je najzastupljeniji neesencijalni element u ljudskom organizmu, jer je sveprisutan u vazduhu, u hrani, vodi za piće, kao i u prašini. Njegova toksičnost je blisko povezana sa njegovom akumulacijom u pojedinim organima i sa njegovom interferencijom sa bioelementima čija je uloga nezamenjiva u pojedinim fiziološkim procesima. To dovodi do mnogobrojnih neželjenih efekata, uključujući neurološke, imunološke, renalne, hepaticne i hematološke disfunkcije, kao i promene u ponašanju (Berrahal i sar. 2007). Olovo dovodi do niza fizioloških i biohemijskih poremećaja, kao i do promena u ponašanju i kod laboratorijskih životinja, tako i kod čoveka. Za sve te poremećaje postoje brojni mehanizmi delovanja koji su uključeni. Pretpostavlja se da je jedan od glavnih mehanizama remećenje prooksidantne/antioksidantne ravnoteže što indukuje oksidativni stres i stvaranje visokoreaktivnih kiseoničnih čestica poput hidroksil radikala, vodonik peroksida, superoksid anjon radikala i lipidnih peroksida (Abdollahi i sar. 2003). Olovo je snažan neurotoksični agens koji posebno utiče na razvoj centralnog nervnog sistema. Izlaganje niskim koncentracijama olova kod ljudi i eksperimentalnih životinja dovodi do poremećaja u ponašanju i problema sa pamćenjem i učenjem (Adonaylo i Oteiza 1999). Neurotoksičnost koju izaziva izlaganje organizma malim dozama olova se karakteriše neurofiziološkim poremećajima poput hiperaktivnosti ili poremećaja koncentracije. Naročito je osetljiv centralni nervni sistem kod organizama u razvoju (Antonio i sar. 1996). Jedinke pre ulaze u pubertet i mnogo su agresivnije u toku celog trajanja puberteta, pa i posle toga (Cervantes i sar. 2005). Correa i sar. (2003, 2005) su utvrdili da unos olova pojačava motorne poremećaje izazvane etanolom.

Biohemijski i molekularni mehanizmi delovanja olova još uvek nisu sasvim razjašnjeni. Olovo je toksično na ćelijskom nivou jer inhibira mnoge enzimske reakcije i remeti metabolizam, permeabilnost membrana i stvaranje energije. Fundamentalni molekularni mehanizmi toksičnog delovanja olova uključuju uticaj na sintezu DNK, transkripciju i translaciju, interakciju sa proteinima i sa jonima kalcijuma (Antonio i sar. 1996). Unos Pb^{2+} oralnim putem u organizam kod riba dovodi do oštećenja genetičkog materijala u perifernim krvnim ćelijama (Dai i sar. 2010). Predloženi su različiti mehanizmi: inhibicija kalcijumove pumpe (tj. transportnog proteina), poremećaj u metabolizmu minerala, inaktivacija pojedinih enzima, demijelinizacija nervnog tkiva itd. Oksidativni stres je predložen kao još jedan od mogućih mehanizama uljučenih u toksično delovanje olova. Oštećenja koja izaziva olovo mogu dovesti do poremećaja u prooksidantnoj i antioksidantnoj ravnoteži u ćeliji i do formiranja visokoreaktivnih kiseoničnih čestica poput hidroksil radikala, vodonik peroksida, superoksid anjona i lipidnih peroksida. (Berrahal i sar. 2007.) Delovanje slobodnih radikala u intoksikaciji olovom se može objasniti na dva načina: ili inhibicijom 5-aminolevulinska kisleina dehidrataze pomoću Pb^{2+} što dovodi do akumulacije 5-aminolevulinske kiseline (ALA), potencijalnog endogenog izvora slobodnih radikala, ili Pb^{2+} sam po sebi poseduje kapacitet da stimuliše lipidnu peroksidaciju u prisustvu Fe^{2+} jona. (Adonaylo i Oteiza 1999.)

Aluminosilikati poseduju veliku moć adsorpcije jona olova u životnoj sredini. Pored velike adsorptivne moći aluminosilikati pokazuju i veliku brzinu tih procesa tako da već u toku prvog sata kontakta aluminosilikata i jona olova najveća količina jona olova biva izmenjena, pa se stoga i primenjuju u sistemima za prečišćavanje otpadnih voda. Najveću adsorptivnu moć pokazuju gline, i to znatno veću nego zeoliti i kvarcni pesak (Matek i sar., 2004; Jablonovská i Štyriaková, 2006). Dodatkom zeolita u vodenu sredinu kontaminiranu jonima

kadmijuma se značajno smanjuje koncentracija jona ovog teškog metala u vodi i utiče na njegov transfer u ribe, i to proporcionalno sa količinom dodatog zeolita (James i Sampath 1999).

2.5. Mikotoksini

Svi mikotoksini su prirodni proizvodi male molekulske mase, a sintetišu ih filamentozne gljive. Ti metaboliti su toksigenetski i hemijski veoma heterogena grupa jedinjenja, a zajedno su grupisani samo zato što njeni članovi mogu da dovedu do bolesti i smrti kod ljudi i drugih kičmenjaka (Bennett i Klich 2003). Mnogi mikotoksini ispoljavaju svoj toksični efekat i na bezkičmenjake, biljke i mikroorganizme. Iako su svi mikotoksini metaboliti različitih gljiva, ne spadaju sve toksične supstance koje gljive sintetišu u mikotoksine. Ciljani organizam i koncentracija primenjenog mikotoksina je takođe veoma bitna. Proizvodi gljiva koji su najčešće toksični samo za bakterije se nazivaju antibiotici. Metaboliti gljiva koji su toksični za biljke se najčešće nazivaju fitotoksinima. Mikotoksini moraju biti sintetisani u gljivama i biti toksični za kičmenjake i druge grupe životinja u malim koncentracijama. Pojedini drugi metaboliti male molekulske mase, poput etanola, koje takođe sintetišu gljive, a koji su toksični samo u velikim količinama takođe ne spadaju u mikotoksine. Ne poseduju sve plesni sposobnost da sintetišu mikotoksine niti su svi sekundarni biomolekuli koje sintetišu plesni toksične (Zain 2011). Mikotoksini se javljaju u prirodi kao zagađivači poljoprivrednih proizvoda, koji pokazuju toksično dejstvo ako se unesu u organizam, najčešće oralno. Ova definicija pokriva mnoge toksikante rodova *Aspergillus* i *Penicillium*, većinu trihotecena roda *Fusarium* koji se javljaju u prirodi, kao i jedan toksin roda *Alternaria*. Iz ove definicije su isključeni sekundarni metaboliti koji su dobijeni isključivo u toku fermentacije u laboratorijskim uslovima, kao i oni metaboliti čije toksično dejstvo pri unosu oralnim putem nije dokazano. Iako je prisustvo

zearalenona i njegovih metabolita zabeleženo širom sveta i utvrđena njegova estrogena aktivnost, toksičnost pri oralnom unosu je diskutabilna i prikladniji naziv za njih bi bio „estrogeni gljiva“ (Abramson 1998). Do sada je otkriveno preko 300 jedinjenja koja bi se mogla svrstati među mikotoksine (Zain 2011). Njihova toksičnost zavisi od mnogobrojnih faktora poput vrste i koncentracije mikotoksina u hrani, načina unošenja u organizam i dužine ekspozicije, do genetskih (pol, vrsta, rasa i soj životinje), fizioloških (starost, zdravstveno stanje) ili spoljašnjih faktora (klimatski uslovi, način gajenja životinja), kao i od prisustva drugih mikotoksina ili drugih mikroorganizama.

Oboljenja koja izazivaju kod ljudi i životinja se zajedničkim nazivom zovu mikotoksikoze. Ova oboljenja se znatno razlikuju između sebe, što zavisi od vrste toksina ali i od mnogih drugih faktora.

Konzumacijom hrane kontaminirane mikotoksinima oni prelaze u organizam životinja i ljudi, deponuju se u unutrašnjim organima, mišićima i drugim tkivima ili se izlučuju putem mleka i urina kao što je slučaj kod preživara (Škrinjar i sar. 2008). Unos hrane kontaminirane mikotoksinima može da dovede do akutnih i hroničnih efekata koji imaju teratogene, kancerogene ili imunosupresivne posledice, kako za životinje, tako i za ljude. Pored očiglednih toksičnih efekata hrana kontaminirana mikotoksinima može da dovede i do drugih posledica poput odbijanja hrane i slabe konverzije što dovodi do slabijeg prirasta ili gubitka mase (Huwig i sar. 2001).

U zaštiti od mikotoksina treba voditi računa :

- Da se očuva zdravlje životinja,
- Da se smanje ekonomski gubici koje mikotoksini prouzrokuju i
- Da se zaštiti zdravlje ljudi, potencijalnih korisnika hrane životinjskog porekla (Marquardt i sar. 1996).

Strategija sprečavanja razvoja plesni na uskladištenim žitaricama obuhvata nekoliko značajnih tački kontrole. Pošto je za razvoj plesni neophodan izvor azota i energije, potrebno je da zrna budu neoštećena, kako ne bi predstavljala pogodan supstrat. Neoštećena zrna fizički štite azotna jedinjenja i energetske izvore semena putem celuloznog ili poliestarskog omotača, koji štiti seme spolja. Treba sprečiti moguća oštećenja zrna tokom tehnoloških postupaka i isto tako zaštititi ih od napada insekata i drugih štetočina. Za razvoj plesni je neophodna i pogodna ambijentalna temperatura koja je različita za svaku vrstu plesni. Pošto su plesni obligatni aerobni organizmi, za njihov rast i razviće je neophodna odgovarajuća količina kiseonika. Ipak, pojedine vrste se mogu razvijati čak i kada je koncentracija kiseonika u okruženju samo 4%. Za razvoj plesni je potreban i pristup vodi, i to kako slobodnoj vodi, tako je i vlažnost vazduha važan činiac. Takođe značajan činiac su i inhibitori rasta plesni koji se mogu dodavati (Nelson, 1993).

Za sprečavanje rasta gljiva, a samim tim i biosintezu mikotoksina primenjuju se različite strategije koje se mogu podeliti na tehnološke postupke pre i posle žetve, a koje uključuju različite biološke, hemijske i fizičke metode. Najbolji način da se spreči efekat mikotoksina je da se njihova biosinteza dovede na najmanju moguću meru, što uključuje žetvu pri optimalnim uslovima. Rast gljiva se može ograničiti korišćenjem propionske kiseline ili amonijum-izobutirata. Aditivi poput antioksidanata, aminokiselina sa sumporom, vitamina i mikroelemenata, mogu biti korisni kao detoksikanti.

Biološke metode se još ne koriste u praksi. Te metode uključuju fermentacione procese. Jedan od načina je konverzija aflatoksina B₁ do degradacionih proizvoda koji nisu štetni. Na žalost, konverzija teče dosta sporo i nije uvek potpuna.

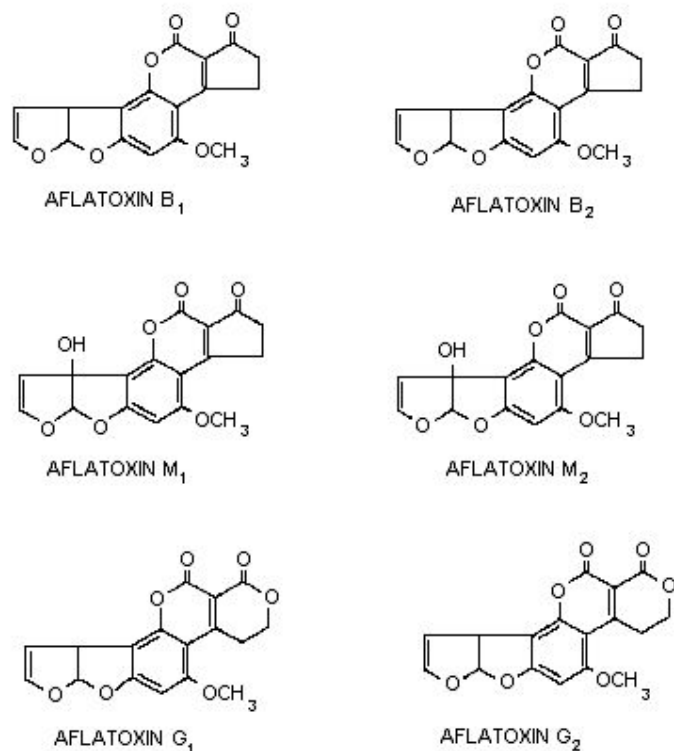
Pojedini mikotoksini se mogu razložiti hemijskim putem pomoću kalcijum hidroksid monoetilamina, ozona ili amonijaka. Amonizacija se najčešće koristi ali je taj metod dosta skup, pogodan samo za pojedine mikotoksine (naročito za aflatoksine) i uvek postoji mogućnost negativnog efekta na zdravlje životinja zbog zadržavanja rezidua amonijaka u hranivu.

Fizičke metode su fokusirane na uklanjanje mikotoksina pomoću različitih adsorbentasa koji se dodaju hranivu, prvenstveno u profilaktičke a ne u terapijske svrhe. Adsorbenti koji se najčešće koriste su aktivni ugljevi, aluminosilikati (zeoliti, gline ali i mnogi drugi silikati), polimeri (holestiramin, polivinilpirolidon i drugi) kao i ćelije kvasca i njihovi proizvodi (Huwig i sar., 2001).

Mikotoksini od najvećeg uticaja na zdravlje i od agroekonomskog značaja su: aflatoksini, ohratoksini, trihoteceni, zearalenon i fumonizini (Zain, 2011).

2.5.1. Aflatoksini

Aflatoksini (AFT) su klasa mikotoksina koje proizvode gljive iz roda *Aspergillus* (*A. flavus* i *A. parasiticus*) i česti su kontaminanti hraniva za živinu i druge životinjske vrste. Glavni oblici AFT su B₁, B₂, G₁ i G₂, s tim da je AFTB₁ najzastupljeniji, a istovremeno i biološki najaktivnija komponenta (Harvey i sar. 1993; Ledoux i sar. 1999).



Slika 5. Strukture aflatoksina

Aflatoksini mogu nastati pre žetve, ali takođe i tokom skladištenja u postžetvenom periodu, pri određenim uslovima vlage i temperature (Parlat i sar. 1999).

Na različite životinjske vrste AFT deluju toksično, imunosupresivno, mutageno, teratogeno i karcinogeno. Pošto su pilići izuzetno osetljivi na delovanje AF to može itekako uticati na živinarsku proizvodnju i industriju (Harvey i sar. 1993). Aflatoksikoza kod živine se karakteriše mlitavošću životinja, anoreksijom sa smanjenim prirastom, slabijom konverzijom hrane, smanjenom produkcijom jaja, povećanom osetljivošću na stresove izazvane mikroorganizmima ili faktorima životne sredine, kao i povećanom smrtnošću. Simptomi aflatoksikoza uključuju anemiju, inhibiciju imunog sistema, hepatotoksikozu, mutagenezu, teratogenezu, karcinogenezu i hemoragiju. Iz ovih razloga AFT su potencijalni rizik za zdravlje

živine (Parlat i sar. 1999). Unos AFT kod koka nosilja dovodi do smanjene produkcije jaja i povećane smrtnosti embriona iz takvih jaja (Stanley i sar. 2004). Jedan od prvih koraka u biosintetskom putu AFT je stvaranje norsolorinske kiseline, prekursora antrakinona pomoću poliketid sintaze tipa II. Nakon ovog prvog koraka sledi još najmanje 15 reakcija koje dovode do sinteze različitih metabolita od kojih je svaki naredni sve veće toksičnosti. Citohrom P450 enzimi prevode AFT u reaktivni 8,9-epoksidni oblik (poznat još i kao aflatoksin-2,3 epoksid), koji je sposoban da se veže i za DNK i za proteine. Poznato je da se reaktivni aflatoksin epoksid vezuje za N⁷ poziciju guanina. AFTB₁-DNK adukti dalje mogu da dovedu do prevođenja GC para baza u TA. Reaktivni sistem glutation S-transferaza (GST) prisutan u citosolu i mikroorganizmima katališe konjugaciju aktiviranih AF sa redukovanim glutationom dovodeći do lakše ekskrecije AFT. Smatra se da razlike u nivoima GST i citohrom P450 sistema među životinjskim vrstama i uzrokuje njihovu različitu osetljivost prema AFT. Način na koji će neki organizam reagovati na AFT zavisi od starosti, pola, težine, ishrane i izloženosti drugim mikotoksinima i farmakološki aktivnim supstancama (Bennett i Klich 2003). Ovce su jedne od najotpornijih životinjskih vrsta prema delovanju AFT dok su jaganjci mnogo osetljiviji (Fernández i sar. 1996).

Od strane Međunarodne organizacije za istraživanje raka AFTB₁ je svrstan u prvu grupu karcinogena isto kao i AFTM₁ (Polovinski i sar. 2008). AF kod riba dovodi do značajnih promena na genetskom materijalu. Uočavaju se delecije, aberacije i fragmentacije hromozoma u značajno većoj meri (Smela i sar. 2001; Hassan i sar. 2010). Iako je najčešći način unosa aflatoksina oralnim putem i udisanjem prašine bogate sporama i molekulima aflatoksina, opasnost pretstavlja i rukovanje bez odgovarajuće zaštitne opreme sa plesnivom stočnom hranom. Ciljni organi su tada pre svega pluća i slezina (Nuntharatanapong i sar. 2001).

Mere koje se primenjuju da bi se stoka zaštitila od negativnog delovanja AFT uključuju: analizu stočne hrane, korišćenje inhibitora rasta plesni, fermentaciju, mikrobiološku inaktivaciju, fizičko razdvajanje, termalnu inaktivaciju, radijaciju, amonizaciju, degradaciju pomoću ozona i korišćenje različitih adsorbentasa. Na žalost većina ovih mera su skupe, dugotrajne i najčešće samo delimično uspešne (Ledoux i sar. 1999). Pored toga, AFT, kao i većina drugih mikotoksina, se odlukuju visokom termostabilnošću. Tokom termičke obrade njihova struktura se ne razara, te se stoga njihove rezidue mogu pronaći i u konzumnim proizvodima (Škrinjar i sar. 2008).

Uspešan proces dekontaminacije mora biti ekonomski isplativ, sposoban da ukloni sve tragove AFT i da ne ostavi neželjene rezidue, a takođe ne sme da poremeti nutritivnu vrednost hraniva. Jedan od prilaza tom problemu je da se koriste nenutritivni i inertni adsorbensi kao dodaci hrani, koji će vezati AFT i smanjiti njihovu apsorpciju iz gastrointestinalnog trakta (Parlat i sar. 1999). Pojedini adsorbensi dodati hranivima kontaminiranim AFT mogu vezati ovaj mikotoksin tokom digestivnih procesa, omogućavajući na taj način da mikotoksin bezbedno prođe kroz digestivni trakt životinje. Glavne prednosti ovih adsorbentasa su cena, bezbednost i laka primena. Ipak, nisu svi aditivi ovog tipa i podjednako uspešni u zaštiti životinja od toksičnih efekata AFT, a utvrđeno je i da pojedini adsorbensi nepovoljno utiču na usvajanje hranjivih materija (Ledoux i sar. 1999). Gline i zeoliti mogu da se koriste u ove svrhe. Oni su najčešće inertni i netoksični za životinje i imaju sposobnost da vezuju AFT (Parlat i sar. 1999). Na-bentoniti i Ca-bentoniti uspešno adsorbuju više od 95% AFTB₁ u *in vitro* uslovima, na različitim, odgovarajućim pH vrednostima. Gline se između sebe jako razlikuju pre svega po svojim sekundarnim fizičkim karakteristikama. Gline sa različitih nalazišta često pokazuju različite karakteristike, a ponekad su uočene razlike u karakteristikama čak i u okviru gline iz istog nalazišta. Stepem čistoće i hemijske

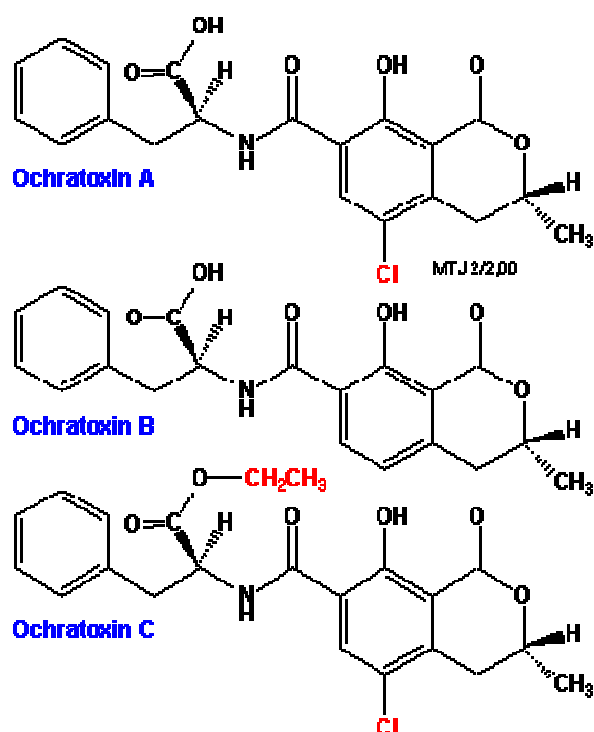
modifikacije gline značajno menjaju njene fizičke karakteristike (Diaz i sar. 2002). Urađena su različita ispitivanja na koji to način gline vezuju AFT. Utvrđeno je da se AFT može vezati kako u intralaminarnim regionima čestica gline, tako i na ivicama ali i na samoj površini čestice (Grant i Phillips 1998). Smektit poseduje veliku moć adsorpcije AFT u *in vitro* uslovima. Sposoban je da u vodenoj sredini sa AFT gradi veoma postojane smektit-AFT komplekse nakon zagrevanja. Pretpostavlja se da se AFT vezuje intrerlaminarno za smektit i da vodonične veze ili izmenjivi katjoni ne utiču na postojanost ovog kompleksa (Deng i sar. 2010).

Od pH sredine, kao i od vrste primenjenog aluminosilikata zavisi u kom će procentu aluminosilikat vezati AFT, bilo da su u pitanju gline, zeoliti ili neki drugi silikati, poput sepiolita (Chansiripornchai i Fink-Gremmels 2004; Desheng i sar. 2005; Spotti i sar. 2005). U *in vitro* studiji je dokazano da gline poseduje veliku sposobnost adsorpcije AFT naročito u baznoj sredini. Bolji adsorpcioni rezultati su postignuti u soku intestinuma gde je pH bazno nego u kiselom želudačnom soku (Juan-juan i sar. 2010). AFT se bolje adsorbuje na monmorilonit pri pH 7,0 i 10,0 nego pri pH 2,0. Vezivanje ide jako brzo, već nakon 5 minuta, a ekvilibrijum se postiže nakon 2 sata. AFT se bolje adsorbuje na temepraturi od 15 i 25°C, dok je na 37°C adsorpcija nešto slabija (Pimpukdee i sar. 2004). Uspešnim uklanjanjem AFT iz digestivnog trakta životinja smanjuje se i koncentracija AFTM₁ u mleku (Smith i sar. 1994; Masoero i sar. 2009).

Zastupljenost AFTB₁, a samim tim i AFTM₁, u Evropi je relativno mala. Veruje se da uvezena stočna hrana iz tropskih i subtropskih regiona uglavnom predstavlja opasnost (Polovinski i sar. 2008).

2.5.2. Ohratoksini

Postojanje toksičnog metabolita plesni *Aspergillus ochraceus* Wilh. je prvi put opisano 1965. godine i ta supstanca je nazvana ohratoksin A (OTA, 7-karboksil-5-hloro-8-hidroksil-3,4-dihidro-3R-metil-izokumarin-7-L-β-fenilalanin). Iste godine su utvrđene i pojedine fizičkohemijske osobine OTA, kao i njegovih analoga ohratoksina B i C. OTA se sastoji od dihidroizokumarinskog ostatka povezanog sa jednim molekulom L-fenilalanina pomoću peptidne veze. Hidrolizom ove veze nastaju ohratoksin D- i L-fenilalanin. OTA je slaba organska kiselina sa pK_a vrednosti približno 7,1. Nedisocirani oblik molekula je lipofilan i najverovatnije dobro membranski permeabilan, dok je disocirana forma hidrofилна (Gekle i sar. 2005).



Slika 6. Strukture ohratoksina

A. ochraceus je široko rasprostranjen i može biti pronađen svugde, i u zemljištu i u nepropisno uskladištenim žitaricama. Otkriveno je da *A. ochraceus* nije jedini izvor OTA nego da i druge vrste, poput *Penicillium viridicatum*, takođe

mogu sintetisati ovu supstancu (Gekle i sar. 2005). OTA je mikotoksin koji je čest u našim klimatskim uslovima (Škrinjar i sar. 2008).

Kada se u organizam unese oralnim putem OTA biva brzo apsorbovan u jejunumu i to sa stepenom biodostupnosti od 97%. Poluživot OTA u serumu varira od 120 sati kod pacova do 840 sati kod majmuna. Razlog za ovako dug poluživot i zadržavanje u serumu je velik afinitet vezivanja za proteine seruma, naročito albumine. Pošto se samo manje, oko 0,2% OTA nalazi u slobodnom stanju, samo taj deo može da se odstrani glomerularnom filtracijom. U gastrointestinalnom traktu OTA se delimično hidrolizuje do ohratoksina α . Kod preživara 80% OTA podlegne hidrolizi, dok je kod pacova to manje od 50%. Toksičnost ohratoksina α je mnogo manja u poređenju sa OTA. Ekskrecija i OTA i ohratoksin α se vrši putem fecesa i urina (Gekle i sar. 2005). Drugi autori smatraju da je hepatobilijarni put ekskrecije OTA glavni put njegovog odstranjivanja iz organizma, iako se delimično odstranjuje i putem urina i mleka (Škrinjar i sar. 2008). OTA može biti detektovan u serumu i u seminalnoj tečnosti svinja nekoliko dana nakon intoksikacije. OTA može uticati na produkciju i kvalitet sperme svinja, bilo da oštećuje direktno germinalni epitel ili remeti maturaciju ćelija sperme u epididimisu (Solti i sar. 1999).

Značaj OTA za zdravlje ljudi potiče od toga što je OTA veoma rasprostranjen u prirodi i može biti pronađen u velikom broju namirnica, pa je stoga rizik njegovom izlaganju izuzetno velik.

Iako je dokazano da OTA deluje na jetru, imuni sistem i moždane ćelije, glavni ciljani organ delovanja OTA su bubrezi. Velika osetljivost bubrega prema OTA je delimično rezultat toksikokinetike OTA. OTA se luči u proksimalne tubule i tamo jednim delom ponovo resorbuje što dovodi do akumulacije OTA u bubrežnim tkivima (Gekle i sar. 2005). OTA indukuje oksidativna oštećenja DNK u jetri i bubrežima čak i kad se unese oralnim putem i to u jako malim količinama.

Selektivna indukcija tumora bubrega pacova pod dejstvom OTA se može prepisati oksidativnom oštećenju DNK u kombinaciji sa citotoksičnim efektima koje ovaj mikotoksin izaziva, stimulacijom proliferacije i stimulacijom različitih signalnih puteva (Kamp i sar. 2005).

OTA se može detektovati u krvi, žuči i urinu ljudi i životinja nakon konzumacije kontaminirane hrane. OTA je imunosupresivna, genotoksična, teratogena i karcinogena supstanca. Sumnja se da je OTA glavni etiološki agens odgovoran za endemsku balkansku nefropatiju i da je povezan sa pojavom tumora urinarnog trakta kod ljudi. OTA dovodi do različitih efekata *in vivo*, uključujući inhibiciju sinteze proteina, indukciju lipidne peroksidacije i inhibiciju stvaranja mitohondrijalnog ATP-a (Meki i Hussein, 2001; Škrinjar i sar. 2008). I kod mlađih i kod starijih pacova se uočava da su bubrezi, i najverovatnije mozak, glavni ciljani organi delovanja OTA. Starije jedinke su mnogo osetljivije na delovanje OTA od mlađih (Dorant i sar. 2001).

Do sada su ispitane mnogobrojne supstance i njihovi mogući efekti u zaštiti životinja od ohratoksikoza. Melatonin ima profilaktičko dejstvo u zaštiti bubrežnog, srčanog i plućnog tkiva od mogućih oštećenja izazvanih OTA, pre svega u pospešivanju antioksidativnog odbrambenog sistema (Okutan i sar. 2004; Özçelik i sar. 2004).

2.6. Mikrocistini

Masovno bujanje cijanobakterija predstavlja problem širom sveta zbog eutrofizacije vodenih ekosistema. Veliki problem predstavlja pojava cijanobakterija u vodenim sredinama koje se koriste za komunalno vodosnabdevanje (Ito i sar. 1997; Nidhi Gupta i sar. 2003). Cvetanje cijanotoksičnih bakterija je zabeleženo u različitim vodenim ekosistemima poput slatkovodnih ribnjaka, jezera i rezervoara (Pinho i sar. 2003). Najozbiljnija posledica bujanja je

trovanje sekundarnim metabolitima cijanobakterija-cijanotoksinima koji se mogu podeliti u 5 grupa na osnovu organa na koji primarno deluju:

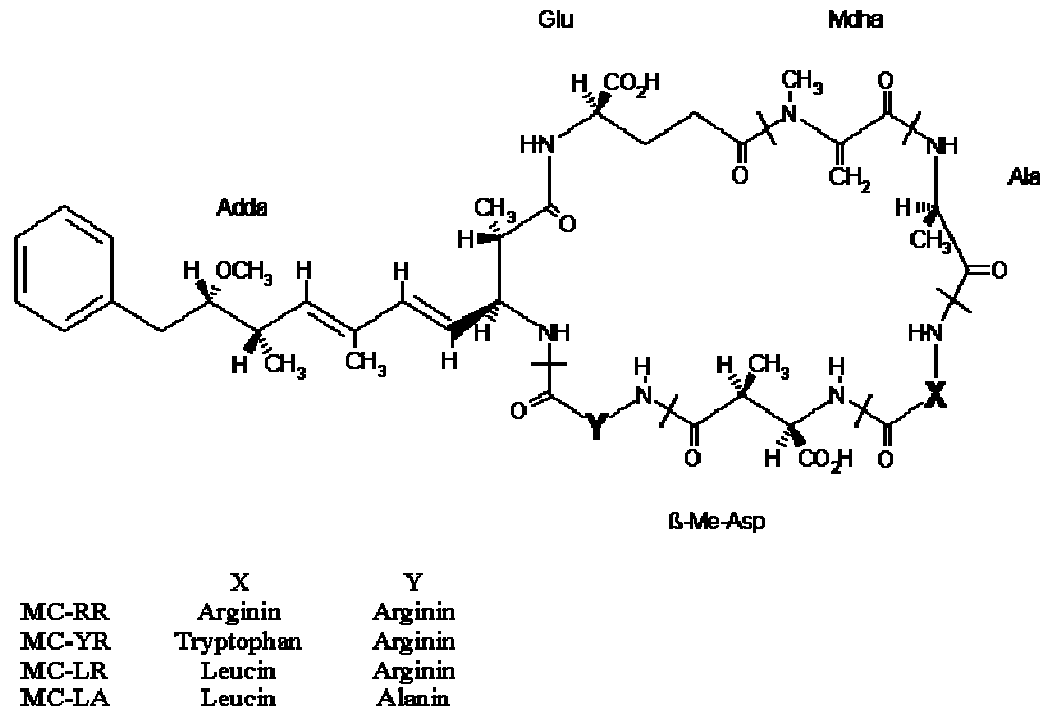
- hepatotoksini (mikrocistini i nodularini),
- neurotoksini (anatoksini, saksitoksin),
- citotoksini (cilindropspermospin),
- dermatotoksini (aplisiatoksin i lingbiatoksin) i
- iritantni toksini (lipopolisaharidi) (Skocovska i sar. 2007).

Mikrocistini (MC) koje sintetišu cijanobakterije ostaju unutar njihovih ćelija i dospevaju u okolnu vodenu sredinu tek nakon lize ćelija koja se dešava pri cijanobakterijskom cvetanju (Nidhi Gupta i sar. 2003).

Veliki broj vodenih organizama, uključujući beskičmenjake, ribe, sisare i ptice, može biti izloženo cijanotoksinima oralnim ili dermalnim putem. Vodeni organizmi, poput riba, puževa i zooplanktona, mogu da bioakumuliraju veće količine MC, što predstavlja ozbiljan problem jer na taj način MC mogu ući u dalji lanac ishrane (Nidhi Gupta i sar. 2003; Pinho i sar. 2003; Lakshmana Rao i sar. 2005). Toksični efekti delovanja proizvoda cijanobakterija su potvrđeni i kod različitih vrsta ptica. Zabeležena su uginuća divljih ptica koja se pripisana toksikogenim cijanobakterijama (Skocovska i sar. 2007). Kod odgovor na uticaj koji mogu imati po zdravlje ljudi, svetska zdravstvena organizacija (WHO) je dala preporuku da voda za piće ne sme sadržavati više od 1,0 µg MC-LR/l (Jos i sar. 2005).

U prirodi postoji preko 50 molekularnih formi MC koji su generalno izgrađeni od D-alanina na poziciji 1, dve promenjive L-aminokiseline na pozicijama 2 i 4, i γ -vezane D-glutaminske kiselinena poziciji 6. Na pozicijama 3, 5 i 7 se nalaze tri neuobičajene aminokiseline i to: na poziciji 3 je β -vezana D-eritro- β -metilasparaginska kiselina, na poziciji 5 je (2S, 3S, 8S, 9S)-3-amino-9-metoksi-2,6,8-trimetil-10-fenildeka-4,6-dienska kiselina i na poziciji 7 je smešten N-metil-

dehidroalanin (Pinho i sar. 2003). Adda je odgovorna za ispoljavanje biološke aktivnosti MC. U zavisnosti koju aminokiselinu sadrže: leucin (L), arginin (R) ili tirozin (Y), MC se i različito ponašaju. Najpoznatiji MC su MC-LR, MC-RR i MC-YR (Nidhi Gupta i sar. 2003).



Slika 7. Struktura mikrocistina

MC su moćni inhibitori protein fosfataze 1 (PP1) i 2A (PP2A). Inhibirajući aktivnost ova dva enzima MC deluju na različite regulatorne sisteme dovodeći do hiperfosforilacije ključnih proteina koji regulišu apoptozu. Ranija istraživanja su pokazala da različiti tipovi ćelija mogu da podlegnu apoptozi izazvanoj dejstvom MC (Li i sar. 2005; Dewes i sar. 2006; Ding i sar. 2006).

Hepatotoksičnost MC-LR unetog oralnim putem zavisi od starosti životinje i od stanja tankog creva, a naročito od permeabilnosti kapilara crevnih resica. Najvažnija barijera koja sprečava prodor MC u organizam su upravo kapilari crevnih resica koji sa starošću postaju manje permeabilni (Ito i sar. 1997).

Kod kičmenjaka MC bivaju usvojeni od strane hepatocita preko multispecifičnih žučnokiselinskih transportera, dovodeći do produkcije reaktivnih kiseoničnih čestica, lipidne peroksidacije, oštećenja DNK i povećanja aktivnosti antioksidantnih enzima. Poznato je da se detoksifikacija MC u jetri odvija preko konjugacije sa glutationom uz pomoć GST (Dewes i sar. 2006) Do oksidativnog stresa može dovesti ili hiperprodukcija reaktivnih kiseoničnih čestica u sistemu, ili smanjenje koncentracija odbrambenih ćelijskih antioksidanata. Slododni radikali i druge reaktivne kiseonične čestice koje se formiraju u subcelularnim delovima bivaju efikasno uklonjeni iz sistema uz pomoć ćelijskog antioksidativnog sistema, koji, kod životinja, u najvećoj meri čine antioksidativni enzimi poput katalaze, superoksid dismutaze, raznih peroksidaza i glutation-reduktaze (Yayaray i sar. 2006).

Epidemiološka istraživanja su otkrila da MC izazivaju stomačne i intestinalne upale, rak jetre i oštećenje slezine kod ljudi koji su pili vodu kontaminiraju sa MC (Nidhi Gupta i sar. 2003; Lakshmana Rao i sar. 2005). Ti efekti delimično koreliraju sa relativnim značajem tih organa (jetra, bubrezi i pluća) u akumulaciji MC u samom organizmu. Neke studije su pokazale da se MC mogu akumulirati i u gonadama i da su one takođe pogođeni organi delovanjem MC (Ding i sar. 2006).

3. CILJ RADA

Cilj ovog rada je bio da se u ogledu uzgoja pilića uz primenu preparata na bazi prirodnih aluminosilikata, pod nazivom antitoksični nutritiv (ATN) utvrdi:

- njegova bezbedna primena
- efekti primene u toksikološkom eksperimentu

Za procenu zdravstvenog stanja i proizvodnih karakteristika brojlera ogledne i kontrolne grupe planirane su sledeće analize :

- hematološke,
- biohemijske analize seruma (koncentracije pojedinih metabolita i elektrolita i aktivnost enzima biomarkera funkcije pojedinih organa)
- aktivnost glutation S-transferaze, kao parametra toksičnosti,
- parametri uzgoja (prirast i konverzija hrane),
- mase unutrašnjih organa i
- tehnološki pokazatelji kvaliteta belog i crvenog mesa,

U eksperimentu toksičnosti, cilj je bio da se utvrdi protektivno delovanje ATN u hrani uz prisustvo sledećih toksikanata: mikotoksina - aflatoksina i ohratoksina; herbicida – parakvat; jona teških metala - olova i cijanotoksina-mikrocistina. Toksičnost štetnih supstanci i protektivno delovanje ATN-a je određeno na osnovu sledećih analiza:

- hematoloških i biohemijskih analiza seruma i jetre pilića,
- aktivnosti antioksidativnih enzima i intenziteta lipidne peroksidacije,

- parametara uzgoja i mase unutrašnjih organa.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Atitoksični nutritiv (ATN)

Antitoksični nutritiv (ATN) je sitni prah čiju mineralnu osnovu čini smeša zeolita (sa preko 90% klinoptilolita), filosilikatne gline bentonita (sa više od 83% monmorilonita) i manja količina aktivnog uglja. Ove tri komponente su pomešane u odnosu 60:20:1 (zeolit:bentonit:aktivni ugalj). ATN supstrat je dobijen složenim višefaznim postupkom mešanja komponenti tačno definisanog porekla i kvaliteta (Ministarstvo za unutrašnje ekonomske odnose, Zavod za intelektualnu svojinu, patenti broj: 49073 i 49078).

4.2. Ogled 1.

4.2.1. Uzgoj pilića

Tri stotine jednodnevnih nevakcinisanih brojlerskih pilića oba pola je bilo podeljeno u dve jednake grupe sa po tri ponavljanja od po 50 pilića u okviru svake grupe. Pilići su gajeni u boksovima sa optimalnom temperaturom i stalnim režimom svetlosti na oglednoj farmi Poljoprivrednog fakulteta u Temerinu. Uslovi za držanje su zadovoljavali sve kriterijume u pogledu prostora i higijene. Voda za piće i hrana su im bili dostupni *ad libitum*. Obe grupe pilića su dobijale

komercijalne starter i grover smeše iste formulacije i istog kvaliteta. Hranivo je sadržavalo propisane neophodne količine nutrijenata. Kontrolna grupa je tokom celog ogleđa dobijala samo starter, odnosno grover smešu, dok je ogleđna gupa preko hrane dobijala ATN u količini od 0,5%. Telesna težina pilića i utrošak hrane su mereni jednom nedeljno.

4.2.2. Hematološke i biohemijske analize krvi

Kada su pilići dostigli 6 nedelja starosti, metodom slučajnog izbora je odabrano 36 pilića iz svake grupe (12 pilića po ponavljanju) i izvađena im je krv za hematološke i biohemijske analize.

Za hematološke analize je uzeto po 3 ml krvi u epruvete sa po 0,2 ml heparina kao antikoagulansa. Za dobijanje hemolizata, eritrociti krvi uzete sa antikoagulansom su tri puta ispirani fiziološkim rastvorom (0,15 mol/l NaCl), nakon čega su svaki put centrifugirani po 15 minuta na 1000xg. Hemolizat eritrocita je dobijen dodavanjem destilovane vode na isprane eritrocite, blagim mućkanjem i ponovnim centrifugiranjem (1000xg 15 minuta).

Od hematoloških analiza je određena vrednost hematokrita, koncentracija hemoglobina (Hb) i ukupan broj leukocita. Hematokrit je određen nakon centrifugiranja cevčica sa punom krvi u hematokritskoj centrifugi, a Hb je određen u hemolizatu hemoglobin-cijanidnom metodom sa Drapkinovim reagensom (Wintrobe, 1965). Broj leukocita je određen mikroskopiranjem uzoraka krvi uzete u melanžer, razređene Turkovim reagensom (1:20) i brojanjem u komorici za brojanje leukocita.

Krv uzeta bez dodatka antikoagulansa je korišćena za biohemijske analize. Nakon izdvajanja seruma, krv je centrifugirana 15 minuta na 1000xg, a dobijeni serum je podeljen na manje alikvote i čuvan na -20°C do izrade analiza.

Pomoću komercijalnog kita firme Alfapanon (Novi Sad, Srbija) je određena koncentracija serumske glukoze. Koncentracije serumskog ukupnog holesterola, triacilglicerola, jona kalcijuma, neorganskog fosfora, hlorida, kreatinina, ureje, rastvorljivih proteina i albumina, kao i aktivnosti alkalne fosfataze (ALP), alanin aminotransferaze (ALT), aspartat aminotransferaze (AST), γ -glutamilttransferaze (GGT), kreatin kinaze (CK), L-laktat dehidrogenaze (LDH) i α -amilaze (AMY) u serumu je određena pomoću kliničkog hemijskog analizatora Microlab 200 (Merck) prema priloženim uputstvima predloženim od strane samog proizvođača. Koncentracija elektrolita u serumu (Ca^{2+} , PO_4^{3-} , Cl^-) je određena kompletima firme RANDOX.

4.2.3. Mase unutrašnjih organa i biohemijska analiza jetre

Dvadesetčetiri pileta (po 12 iz svake grupe) je žrtvovano, izdvojeni jetra, pankreas, slezina, mišićni želudac, žlezdani želudac, Fabricijeva burza, jednjak, duodenum i slepo crevo su isprani u fiziološkom rastvoru, prosušeni na filter papiru i izmereni na vagi.

Jedan gram tkiva jetre je homogenizovan u 5 ml hladnog fosfatnog pufera i centrifugiran (15 minuta na 1000xg). U dobijenom supernatantu je određen sadržaj rastvorljivih proteina (Bradford, 1976). Goveđi serumski albumin je korišten za konstruisanje standardne krive. U homogenatu jetre je spektrofotometrijski (Jenway 6505 UV/Vis., UK) izmerena aktivnost glutation S-tansferaze (GST) pomoću 1-hloro-2,4-dinitrobenzena (CDNB) kao supstrata (Habig i sar., 1974).

4.2.4. Hemijska analiza kvaliteta mesa

Za određivanje parametara kvaliteta mesa odabrano je po 6 pilića iz svake grupe (po 2 pileta po ponavljanju) i za anлізу su uzeti: grudni mišić (belo meso) i

desni batak (crveno meso). pH₂₄ je određena 24 sata nakon žrtvovanja. Hemijska analiza mesa je obuhvatala određivanje sadržaja proteina, masti, vode, pepela, jona natrijuma i jona kalijuma (AOAC 2002).

4.3. Ogled 2.

4.3.1. Uzgoj pilića

Stotinu šezdeset i osam jednodnevnih, nevakcinisanih brojlerskih pilića oba pola je podeljeno u 8 eksperimentalnih grupa. U okviru svake eksperimentalne grupe (21 pile) je bilo 7 ponavljanja, sa po 3 pileta po ponavljanju. Pilići su gajeni u odgovarajućim kavezima pod optimalnom temperaturom, stalnim režimom svetlosti i mehaničkim provetravanjem prostorije. Voda za piće i hrana su im bili dostupni *ad libitum*. Obe grupe pilića su dobijale komercijalne starter smeše iste formulacije i istog kvaliteta (Superprotein, Zrenjanin). Smeša je sadržavala sve neophodne mikro- i makronutrijente (tabela 1).

Tabela 1. Hemijski sastav smeše za tov pilića I

Proteini [%] min	22
Masti [%] min	5
Vlaga [%] max	13,5
Celuloza [%] max	5
Pepeo [%] max	8
Kalcijum [%]	0,9-1,1
Fosfor [%]	0,65-0,85
Fosfor iskoristivi [%] min	0,40
Natrijum [%]	0,15-0,20
Mangan [mg/kg] min	80
Cink [mg/kg] min	50
Gvožđe [mg/kg] min	40
Bakar [mg/kg] min	8
Jod [mg/kg] min	0,8
Selen [mg/kg] min	15
Vitamin A [IJ/kg] min	12000
Vitamin D [IJ/kg] min	2000
Vitamin E [IJ/kg] min	30
Vitamin B ₂ [IJ/kg] min	6
Metabolička energija [MJ/kg] min	13,0
Lizin [%] min	1,15
Metioni + cistin [%] min	0,85

Podela na osam eksperimentalnih grupa je bila prema sledećim kriterijumima:

Kontrola: Sve vreme trajanja eksperimenta pilići su dobijali isključivo komercijalnu starter smešu.

ATN: Putem hrane su dobijali komercijalnu starter smešu u koju je bio umešan ATN preparat u količini od 0,5% (5 g/kg hraniva) sve vreme trajanja eksperimenta.

- MC:** Kao hranivo su dobijali komercijalnu starter smešu, a u večernjim satima, nakon merenja, su intubacijom dobijali 8 ml preparata liziranih ćelija cijanobakterija po kilogramu telesne mase.
- MC-ATN:** Putem hrane su dobijali komercijalnu starter smešu sa ATN preparatom u količini od 0,5% sve vreme trajanja eksperimenta, a u večernjim satima, intubacijom i 8 ml preparata liziranih ćelija cijanobakterija po kilogramu telesne mase.
- Pb:** Putem hrane su unosili jone olova koji su bili dodati u hranivo (komercijalnu starter smešu) u obliku olovo-acetata (Zorka, Šabac) u količini od 500 mg/kg hraniva.
- Pb-ATN:** U komercijalnu starter smešu koju su unosili tokom čitavog uzgoja je bio dodat ATN u količini od 0,5%, kao i joni olova u obliku olovo-acetata u količini od 500 mg po kilogramu hraniva.
- AFTB₁:** Sve vreme trajanja eksperimenta su dobijali komercijalnu starter smešu. Dvanaest časova pred žrtvovanje su intubacijom uneli jednu dozu čistog aflatoksina B₁ (Sigma) u količini od 1 mg po kilogramu telesne mase. Aflatoksin B₁ iz *Aspergillus flavus* (Sigma, Nemačka) je rastvoren u destilovanoj vodi, a svaka životinja je primila približno 1 ml rastvora.
- AFTB₁-ATN:** Pilići su putem hrane dobijali i ATN u količini od 5 grama po kilogramu hraniva. Dvanaest časova pre žrtvovanja su intubacijom dobili i jednu dozu aflatoksina B₁ u količini od 1 mg po kilogramu telesne mase.

Toksična kultura cijanobakterije *Microcystis* PCC 7806 je dobijena iz Laboratorije za mikrobiologiju Departmana za biologiju i ekologiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu. Tokom stacionarne faze rasta produkcija

mikrocistina kod datog soja iznosila je 9,16 µg/mg suve materije (Simeunović, 2009).

Za izračunavanje prirasta pilića i konverziju hrane, svakodnevno je merana telesna masa pilića i utrošak hraniva,

4.3.2. Biohemijska analiza krvi

Dvadeset prvog dana od početka eksperimenta pilićima je uzeta krv za hematološke i biohemijske analize. Kao antikoagulans je korišten rastvor EDTA. Iz nekoagulisane krvi su izdvojeni eritrociti i napravljen hemolizat na prethodno opisan način (ogled 1). U hemolizatu je određena koncentracija Hb, a ostatak hemolizata je ostavljen za dalja biohemijska ispitivanja. Iz koagulisane krvi je izdvojen serum i u njemu određena koncentracija proteina, glukoze, kreatinina, jona kalcijuma i aktivnost AMY na prethodno opisane načine.

4.3.3. Mase unutrašnjih organa i delova trupa

Pilići su žrtvovani, izvađeni unutrašnji organi, isprani u fiziološkom rastvoru i svakom piletu izmerene mase: jetre, pankreasa, slezine, srca, žlezdanog želuca, mišićnog želuca, pluća, bubrega, Fabricijeve burze, duodenuma i slepog creva. Unutrašnji organi su držani na hladnom za dalju analizu. Od trupa su odvojene glava, grudi, krila, noge, batac i karabatak i izmereni.

Iz svake ekperimentalne grupe je odabrano po jedno pile po kavezu (ponavljanju) kojem su uzeti sledeći organi za biohemijske analize: jetra, bubrezi, pankreas, slezina, srce, duodenum, pluća, mozak, grudi i batac. Izuzetak je bila slezina koje su uzete po dve iz svakog ponavljanja zbog mase manje od 1 grama.

4.3.4. Biohemijske analize tkiva i organa pilića

Od svakog uzorka je uzet po 1 gram tkiva i homogenizovan sa 5 ml hladnog fosfatnog pufera pH7,6. Nakon centrifugiranja 15 minuta na 1000xg supernatan je podeljen na manje alikvote i čuvan na -20°C za dalju biohemijsku analizu.

U homogenatu jetre je određena aktivnost ALP, ALT, GGT i AMY pomoću kliničkog hemijskog analizatora Microlab 200. Aktivnost GST je izmerena metodom po Habig i sar. (1974) u hemolizatu eritrocita i homogenatu jetre.

Homogenati svih odabranih organa i hemolizat eritrocita su korišteni da bi se u njima spektrofotometrijski odredila koncentracija proteina, aktivnost enzima antioksidativne zaštite: superoksid dismutaze (SOD-1), katalaze (CAT), gvajakol peroksidaze (GPx), pirogalol peroksidaze (PPx) kao i intenzitet lipidne peroksidacije u njima. Sadržaj proteina je određen metodom po Bradford (1976). Aktivnost SOD-1 je izmerena metodom po Misra i Fridovich (1972), a prema radu Pajović i sar. (2006). Metoda se zasniva na inhibiciji adrenalina u adrenohrom u prisustvu SOD-1. Prema metodi Aebi (1984) je određena aktivnost CAT.

Aktivnost GPx je određena metodom po Agrawal i Laloraya (1977), a PPx prema metodi Chance i Maehly (1955). Nivo malonildialdehida (MDA), krajnjeg proizvoda lipidne peroksidacije u tkivima, određivan je reakcijom sa tiobarbiturnom kiselinom (TBA) po metodi Ohkawa i sar. (1979).

4.4. Ogled 3.

4.4.1. Uzgoj pilića i analize tkiva i organa

Za ovaj ogled je odabrano 126 jednodnevnih, nevakcinisanih brojlerskih pilića oba pola. Pilići su podeljeni u šest eksperimentalnih grupa sa po sedam ponavljanja i po tri pileta u okviru svakog ponavljanja. Uslovi gajenja su bili identični sa onima u ogledu 2. Pilići su bili podeljeni na sledeće grupe: kontrola, ATN, OTA, OTA-ATN, PK i PK-ATN. Podela na ovih šest eksperimentalnih grupa je bila prema sledećim kriterijumima:

Kontrola: Sve vreme trajanja eksperimenta pilići su dobijali isključivo komercijalnu starter smešu.

ATN: Putem hrane su dobijali komercijalnu starter smešu u koju je bio umešan ATN preparat u količini od 0,5% (5 g/kg hraniva) sve vreme trajanja eksperimenta.

PK: Putem hrane su unosili parakvat koji su bili dodati u hranivo (komercijalnu starter smešu) u čistom obliku (metil-viologen, Serva) u količini od 70 mg/kg hraniva.

PK-ATN: U komercijalnu starter smešu koju su unosili tokom čitavog uzgoja je bio dodat ATN u količini od 0,5%, kao i parakvat u čistom obliku u količini od 70 mg/kg hraniva.

OTA: Sve vreme trajanja eksperimenta su dobijali komercijalnu starter smešu. Dvanaest časova pred žrtvovanje su intubacijom uneli jednu dozu čistog ohratoksina A iz *Aspergillus ochraceus* (Sigma) u količini od 1,5 mg/kg telesne mase. OTA je prvo bio rastvoren u maloj količini metanola, zatim razblažen višestruko sa vodom tako da je na kraju svaka životinja primila približno 1 ml ovog rastvora.

OTA-ATN: Pilići su putem hrane dobijali i ATN u količini od 5 grama po kilogramu hraniva. Dvanaest časova pre žrtvovanja su intubacijom dobili i jednu dozu čistog ohratoksina A u količini od 1,5 mg/kg telesne mase.

Nakon tri nedelje uzgoja pilićima je uzeta krv za biohemijske analize nakon čega su žrtvovani, a celokupna dalja procedura je bila identična onoj opisanoj u prethodnom ogledu (ogled 2).

4.5. Statistička analiza

Statistička analiza rezultata je urađena pomoću kompjuterskog softverskog paketa StatSoft Statistica 6.0., a statistički značajnom razlikom se smatralo ako je $P < 0,05$. Svi rezultati u tabelama su prikazani kao suma srednje vrednosti ponavljanja za datu grupu \pm standardna greška. Rezultati dati za prirast životinja su izraženi u procentima u odnosu na kontrolne grupe pilića.

5. REZULTATI

5.1. Ogled 1.

Hematološki pokazatelji pilića iz ogleda 1 (Hb, hematokrit i broj eritrocita) su prikazani u tabeli 2. Dobijene vrednosti merenih parametara su bile ujednačene između grupa i nisu uočene nikakve statistički značajne razlike ($P>0,05$).

Tabela 2. Hematološki pokazatelji pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

	Eksperimentalna grupa	
	Kontrola	ATN
Hemoglobin (Hb) [g/l]	82,44 ± 5,05	85,00 ± 3,66
Hematokrit [%]	33,10 ± 1,13	33,55 ± 0,55
Broj eritrocita [$10^6/mm^3$]	4,65 ± 0,13	4,70 ± 0,07

• srednja vrednost ± srednja greška

U tabeli 3 su prikazane koncentracije odabranih metabolita izmerenih u krvnom serumu pilića ogleda 1. Sve dobijene vrednosti su se kretale u granicama referentnih vrednosti za piliće i nisu se statistički značajno razlikovali među grupama ($P>0,05$).

Tabela 3. Koncentracija pojedinih metabolita seruma pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

	Eksperimentalna grupa	
	Kontrola	ATN
Proteini [g/l]	29,00 ± 1,30	30,30 ± 0,80
Albumini [g/l]	13,90 ± 0,53	15,00 ± 0,33
Glukoza [$\mu mol/l$]	14,18 ± 0,27	14,78 ± 0,29
Triacilgliceroli [mmol/l]	0,62 ± 0,05	0,59 ± 0,02
Holesterol [mmol/l]	2,85 ± 0,11	3,08 ± 0,08
Urea [mmol/l]	0,49 ± 0,03	0,55 ± 0,03
Kreatinin [mmol/l]	26,30 ± 0,84	28,60 ± 0,73

• srednja vrednost ± srednja greška

Dodatak ATN-a u količini od 0,5% u hranivo pilića nije doveo do poremećaja koncentracije jona kalcijuma, neorganskih fosfata i hlorida u krvnom serumu pilića (tabela 4). Vrednosti dobijene iz obe eksperimentalne grupe su bile ujednačene i bez statistički značajnih razlika.

Tabela 4. Koncentracije pojedinih elektrolita seruma pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

	Eksperimentalna grupa	
	Kontrola	ATN
Joni kalcijuma [mmol/l]	1,92 ± 0,06	1,96 ± 0,04
Neorganski fosfati [mmol/l]	1,74 ± 0,04	1,80 ± 0,03
Hloridi [mmol/l]	117,50 ± 2,20	117,50 ± 1,46
• srednja vrednost ± srednja greška		

Merenjem aktivnosti enzima biomarkera funkcije pojedinih organa nisu uočene veće razlike između grupa za enzime ALP, ALT, AST, GGT i CK koje su bile ujednačene i u granicama referentnih vrednosti za piliće (tabela 5). Izuzetak su enzimi AMY i LDH čija aktivnost u serumu pilića ATN grupe je bila statistički značajno veća u odnosu na piliće kontrolne grupe ($P < 0,05$).

Tabela 5. Aktivnost pojedinih enzima krvnog seruma pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

	Eksperimentalna grupa	
	Kontrola	ATN
Alkalna fosfataza (ALP) [IU/l]	3469,20 ^a ± 143,15	3215,41 ^a ± 248,57
Alanin aminotransferaza (ALT) [IU/l]	6,46 ^a ± 0,78	5,97 ^a ± 0,67
Aspartat aminotransferaza (AST) [IU/l]	283,82 ^a ± 12,30	320,89 ^a ± 17,34
γ-glutamil transferaza (GGT) [IU/l]	13,74 ^a ± 2,90	16,74 ^a ± 1,55
α-amilaza (AMY) [IU/l]	502,09 ^a ± 54,86	738,43 ^b ± 39,01
Kreatin kinaza (CK) [IU/l]	940,25 ^a ± 58,63	1190,58 ^a ± 114,32
L-laktat dehidrogenaza (LDH) [IU/l]	2095,22 ^a ± 59,89	2338,40 ^b ± 54,21
• srednja vrednost ± srednja greška		
• * $P < 0,05$ između srednjih vrednosti eksperimentalnih grupa		

Merenjem mase unutrašnjih organa pilića uočeno je statistički značajno ($P < 0,05$) povećanje relativne mase žlezdanog i mišićnog želuca, slepog creva i slezine kod pilića ATN grupe u odnosu na kontrolnu grupu (tabela 6). Relativne mase ostalih merenih unutrašnjih organa (jednjaka, duodenuma, jetre, pankreasa i Fabricijeve burze) su bile ujednačene između eksperimentalnih grupa.

Tabela 6. Relativne mase unutrašnjih organa pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

	Eksperimentalna grupa	
	Kontrola	ATN
Jednjak [g/100g t.m.]	0,14 ^a ± 0,01	0,16 ^a ± 0,01
Žlezdani želudac [g/100g t.m.]	0,42 ^a ± 0,01	0,48 ^b ± 0,02
Mišićni želudac [g/100g t.m.]	1,30 ^a ± 0,04	1,58 ^b ± 0,05
Duodenum [g/100g t.m.]	0,48 ^a ± 0,02	0,44 ^a ± 0,04
Slepo crevo [g/100g t.m.]	0,24 ^a ± 0,02	0,32 ^b ± 0,02
Jetra [g/100g t.m.]	2,74 ^a ± 0,19	2,48 ^a ± 0,13
Pankreas [g/100g t.m.]	0,22 ^a ± 0,01	0,24 ^a ± 0,02
Slezina [g/100g t.m.]	0,14 ^a ± 0,01	0,22 ^b ± 0,01
Fabricijeva burza [g/100g t.m.]	0,20 ^a ± 0,02	0,22 ^a ± 0,01

- srednja vrednost ± srednja greška
- t.m.-telesna masa
- *P<0,05 između srednjih vrednosti eksperimentalnih grupa

U tabeli 7 su prikazane vrednosti za nivo proteina i aktivnost glutation S-transferaze jetre pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN-a u hranivo. Izmerene vrednosti za ova dva parametra su bile ujednačene i nisu uočene nikakve statistički značajne razlike između ove dve eksperimentalne grupe ($P>0,05$).

Tabela 7. Sadržaj proteina i aktivnost glutation S-transferaze jetre pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

	Eksperimentalna grupa	
	Kontrola	ATN
Proteini [g/100g tkiva]	6,94 ± 0,64	7,15 ± 0,61
Glutation S-transferaza (GST) [IU/mg proteina]	473,48 ± 72,71	440,73 ± 36,12

- srednja vrednost ± srednja greška

Izmerena telesna masa pilića na kraju uzgoja je bila ujednačena bez obzira da li su pilići putem hrane dobijali ATN u količini od 0,5% ili ne (tabela 8). Ipak, najveća razlika u prirastu je uočena u toku treće nedelje uzgoja kada su pilići ATN grupe imali prirast za 31,36% veći u odnosu na kontrolnu grupu, dok su pilići kontrolne grupe u toke poslednje nedelje uzgoja zabeležili veći prirast od pilića ATN grupe za 9,80%. Podaci dobijeni za konverziju hrane se nisu razlikovali između eksperimentalnih grupa i iznosili su 1,91 za piliće kontrolne grupe, odnosno 1,93 za piliće ATN grupe.

Tabela 8. Prirast i konverzija hrane u toku šestonedelnog uzgoja pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

	Prirast [g/dan]						Konverzija [kg/kg]
	1. nedelja	2. nedelja	3. nedelja	4. nedelja	5. nedelja	6. nedelja	
Kontrola	12,42	29,84	45,84	62,02	77,70	76,96	1,91
ATN	13,07	28,91	55,63	62,34	79,38	69,42	1,93
%	+ 5,23	- 3,12	+ 31,36	+ 0,52	+ 2,16	- 9,80	+ 1,58

- %-razlika u odnosu na kontrolu
- srednja vrednost 3 ponavljanja od po 50 pilića unutar svake ogledne grupe

Analizom hemijskog sastava mišićnog tkiva grudi i bataka pilića (belo i crveno meso) utvrđene su statistički značajne razlike između pilića hranjenih sa i bez dodatka 0,5% ATN-a u hranivo (tabela 9). Pilići hranjeni sa dodatkom ATN-a su imali veći sadržaj proteina i manji sadržaj masti u belom mesu (mišićno tkivo grudi), kao i statistički značajno veći sadržaj pepela i u belom i u crvenom mesu. Ostali mereni parametri, poput pH, udela vode i sadržaja natrijuma i kalijuma je bio ujednačen kod obe eksperimentalne grupe u oba ispitivana mišićna tkiva.

Tabela 9. Hemijski sastav mišićnog tkiva grudi i bataka pilića hranjenih bez (kontrola) ili sa (ATN) dodatkom 0,5% ATN u hranivo

		Grupa	
		Kontrola	ATN
Proteini [%]	<i>Grudi</i>	21,90 ^a ± 0,22	22,69 ^b ± 0,12
	<i>Batak</i>	18,12 ± 0,18	18,37 ± 0,13
Masti [%]	<i>Grudi</i>	1,14 ^a ± 0,10	0,62 ^b ± 0,08
	<i>Batak</i>	6,96 ± 0,76	7,01 ± 0,40
Voda [%]	<i>Grudi</i>	75,73 ± 0,22	75,14 ± 0,17
	<i>Batak</i>	73,76 ± 0,61	73,26 ± 0,34
Pepeo [%]	<i>Grudi</i>	1,03 ^a ± 0,02	1,27 ^b ± 0,06
	<i>Batak</i>	0,88 ^a ± 0,01	1,05 ^b ± 0,05
pH	<i>Grudi</i>	5,91 ± 0,02	5,76 ± 0,10
	<i>Batak</i>	6,12 ± 0,06	6,06 ± 0,04
Natrijum [mg/kg]	<i>Grudi</i>	57,12 ± 6,22	50,06 ± 4,67
	<i>Batak</i>	75,03 ± 6,06	74,44 ± 3,15
Kalijum [mg/kg]	<i>Grudi</i>	308,78 ± 5,72	301,47 ± 13,20
	<i>Batak</i>	233,39 ± 32,44	263,73 ± 6,94

- srednja vrednost ± srednja greška

5.2. Oglad 2

Analizom biohemijskih parametara krvnog seruma se može saznati kakvo je zdravstveno stanje samog organizma i kako funkcionišu pojedini unutrašnji organi. Pored toga se može izvesti i zaključak na koji način deluju pojedine supstance kada se unesu u organizam. U tabeli 10 su prikazani rezultati merenja pojedinih serumskih pokazatelja tronedeljnih pilića koji su bili izloženi delovanju MC, Pb²⁺ jona i AFTB₁ i u kombinaciji preparatom ATN. Uočava se da sam ATN, kao ni jedna primenjena doza AFTB₁ ne remete normalnu biohemijsku homeostazu. Unos MC u organizam dovodi do statistički značajnog pada koncentracije proteina i kreatinina u serumu, kao i do povećanja aktivnosti AMY. Hroničan unos jona olova oralnim putem isto dovodi do pada koncentracija rastvorljivih serumskih proteina i kreatinina, ali uzrokuje inhibiciju aktivnosti AMY. Istovremeni unos ATN-a u količini od 0,5% putem hrane u organizam uspeva da delimično, ili potpuno, poništi negativne efekte ova dva toksina na merene parametre seruma.

Tabela 10. Sadržaj pojedinih parametara krvnog seruma pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Proteini [g/l]	29,67 ^a ± 0,333	28,67 ^a ± 1,667	25,60 ^b ± 0,928	30,33 ^a ± 1,054	20,00 ^b ± 2,041	28,40 ^a ± 1,166	27,00 ^a ± 2,082	30,25 ^a ± 2,86
Glukoza [μmol/l]	13,17 ^a ± 0,517	14,10 ^a ± 0,100	12,52 ^a ± 0,527	12,58 ^a ± 0,771	10,35 ^a ± 1,121	12,98 ^a ± 0,343	12,43 ^a ± 0,731	13,43 ^a ± 0,319
Kreatinin [mmol/l]	26,50 ^a ± 0,645	25,00 ^a ± 1,080	20,60 ^b ± 1,326	23,60 ^{a,b} ± 1,691	15,00 ^c ± 2,677	22,20 ^a ± 1,157	21,33 ^a ± 2,028	22,00 ^a ± 2,517
Joni kalcijuma [mmol/l]	1,86 ^a ± 0,084	2,10 ^a ± 0,202	2,15 ^a ± 0,101	2,20 ^a ± 0,083	1,96 ^a ± 0,199	2,22 ^a ± 0,154	2,20 ^a ± 0,083	2,23 ^a ± 0,082
α-amilaza (AMY) [IU/ml seruma]	819,63 ^a ± 40,84	808,00 ^a ± 145,96	978,25 ^b ± 32,08	1012,33 ^b ± 98,45	532,02 ^c ± 38,20	931,76 ^{a,b} ± 94,70	933,03 ^{a,b} ± 143,87	879,88 ^{a,b} ± 73,90
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju (P<0,05) 								

Aktivnosti pojedinih enzima krvnog seruma pilića oglada 2. su prikazani u tabeli 11. Uočava se da je oralni unos MC i Pb²⁺ jona u ovom ogledu doveo do

statistički značajnog pada ($P < 0,05$) aktivnosti ALP, dok jedna doza primenjenog AFTB₁ nije dovela do promene u aktivnosti ovog enzima. Unos ATN-a je delimično ublažio posledice ovakvog delovanja ova dva toksina. Nijedan od primenjenih toksina, kao ni sam ATN nisu doveli do promena u aktivnosti serumske ALT.

Tabela 11. Aktivnost ALP, ALT, GGT i AMY jetre pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Alkalna fosfataza (ALP) [IU/mg proteina]	56,10 ^a ± 5,967	51,14 ^a ± 6,347	31,25 ^b ± 1,613	40,94 ^c ± 4,462	34,18 ^b ± 2,020	42,08 ^c ± 4,110	51,88 ^{a,c} ± 9,771	54,69 ^a ± 3,420
Alanin aminotransferaza (ALT) [IU/ mg proteina]	35,72 ^a ± 4,849	37,26 ^a ± 3,771	31,34 ^a ± 0,989	30,67 ^a ± 1,513	36,14 ^a ± 1,111	33,57 ^a ± 1,088	33,17 ^a ± 5,459	33,71 ^a ± 0,525
γ-glutamil transferaza (GGT) [IU/ mg proteina]	4,69 ^a ± 0,070	3,73 ^{a,b} ± 0,426	4,54 ^a ± 0,429	3,36 ^{a,b} ± 0,358	3,04 ^b ± 0,276	3,86 ^{a,b} ± 0,389	1,99 ^c ± 0,111	2,89 ^{b,c} ± 0,409
α-amilaza (AMY) [IU/ mg proteina]	9,37 ^a ± 2,503	8,27 ^a ± 1,321	9,94 ^{a,b} ± 1,378	9,56 ^a ± 0,950	11,85 ^b ± 1,309	11,44 ^b ± 1,557	10,16 ^{a,b} ± 0,781	9,96 ^{a,b} ± 1,638
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$) 								

U tabeli 12 su prikazani rezultati merenja koncentracije Hb, aktivnosti odabranih enzima antioksidativne zaštite i intenzitet lipidne peroksidacije u krvnom hemolizatu (eritrocitima) tronedeljnih pilića hranjenih sa ili bez dodatka ATN-a u količini od 0,5% i izloženih delovanju odabranih toksina. ATN, MC i AFTB₁ nisu remetili biohemijske procese u eritrocitima. Oralni unos jona olova dovodi do statistički značajnih poremećaja. Pb²⁺ joni uzrokuju smanjenje koncentracije Hb, inhibiciju aktivnosti SOD-1 i povećanu aktivnost drugih antioksidativnih enzima (CAT, GPx, PPx i GST) što rezultira pojavom oksidativnog stresa i povećanim intenzitetom lipidne peroksidacije. Rezultati ovih parametara u grupi sa ATN ukazuju na uspešnu zaštitu eritrocita od štetnog delovanja jona olova.

Tabela 12. Koncentracija hemoglobina, aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx, PPx i GST) i intenzitet lipidne peroksidacije u hemolizatu krvi pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Hemoglobin (Hb) [g/l]	146,42 ^a ± 3,92	146,10 ^a ± 3,11	130,14 ^a ± 1,87	135,91 ^a ± 2,98	105,22 ^b ± 5,54	127,95 ^{a,b} ± 6,65	145,44 ^a ± 4,32	147,23 ^a ± 5,11
Superoxid dismutaza (SOD-1) [IU/mg Hb]	466,08 ^a ± 12,33	489,75 ^a ± 15,45	461,87 ^a ± 18,65	473,33 ^a ± 14,26	354,88 ^b ± 12,76	485,45 ^a ± 12,34	470,16 ^a ± 14,22	482,38 ^a ± 11,87
Katalaza (CAT) [IU/mg Hb]	8,26 ^a ± 0,48	8,12 ^a ± 0,59	7,13 ^a ± 0,63	7,18 ^a ± 0,66	10,09 ^b ± 0,29	7,50 ^a ± 0,45	7,31 ^a ± 0,56	7,04 ^a ± 0,62
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg Hb]	6,41 ^a ± 0,24	6,83 ^a ± 0,17	6,50 ^a ± 0,22	6,38 ^a ± 0,31	8,44 ^b ± 0,09	6,78 ^a ± 0,19	6,50 ^a ± 0,20	6,82 ^a ± 0,32
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg Hb]	14,40 ^a ± 0,50	15,00 ^a ± 0,48	14,73 ^a ± 0,66	14,45 ^a ± 0,57	18,95 ^b ± 0,57	14,80 ^a ± 0,44	14,35 ^a ± 0,43	14,20 ^a ± 0,55
Glutation S-transferaza (GST) [IU/mg Hb]	120,05 ^a ± 3,22	133,21 ^a ± 3,46	129,08 ^a ± 2,81	119,11 ^a ± 2,95	162,44 ^b ± 3,08	132,97 ^a ± 3,00	116,12 ^a ± 2,71	114,30 ^a ± 2,66
Lipidna peroksidacija (LP)	1,19 ^a ± 0,089	1,41 ^a ± 0,125	1,26 ^a ± 0,075	1,38 ^a ± 0,094	2,86 ^b ± 0,088	1,45 ^a ± 0,103	1,07 ^a ± 0,120	1,29 ^a ± 0,114
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju (P<0,05) 								

Jetra je vrlo osetljiva na delovanje različitih toksina (tabela 13). ATN dodat hranivu u količini od 5 grama po kilogramu ne dovodi ni do kakvih promena u aktivnosti enzima antioksidativne zaštite, niti dovodi do povećanja intenziteta

lipidne peroksidacije. Oralni unos MC uzrokuje statistički značajnu ($P < 0,05$) inhibiciju aktivnosti svih merenih enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, PPx i GPx) pilića izuzev GST čija aktivnost je značajno povećana usled delovanja ovog toksina. Ovakav odgovor organizma rezultira i statistički značajnim povećanjem intenziteta lipidne peroksidacije u tkivu jetre. Joni olova dovode do smanjenja aktivnosti SOD-1 i povećanja aktivnosti GST. Posledica oksidativnog stresa koji se javlja je statistički značajno povećanje intenziteta lipidne peroksidacije. Jedna doza AFTB₁ je dovoljna da dovede do inhibicije aktivnosti GST u jetri i do povećanja lipidne peroksidacije. Unos ATN-a zajedno sa ova tri toksina ublažava i poništava neželjene posledice koje oni izazivaju.

Tabela 13. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx, PPx i GST) i intenzitet lipidne peroksidacije u jetri pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg proteina]	18,46 ^a ± 0,63	19,56 ^a ± 0,86	14,26 ^b ± 0,52	16,97 ^{a,b} ± 0,87	15,14 ^b ± 0,69	18,98 ^a ± 0,54	18,05 ^a ± 0,55	19,11 ^a ± 0,74
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	22,20 ^a ± 1,75	24,05 ^a ± 2,24	17,18 ^b ± 0,58	20,75 ^{a,b} ± 0,59	25,03 ^a ± 0,94	22,53 ^a ± 0,84	22,00 ^a ± 0,80	25,07 ^a ± 0,57
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	2,08 ^a ± 0,066	2,14 ^a ± 0,062	1,72 ^b ± 0,058	1,96 ^{a,b} ± 0,060	2,18 ^a ± 0,071	2,02 ^a ± 0,070	1,95 ^{a,b} ± 0,064	1,96 ^{a,b} ± 0,063
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	64,32 ^a ± 3,22	58,19 ^a ± 1,75	52,74 ^b ± 1,58	56,81 ^{a,b} ± 2,25	62,02 ^a ± 2,20	60,01 ^a ± 1,98	57,18 ^{a,b} ± 1,87	56,92 ^{a,b} ± 2,07
Glutation S-transferaza (GST) [IU/mg proteina]	390,08 ^a ± 10,24	376,21 ^a ± 12,38	487,11 ^b ± 13,47	416,24 ^a ± 9,87	388,26 ^a ± 11,63	367,14 ^a ± 15,20	298,17 ^c ± 7,32	354,68 ^a ± 9,98
Lipidna peroksidacija (LP)	2,05 ^a ± 0,135	1,92 ^a ± 0,086	2,99 ^b ± 0,368	1,95 ^a ± 0,100	2,67 ^b ± 0,039	2,07 ^a ± 0,072	2,58 ^b ± 0,051	1,77 ^a ± 0,054
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • a,b,c Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$) 								

U tabeli 14. su prikazani rezultati dobijeni merenjem aktivnosti antioksidativnih enzima i intenziteta lipidne peroksidacije u bubrezima pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju MC, Pb²⁺ i AFTB₁. Na osnovu dobijenih rezultata se može zaključiti da sam ATN ne utiče negativno na biohemijske procese koji se odvijaju u bubrezima, dok oralni unos bilo kojeg od ova tri toksina izaziva statistički značajne promene ($P < 0,05$). MC dovodi do inhibicije aktivnosti skoro svih merenih enzima, izuzev CAT, ali primenjena doza ipak ne izaziva oksidativni stres u ovom organu jer intenzitet

lipidne peroksidacije ostaje nepromenjen. Unos jona olova hronično oralnim putem dovodi do najintenzivnijih promena u bubrezima. Iako se aktivnost merenih peroksidaza (GPx i PPx) ne menja, aktivnosti SOD-1 i CAT su statistički značajno povećane, a kao posledica se javlja povećan intenzitet lipidne peroksidacije i stanje oksidativnog stresa u ovom organu. Čak i samo jedna doza unetog AFTB₁ je dovoljna da dovede do inhibicije SOD-1, GPx i PPx i do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije u bubrezima pilića. ATN se pokazao kao vrlo uspešan preparat jer je uspeo da delimično ili potpuno poništi ove negativne efekte delovanja sva tri primenjena kontaminanta i da spreči pojavu oksidativnog stresa.

Tabela 14. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u bubrezima pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	10,56 ^a ± 0,33	10,98 ^a ± 0,42	6,22 ^b ± 0,36	9,54 ^a ± 0,41	19,71 ^c ± 0,37	11,87 ^a ± 0,29	6,89 ^b ± 0,45	9,89 ^a ± 0,31
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	62,17 ^a ± 3,05	62,08 ^a ± 2,63	62,41 ^a ± 3,53	65,97 ^a ± 1,76	89,55 ^b ± 5,94	66,82 ^a ± 3,19	69,25 ^a ± 6,92	77,96 ^a ± 6,05
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	15,01 ^a ± 1,18	16,85 ^a ± 1,26	7,60 ^b ± 0,83	14,92 ^a ± 0,93	12,75 ^a ± 0,85	14,72 ^a ± 1,81	7,64 ^b ± 1,66	15,10 ^a ± 1,76
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	49,38 ^a ± 2,41	46,85 ^a ± 2,44	32,97 ^b ± 0,92	35,02 ^{b,c} ± 0,65	43,51 ^{a,c} ± 1,23	42,94 ^a ± 2,69	38,09 ^{b,c} ± 2,81	37,18 ^{b,c} ± 2,02
Lipidna peroksidacija (LP)	2,30 ^a ± 0,091	2,61 ^a ± 0,087	2,45 ^a ± 0,083	2,62 ^a ± 0,080	3,80 ^b ± 0,069	2,69 ^a ± 0,099	3,33 ^{b,c} ± 0,056	2,95 ^{a,c} ± 0,161
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju (P<0,05) 								

Oralni unos MC, Pb²⁺ ili AFTB₁, kao ni ATN-a, ne dovodi do nekih značajnijih promena u aktivnosti enzima antioksidativne zaštite pankreasa pilića, što ukazuje ne činjenicu da pankreas nije ciljani organ ovih toksina (tabela 15). Jedina statistički značajna razlika ($P < 0,05$) je zabeležena u aktivnosti CAT nakon hroničnog unosa rastvora MC. Rezultati pokazuju da unos MC dovodi do povećanja aktivnosti CAT, ali i da prisustvo ATN-a poništava ovakvo neželjeno delovanje MC.

Tabela 15. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u pankreasu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	4,14 ^a ± 0,12	4,29 ^a ± 0,21	4,27 ^a ± 0,17	4,28 ^a ± 0,20	4,40 ^a ± 0,22	4,31 ^a ± 0,11	4,02 ^a ± 0,09	4,26 ^a ± 0,10
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	7,55 ^a ± 0,40	7,39 ^a ± 0,21	10,95 ^b ± 0,79	8,42 ^a ± 0,48	8,42 ^a ± 0,49	8,56 ^a ± 0,25	8,71 ^a ± 0,34	7,80 ^a ± 0,32
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	0,36 ^a ± 0,011	0,39 ^a ± 0,020	0,37 ^a ± 0,009	0,39 ^a ± 0,022	0,35 ^a ± 0,017	0,40 ^a ± 0,010	0,36 ^a ± 0,008	0,36 ^a ± 0,010
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	2,66 ^a ± 0,26	2,15 ^a ± 0,13	2,56 ^a ± 0,14	2,24 ^a ± 0,11	2,95 ^a ± 0,22	2,32 ^a ± 0,14	2,13 ^a ± 0,27	2,46 ^a ± 0,15
Lipidna peroksidacija (LP)	3,26 ^a ± 0,34	2,98 ^a ± 0,06	2,51 ^a ± 0,22	2,66 ^a ± 0,11	2,84 ^a ± 0,16	2,56 ^a ± 0,34	2,88 ^a ± 0,11	2,78 ^a ± 0,11

- srednja vrednost ± srednja greška
- ^{a,b} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$)

U tabeli 16. su prikazani rezultati merenja aktivnosti enzima antioksidativne zaštite i lipidne peroksidacije u slezini pilića hranjenih sa ili bez dodatka ATN-a u količini od 0,5% u kombinaciji sa odabranim toksinima. Dobijene vrednosti svih izmerenih parametara slezine pilića koji su bili izloženi delovanju toksina su bile u granicama vrednosti dobijenih za kontrolnu i ATN grupu pilića. Statistički značajno ($P < 0,05$) su se razlikovale jedino povećane vrednosti aktivnosti CAT u slezini pilića izloženih delovanju jedne doze AFTB₁ i smanjena aktivnost PPx kod pilića koji su hronično unosili u organizam povećane doze jona olova.

Tabela 16. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u slezini pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	3,88 ^a ± 0,10	3,67 ^a ± 0,14	3,80 ^a ± 0,11	3,81 ^a ± 0,12	3,66 ^a ± 0,14	3,75 ^a ± 0,13	3,85 ^a ± 0,15	4,00 ^a ± 0,15
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	5,72 ^a ± 0,12	5,12 ^s ± 0,17	5,27 ^s ± 0,20	5,87 ^s ± 0,20	5,63 ^s ± 0,17	4,85 ^s ± 0,10	6,85 ^b ± 0,21	6,52 ^{a,b} ± 0,31
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	0,59 ^a ± 0,025	0,63 ^a ± 0,032	0,51 ^a ± 0,034	0,59 ^a ± 0,017	0,64 ^a ± 0,015	0,60 ^a ± 0,019	0,59 ^a ± 0,028	0,61 ^a ± 0,022
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	16,45 ^a ± 1,13	14,25 ^a ± 0,63	16,51 ^a ± 0,72	13,86 ^{a,b} ± 0,86	11,61 ^b ± 0,83	13,31 ^{a,b} ± 0,82	14,75 ^a ± 0,97	16,39 ^a ± 2,35
Lipidna peroksidacija (LP)	2,58 ^a ± 0,051	2,60 ^a ± 0,076	2,44 ^a ± 0,116	2,82 ^a ± 0,167	2,37 ^a ± 0,173	2,24 ^a ± 0,173	2,75 ^a ± 0,122	2,31 ± 0,147

- srednja vrednost ± srednja greška
- ^{a,b} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$)

Izlaganje pilića u toku prve tri nedelje života delovanju MC, jona Pb²⁺ i AFTB₁ u kombinaciji sa ATN-om, kao ni sam ATN u količini od 0,5%, ne dovode do poremećaja antioksidativnih enzima u plućnom tkivu, a ni ne uzrokuju povećanje lipidne peroksidacije u ovom organu, što se jasno vidi u tabeli 17. Najosetljiviji mereni biohemijski parametar pluća je GPx. Intoksikacija jonima olova u ovom organu dovodi do inhibicije aktivnosti GPx, a unos jedne doze AFTB₁ oralnim putem uzrokuje statistički značajno veću ($P < 0,05$) aktivnost ovog enzima pluća.

Tabela 17. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u plućima pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	3,56 ^a ± 0,11	3,42 ^a ± 0,09	3,45 ^a ± 0,08	3,67 ^a ± 0,07	3,52 ^a ± 0,11	3,57 ^a ± 0,06	3,44 ^a ± 0,10	3,57 ^a ± 0,11
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	6,15 ^a ± 0,30	5,35 ^a ± 0,29	5,29 ^a ± 0,19	5,18 ^a ± 0,24	5,50 ^a ± 0,16	5,41 ^a ± 0,21	6,10 ^a ± 0,21	6,00 ^a ± 0,21
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	53,66 ^a ± 6,36	60,61 ^{a,c} ± 3,39	60,18 ^{a,c} ± 4,93	57,28 ^{a,c} ± 1,24	39,38 ^b ± 3,00	50,53 ^a ± 3,11	66,19 ^c ± 2,15	57,51 ^{a,c} ± 2,47
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	29,49 ^a ± 1,71	34,55 ^a ± 2,36	32,41 ^a ± 2,14	33,02 ^a ± 1,70	31,34 ^a ± 0,54	29,54 ^a ± 0,84	35,92 ^a ± 1,39	33,24 ^a ± 1,39
Lipidna peroksidacija (LP)	3,67 ^a ± 0,16	3,47 ^a ± 0,04	3,84 ^a ± 0,18	3,75 ^a ± 0,10	3,28 ^a ± 0,08	3,38 ^a ± 0,15	3,23 ^a ± 0,08	3,90 ^a ± 0,17
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$) 								

Unos ATN-a putem hrane u količini od 0,5%, kao ni unos MC i AFTB₁, ne izaziva nikakve statistički značajne promene u aktivnosti antioksidativnih enzima u mozgu pilića. Hronični unos Pb²⁺ jona kod pilića starosti 3 nedelje dovodi do poremećaja normalne biohemijske homeostaze u mozgu (tabela 18). Uočava se statistički značajno veća aktivnost CAT u ovom organu ($P < 0,05$), inhibicija peroksidazne aktivnosti, dok aktivnost SOD-1 ostaje nepromenjena i u nivou kontrolne grupe. Ovakvo delovanje jona ovog teškog metala dovodi mozak u stanje oksidativnog stresa, što rezultira i povećanim intenzitetom lipidne peroksidacije.

Tabela 18. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u mozgu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg proteina]	1,13 ^a ± 0,030	1,21 ^a ± 0,027	1,20 ^a ± 0,025	1,14 ^a ± 0,032	1,13 ^a ± 0,022	1,22 ^a ± 0,030	1,20 ^a ± 0,026	1,22 ^a ± 0,028
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	2,25 ^{a,c} ± 0,08	2,45 ^a ± 0,11	1,99 ^{a,c} ± 0,09	2,06 ^{a,c} ± 0,14	2,93 ^b ± 0,12	2,50 ^{a,b} ± 0,22	1,75 ^c ± 0,06	1,66 ^c ± 0,08
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	4,00 ^{a,b} ± 0,32	3,28 ^a ± 0,37	3,69 ^a ± 0,47	4,72 ^b ± 0,48	1,98 ^c ± 0,12	4,28 ^{a,c} ± 0,33	3,15 ^a ± 0,50	3,06 ^a ± 0,24
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	12,85 ^a ± 0,55	12,42 ^a ± 0,46	10,89 ^{a,b} ± 0,91	12,14 ^a ± 0,26	8,96 ^b ± 0,16	12,68 ^a ± 0,68	12,57 ^a ± 0,98	11,03 ^a ± 0,58
Lipidna peroksidacija (LP)	6,97 ^a ± 0,29	7,65 ^a ± 0,37	7,38 ^a ± 0,71	7,23 ^a ± 0,26	10,68 ^b ± 0,54	6,37 ^a ± 0,27	7,34 ^a ± 0,39	6,31 ^a ± 0,36
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$) 								

Duodenum se pokazao kao vrlo osetljivo tkivo na delovanje različitih toksina kod pilića (tabela 19). ATN dodat hranivu u količini od 5 grama po kilogramu ne dovodi ni do kakvih promena u aktivnosti enzima antioksidativne zaštite, niti dovodi do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije. Oralni unos MC uzrokuje blago povećanje aktivnosti CAT i statistički značajnu ($P<0,05$) inhibiciju PPx u duodenumu pilića, što rezultira i statistički značajnim povećanjem intenziteta lipidne peroksidacije u ovom tkivu. Još izraženije efekte po duodenum tronedeljnih pilića izazivaju joni olova koji dovode do povećane aktivnosti SOD-1, CAT i GPX i inhibicije aktivnosti PPx. Ovakav odgovor organizma je posledica oksidativnog stresa koji se ogleda u statistički značajno povećanom intenzitetu lipidne peroksidacije. Unos ATN-a istovremeno sa nekim od ova dva toksina ublažava i poništava neželjene posledice koje oni izazivaju. Oralnim unosom jedne doze AFTB₁ se ne remeti bitnije normalna biohemijska homeostaza ovog tkiva.

Tabela 19. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u duodenumu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Superoxid dismutaza (SOD-1) [IU/mg proteina]	2,45 ^a ± 0,054	2,67 ^a ± 0,050	3,07 ^a ± 0,055	2,82 ^a ± 0,045	3,91 ^b ± 0,050	2,78 ^a ± 0,058	2,48 ^a ± 0,051	2,60 ^a ± 0,049
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	13,83 ^{a,b} ± 0,26	12,14 ^a ± 0,98	15,01 ^b ± 0,45	12,81 ^a ± 1,26	16,68 ^b ± 0,98	13,01 ^a ± 0,29	14,11 ^{a,b} ± 0,36	14,32 ^{a,b} ± 0,29
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	0,63 ^a ± 0,055	0,65 ^a ± 0,065	0,68 ^a ± 0,065	0,61 ^a ± 0,071	1,04 ^b ± 0,165	0,79 ^{a,b} ± 0,122	0,80 ^{a,b} ± 0,090	0,80 ^{a,b} ± 0,091
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	4,26 ^a ± 0,38	4,71 ^a ± 1,14	2,57 ^b ± 0,19	3,92 ^a ± 0,32	2,58 ^b ± 0,32	4,17 ^a ± 0,15	3,58 ^{a,b} ± 0,37	3,60 ^{a,b} ± 0,30
Lipidna peroksidacija (LP)	1,18 ^a ± 0,301	1,16 ^a ± 0,297	1,71 ^b ± 0,316	1,41 ^{a,b} ± 0,307	1,98 ^b ± 0,404	1,27 ^a ± 0,241	1,32 ^a ± 0,361	1,40 ^{a,b} ± 0,262
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P<0,05$) 								

Hroničan oralni unos jona olova u vidu olovo-acetata dovodi do poremećaja biohemijske homeostaze u srčanom mišiću tronedeljnih pilića što rezultira statistički značajno ($P<0,05$) manjom aktivnošću SOD-1 u ovom tkivu i pojavom oksidativnog stresa, što se ogleda u povećanom intenzitetu lipidne

peroksidacije (tabela 20). Dodatak ATN-a u količini od 5 g/kg u hraniva kontaminirana jonima Pb^{2+} poništavaju se negativni efekti delovanja ovog teškog metala. Sam ATN, kao ni oralni unos MC ili AFTB₁ ne dovode do značajnijih promena u aktivnosti antioksidativnih enzima srčanog mišića pilića.

Tabela 20. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u srčanom mišiću pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	1,27 ^a ± 0022	1,33 ^a ± 0,025	1,28 ^a ± 0,021	1,31 ^a ± 0,024	0,56 ^b ± 0,022	1,22 ^a ± 0,021	1,28 ^a ± 0,023	1,33 ^a ± 0,024
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	5,04 ^a ± 0,53	5,09 ^a ± 0,27	5,17 ^a ± 0,16	4,66 ^{ab} ± 0,17	4,52 ^{ab} ± 0,15	4,77 ^a ± 0,14	3,95 ^b ± 0,09	4,18 ^{ab} ± 0,32
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	1,21 ^a ± 0,021	1,33 ^a ± 0,020	1,22 ^a ± 0,026	1,24 ^a ± 0,025	1,35 ^a ± 0,020	1,30 ^a ± 0,022	1,22 ^a ± 0,027	1,26 ^a ± 0,023
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	10,03 ^a ± 0,25	11,27 ^a ± 0,28	11,24 ^a ± 0,33	10,96 ^a ± 0,32	9,85 ^a ± 0,27	10,34 ^a ± 0,29	10,90 ^a ± 0,29	11,24 ^a ± 0,37
Lipidna peroksidacija (LP)	5,11 ^a ± 0,20	5,08 ^a ± 0,10	5,01 ^a ± 0,03	4,93 ^a ± 0,11	8,25 ^b ± 0,48	7,46 ^b ± 0,67	5,47 ^a ± 0,20	5,44 ^a ± 0,25
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$) 								

U tabeli 21. su prikazani rezultati merenja aktivnosti enzima antioksidativne zaštite i lipidne peroksidacije u mišićnom tkivu grudi (belog mesa) pilića hranjenih sa ili bez dodatka ATN-a u količini od 0,5% u kombinaciji sa odabranim toksinima. Dobijene vrednosti svih izmerenih parametara slezine pilića koji su bili izloženi delovanju toksina su bile granicama vrednosti dobijenih za kontrolnu i ATN grupu pilića. Statistički značajno ($P < 0,05$) u odnosu na druge eksperimentalne grupe su se razlikovale jedino povećane vrednosti aktivnosti CAT pilića izloženih delovanju MC i smanjena aktivnost CAT kod pilića koji su hronično unosili u organizam povećane doze Pb^{2+} jona.

Tabela 21. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u mišićnom tkivu grudi (belo meso) pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksinina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Superoxid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	0,46 ^a ± 0,012	0,42 ^a ± 0,009	0,43 ^a ± 0,008	0,43 ^a ± 0,010	0,44 ^a ± 0,011	0,40 ^a ± 0,007	0,45 ^a ± 0,009	0,44 ^a ± 0,012
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	0,91 ^a ± 0,079	0,95 ^a ± 0,068	1,37 ^b ± 0,215	1,13 ^{ab} ± 0,089	0,68 ^c ± 0,072	0,92 ^a ± 0,060	0,87 ^a ± 0,059	0,78 ^{a,c} ± 0,046
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	1,05 ^a ± 0,065	1,16 ^a ± 0,078	0,96 ^a ± 0,080	1,08 ^a ± 0,079	0,98 ^a ± 0,056	0,99 ^a ± 0,073	1,15 ^a ± 0,093	1,03 ^a ± 0,022
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	4,15 ^a ± 0,10	3,46 ^a ± 0,06	4,33 ^a ± 0,19	3,41 ^a ± 0,11	3,11 ^a ± 0,15	3,32 ^a ± 0,15	2,90 ^a ± 0,11	2,86 ^a ± 0,13
Lipidna peroksidacija (LP)	1,37 ^a ± 0,039	1,64 ^a ± 0,033	1,41 ^a ± 0,035	1,75 ^a ± 0,070	1,40 ^a ± 0,019	1,40 ^a ± 0,054	1,49 ^a ± 0,048	1,45 ^a ± 0,068
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$) 								

Aktivnost antioksidativnih enzima i intenzitet lipidne peroksidacije je određen u mišićnom tkivu bataka (crveno meso) pilića koji su putem hrane unosili ATN u količini od 0,5% i bili izloženi delovanju MC, Pb²⁺ jona ili AFTB₁ (tabela 22). Iz dobijenih rezultata se uočava da toksini nisu značajnije remetili normalnu biohemijsku homeostazu u ovom tkivu. U pojedinim slučajevima je došlo do povećanja aktivnosti određenih enzima u odnosu na aktivnost tih enzima kod pilića kontrolne grupe, ali ne i ATN grupe pilića. Nijedan od primenjenih toksina nije doveo do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije u crvenom mesu pilića.

Tabela 22. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u mišićnom tkivu bataka (crveno meso) pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Superoxid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	0,84 ^a ± 0,026	0,95 ^a ± 0,038	0,84 ^a ± 0,027	0,89 ^a ± 0,035	0,94 ^a ± 0,020	0,95 ^a ± 0,008	0,87 ^a ± 0,021	0,88 ^a ± 0,033
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	1,65 ^{ab} ± 0,12	1,53 ^a ± 0,09	1,65 ^a ± 0,10	1,99 ^b ± 0,08	1,50 ^a ± 0,13	1,68 ^{ab} ± 0,16	1,83 ^{ab} ± 0,14	1,63 ^a ± 0,18
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	1,58 ^{ab} ± 0,09	1,80 ^{ac} ± 0,01	1,45 ^b ± 0,05	2,11 ^c ± 0,01	2,03 ^c ± 0,15	1,81 ^{ac} ± 0,14	1,41 ^{ab} ± 0,10	2,17 ^c ± 0,18
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	6,21 ^{ab} ± 0,39	4,94 ^{ac} ± 0,37	5,63 ^a ± 0,27	5,56 ^a ± 0,21	6,56 ^b ± 0,47	5,00 ^a ± 0,21	4,03 ^c ± 0,13	4,27 ^c ± 0,33
Lipidna peroksidacija (LP)	2,40 ^a ± 0,09	2,72 ^a ± 0,12	2,68 ^a ± 0,21	2,51 ^a ± 0,18	2,30 ^a ± 0,08	2,38 ^a ± 0,10	2,90 ^a ± 0,17	2,33 ^a ± 0,12

• srednja vrednost ± srednja greška
• ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju (P<0,05)

U tabeli 23. su prikazani rezultati konverzije hrane i prirasta pilića u toku prve tri nedelje života tokom kojih su hronično ili akutno unosili MC, jone olova u vidu olovo-acetata i mikotoksin AFTB₁, kao i preparat ATN. Nisu uočene statističke značajne razlike između eksperimentalnih grupa.

Tabela 23. Prirast i konverzija hrane u toku tronedelnog uzgoja pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN
Prirast [g/dan]						
1. nedelja	13,73 ± 1,14	14,02 ± 0,92	13,57 ± 1,03	15,20 ± 1,11	14,22 ± 0,57	13,64 ± 1,08
2. nedelja	27,87 ± 0,87	29,02 ± 1,16	30,14 ± 0,98	26,77 ± 2,23	25,45 ± 1,65	29,74 ± 0,78
3. nedelja	49,26 ± 1,65	50,20 ± 2,00	51,26 ± 1,54	48,87 ± 2,19	50,24 ± 1,36	47,83 ± 2,16
Konverzija [kg/kg]	1,60	1,58	1,62	1,60	1,60	1,57

Relativne mase unutrašnjih organa pilića izloženih delovanju MC, Pb²⁺ i AFTB₁ hranjenih sa ili bez dodatka ATN-a u količini od 0,5% su prikazani u tabeli 24. Mase unutrašnjih organa su bile ujednačene između eksperimentalnih grupa.

Tabela 24. Relativne mase unutrašnjih organa pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFTB ₁	AFTB ₁ -ATN
Jetra [g/100g t.m.]	2,40 ± 0,25	2,72 ± 0,22	2,81 ± 0,43	2,88 ± 0,50	2,55 ± 0,22	2,82 ± 0,30	2,45 ± 0,27	2,49 ± 0,13
Bubrezi [g/100g t.m.]	0,54 ± 0,011	0,56 ± 0,009	0,57 ± 0,012	0,55 ± 0,010	0,57 ± 0,010	0,55 ± 0,011	0,54 ± 0,009	0,57 ± 0,012
Žlezdani želudac [g/100g t.m.]	0,52 ± 0,09	0,56 ± 0,07	0,59 ± 0,07	0,51 ± 0,12	0,52 ± 0,06	0,58 ± 0,04	0,53 ± 0,07	0,52 ± 0,11
Mišićni želudac [g/100g t.m.]	2,08 ± 0,16	2,24 ± 0,21	2,41 ± 0,32	2,08 ± 0,29	2,34 ± 0,23	2,36 ± 0,19	2,17 ± 0,22	2,18 ± 0,22
Duodenum [g/100g t.m.]	0,38 ± 0,03	0,40 ± 0,03	0,37 ± 0,04	0,38 ± 0,02	0,41 ± 0,03	0,39 ± 0,04	0,40 ± 0,03	0,37 ± 0,02
Slepo crevo [g/100g t.m.]	0,31 ± 0,03	0,33 ± 0,02	0,34 ± 0,07	0,31 ± 0,08	0,35 ± 0,08	0,31 ± 0,13	0,35 ± 0,05	0,36 ± 0,08
Pluća [g/100g t.m.]	0,65 ± 0,06	0,68 ± 0,05	0,63 ± 0,04	0,65 ± 0,06	0,66 ± 0,05	0,67 ± 0,04	0,65 ± 0,05	0,63 ± 0,04
Pankreas [g/100g t.m.]	0,33 ± 0,04	0,37 ± 0,04	0,41 ± 0,09	0,42 ± 0,15	0,34 ± 0,04	0,40 ± 0,07	0,38 ± 0,07	0,38 ± 0,08
Slezina [g/100g t.m.]	0,073 ± 0,019	0,100 ± 0,026	0,093 ± 0,030	0,102 ± 0,027	0,079 ± 0,020	0,092 ± 0,021	0,071 ± 0,015	0,090 ± 0,020
Fabricijeva burza [g/100g t.m.]	0,25 ± 0,09	0,26 ± 0,02	0,24 ± 0,07	0,16 ± 0,07	0,22 ± 0,05	0,29 ± 0,05	0,29 ± 0,11	0,28 ± 0,11
Srcce [g/100g t.m.]	0,65 ± 0,10	0,68 ± 0,06	0,72 ± 0,10	0,68 ± 0,16	0,68 ± 0,08	0,70 ± 0,10	0,61 ± 0,10	0,61 ± 0,07

• srednja vrednost ± srednja greška

U tabeli 25 su prikazani rezultati merenja odabranih delova trupa pilića koji su bili izloženi delovanju MC, jona olova AFTB₁ i ATN-a. Nisu uočene statistički značajne razlike u relativnim masama delova trupa između eksperimentalnih grupa.

Tabela 25. Relativne mase pojedinih delova trupa pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju mikrocistina, jona olova ili aflatoksina

	Eksperimentalna grupa							
	Kontrola	ATN	MC	MC-ATN	Pb	Pb-ATN	AFT	AFT-ATN
Grudi [g/100g t.m.]	20,31 ± 1,41	18,63 ± 2,64	20,33 ± 2,76	18,34 ± 1,47	19,40 ± 1,53	19,24 ± 0,84	18,62 ± 1,33	18,67 ± 0,95
Batak [g/100g t.m.]	9,76 ± 0,64	9,46 ± 0,49	10,26 ± 1,25	8,97 ± 0,91	9,49 ± 0,53	9,30 ± 0,67	9,52 ± 0,43	9,37 ± 0,52
Karabatak [g/100g t.m.]	10,93 ± 0,59	10,83 ± 0,64	11,15 ± 1,63	10,25 ± 0,65	10,17 ± 0,60	9,54 ± 0,47	10,41 ± 0,45	10,70 ± 0,42
Krila [g/100g t.m.]	10,14 ± 0,71	10,12 ± 0,60	11,28 ± 1,33	9,91 ± 0,49	10,27 ± 0,61	10,03 ± 0,41	10,64 ± 0,44	10,40 ± 0,38
Glava [g/100g t.m.]	3,60 ± 0,43	3,82 ± 0,27	4,03 ± 0,33	6,97 ± 0,44	3,83 ± 0,31	4,05 ± 0,25	3,79 ± 0,23	3,73 ± 0,24
Noge [g/100g t.m.]	4,64 ± 0,44	4,58 ± 0,34	4,97 ± 0,47	4,34 ± 0,42	4,82 ± 0,36	4,50 ± 0,37	4,43 ± 0,23	4,48 ± 0,34
• srednja vrednost ± srednja greška								

5.3. Ogled 3

Uticaj delovanja PK i OTA na odabrane serumske parametre tronedeljnih pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN-a u hranivu prikazan je u tabeli 26. Unos ATN-a nije doveo ni do kakvih promena u nivou merenih pokazatelja u odnosu na kontrolnu grupu pilića. PK i OTA nisu prouzrokovali promenu koncentracije proteina, glukoze, jona kalcijuma i aktivnost AMY u serumu, ali su doveli do statistički značajnog ($P < 0,05$) porasta koncentracije kreatinina seruma. ATN je uspešno poništio takav efekat delovanja ova dva toksina.

Tabela 26. Sadržaj pojedinih parametara krvog seruma pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Proteini [g/l]	24,57 ^a ± 0,751	24,80 ^a ± 0,735	25,71 ^a ± 0,421	23,86 ^a ± 1,056	24,75 ^a ± 1,250	24,50 ^a ± 0,865
Glukoza [μmol/l]	13,88 ^a ± 0,206	13,90 ^a ± 0,169	12,44 ^a ± 0,392	13,29 ^a ± 0,641	13,65 ^a ± 0,526	13,88 ^a ± 0,566
Kreatinin [mmol/l]	20,67 ^a ± 0,494	21,80 ^a ± 0,860	23,80 ^b ± 0,374	20,43 ^a ± 1,307	25,25 ^b ± 1,652	21,00 ^a ± 1,732
Joni kalcijuma [mmol/l]	2,24 ^a ± 0,084	2,36 ^a ± 0,202	2,44 ^a ± 0,049	2,42 ^a ± 0,072	2,31 ^a ± 0,089	2,32 ^a ± 0,039
α-amilaza (AMY) [IU/ml seruma]	888,25 ^a ± 40,07	1044,78 ^a ± 50,12	919,56 ^a ± 62,49	927,60 ^a ± 119,87	972,48 ± 142,10	963,45 ^a ± 109,56
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$) 						

U tabeli 27 su prikazani rezultati aktivnosti odabranih enzima jetre pilića koji su bili hranjeni sa ili bez dodatka ATN-om u količini od 5 g/kg hraniva i bili izloženi delovanju PK i OTA. Uočava se da je oralni unos PK i OTA doveo do statistički značajnog ($P < 0,05$) pada aktivnosti ALP jetre. U prisustvu ATN negativno delovanje PK nije ispoljeno, ali ne i za OTA. Odabrani toksini nisu doveli do poremećaja aktivnosti ALT. Hroničan oralni unos PK i jedna primenjena doza OTA su doveli do određenih blažih variranja aktivnosti GGT i AMY ali bez značajnijih razlika u odnosu na kontrolnu ili ATN grupu pilića.

Tabela 27. Aktivnost ALP, ALT, GGT i AMY jetre pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata (PK) ili ohratoksina (OTA)

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Alkalna fosfataza (ALP) [IU/ mg proteina]	37,68 ^a ± 3,350	37,79 ^a ± 5,487	29,87 ^b ± 1,063	38,75 ^a ± 3,157	22,73 ^c ± 1,976	17,87 ^c ± 2,412
Alanin aminotransferaza (ALT) [IU/ mg proteina]	34,06 ^a ± 4,440	34,61 ^a ± 3,231	31,68 ^a ± 2,248	28,70 ^a ± 2,044	34,75 ^a ± 3,503	33,54 ^a ± 4,534
γ-glutamil transferaza (GGT) [IU/ mg proteina]	3,21 ^{a,c} ± 0,778	2,55 ^{a,b} ± 0,266	2,26 ^b ± 0,278	2,45 ^{a,b} ± 0,469	3,54 ^c ± 0,194	3,41 ^{a,c} ± 0,633
α-amilaza (AMY) [IU/ mg proteina]	7,63 ^a ± 0,252	9,37 ^{a,b} ± 1,889	7,53 ^a ± 0,461	9,58 ^{a,b} ± 1,819	12,46 ^b ± 1,994	8,05 ^a ± 0,995
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$) 						

U tabeli 28 su prikazani rezultati delovanja PK i OTA na koncentraciju Hb, aktivnost enzima antioksidativne zaštite i intenzitet lipidne peroksidacije u eritrocitima (hemolizatu) pilića starih 3 nedelje. Iz rezultata se jasno vidi da hroničan unos PK u organizam ne dovodi do promena u koncentraciji Hb ili aktivnosti PPx u odnosu na piliće kontrolne i ATN grupe, ali izaziva statistički značajno ($P<0,05$) povećanje aktivnosti svih ostalih antioksidativnih enzima (SOD-1, CAT, GPx i GST) što rezultira oksidativnim stresom i povećanjem intenziteta lipidne peroksidacije u ovim ćelijama. Oralni unos ATN-a zajedno sa PK poništava u potpunosti negativne efekte koje ovaj herbicid ispoljava. Primena jedne doze OTA ne remeti normalnu biohemijsku homeostazu eritrocita.

Tabela 28. Koncentracija hemoglobina, aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx, PPx i GST) i intenzitet lipidne peroksidacije u krvnom hemolizatu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata (PK) ili ohratoksina (OTA)

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Hemoglobin (Hb) [g/l]	86,29 ^a ± 3,17	87,61 ^a ± 3,02	94,69 ^a ± 6,88	89,13 ^a ± 3,96	82,01 ^a ± 4,14	93,49 ^a ± 2,53
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg Hb]	489,34 ^a ± 15,16	520,87 ^a ± 10,55	620,54 ^b ± 14,38	508,75 ^a ± 12,36	490,98 ^a ± 10,03	487,66 ^a ± 9,56
Katalaza (CAT) [IU/mg Hb]	4,70 ^a ± 0,42	4,86 ^a ± 0,67	6,28 ^b ± 0,32	5,26 ^a ± 0,35	5,60 ^{ab} ± 0,44	4,01 ^a ± 0,29
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg Hb]	8,14 ^a ± 0,27	8,96 ^a ± 0,25	9,52 ^b ± 0,17	8,77 ^a ± 0,20	8,09 ^a ± 0,16	8,04 ^a ± 0,34
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg Hb]	18,26 ^a ± 0,52	19,47 ^a ± 0,61	20,13 ^a ± 0,44	19,01 ^a ± 0,68	18,42 ^a ± 0,69	18,33 ^a ± 0,78
Glutation S-transferaza (GST) [IU/mg Hb]	111,19 ^a ± 3,42	107,44 ^a ± 4,11	132,17 ^b ± 3,89	113,88 ^a ± 2,52	105,28 ^a ± 4,20	112,78 ^a ± 2,88
Lipidna peroksidacija (LP)	2,53 ^a ± 0,108	2,67 ^a ± 0,089	3,88 ^b ± 0,115	2,44 ^a ± 0,082	2,83 ^a ± 0,133	2,76 ^a ± 0,142

- srednja vrednost ± srednja greška
- ^{a,b} Rezultati unutar istg reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P<0,05$)

Uticaj herbicida PK na oksidativne procese u tkivu jetre se ogleda u statistički značajnom ($P<0,05$) povećanju aktivnosti CAT i GST, dok aktivnost SOD-1 i peroksidaza ostaje nepromenjena (tabela 29). Enzimi zaštite od reaktivnih kisoničnih čestica nisu dovoljno efikasni u zaštiti od štetnog delovanja ovog toksina na jetru, što se vidi iz povećanog intenziteta lipidne peroksidacije. Unos ATN-a u količini od 5 g/kg hraniva zajedno sa PK ima protektivno delovanje.

Primena jedne doze OTA je dovela do statistički značajne inhibicije SOD-1 i povećanja intenziteta lipidne peroksidacije u tkivu ovog organa. I u prisustvu ATN posledice negativnog delovanja ovog mikotoksina su utvrđene.

Tabela 29. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx, PPx i GST) i intenzitet lipidne peroksidacije u jetri pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg proteina]	17,34 ^a ± 0,65	19,25 ^a ± 0,71	31,52 ^b ± 0,45	20,22 ^a ± 0,75	10,36 ^c ± 0,56	10,75 ^c ± 0,79
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	17,00 ^a ± 1,17	19,15 ^a ± 0,70	28,27 ^b ± 0,84	16,86 ^a ± 0,63	16,93 ^a ± 1,42	19,68 ^a ± 0,62
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	2,31 ^a ± 0,070	2,45 ^a ± 0,062	2,37 ^a ± 0,064	2,38 ^a ± 0,073	2,14 ^a ± 0,071	2,42 ^a ± 0,085
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	60,11 ^a ± 2,13	66,84 ^a ± 2,67	61,73 ^a ± 3,11	68,14 ^a ± 1,78	59,62 ^a ± 2,87	59,98 ^a ± 2,33
Glutation S-transferaza (GST) [IU/mg proteina]	341,72 ^a ± 7,87	320,16 ^a ± 8,33	452,68 ^b ± 9,14	360,23 ^a ± 7,55	318,03 ^a ± 7,59	344,92 ^a ± 8,76
Lipidna peroksidacija (LP)	1,90 ^a ± 0,112	1,86 ^a ± 0,089	1,67 ^a ± 0,024	1,87 ^a ± 0,037	2,05 ^a ± 0,123	2,03 ^a ± 0,182
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$) 						

U tabeli 30 su prikazani rezultati određivanja aktivnosti enzima antioksidativne zaštite i intenziteta lipidne peroksidacije u bubrezima pilića koji su bili izloženi delovanju herbicida PK i mikotoksina OTA u kombinaciji sa preparatom ATN. Uočava se da su oba toksina dovela do statistički značajne ($P < 0,05$) promene aktivnosti skoro svih merenih enzima i doveli ovaj organ u stanje oksidativnog stresa. PK je doveo do povećanja aktivnosti SOD-1 i GPx, smanjenja aktivnosti CAT, dok na aktivnost PPx nije uticao. ATN je u potpunosti poništio ovakve efekte delovanja PK. Primena jedne doze OTA je dovela do inhibicije aktivnosti sva četiri merena enzima (SOD-1, CAT, GPx i PPx) koje unos ATN-a nije uspeo da ublaži ili poništi.

Tabela 30. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u bubrežima pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	10,63 ^a ± 0,26	11,14 ^a ± 0,30	17,85 ^b ± 0,44	10,21 ^a ± 0,33	5,02 ^c ± 0,28	4,96 ^c ± 0,30
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	71,15 ^a ± 2,75	79,46 ^a ± 3,82	58,56 ^b ± 2,76	66,65 ^{a,b} ± 4,21	51,83 ^b ± 2,93	62,59 ^b ± 3,87
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	16,76 ^a ± 1,30	17,25 ^a ± 1,30	8,41 ^b ± 0,49	17,37 ^a ± 3,14	10,71 ^{a,b} ± 1,68	15,77 ^a ± 2,41
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	29,01 ^{a,b} ± 1,39	32,76 ^a ± 2,46	27,88 ^{a,b} ± 1,78	33,80 ^a ± 3,02	23,72 ^b ± 2,83	23,17 ^b ± 3,35
Lipidna peroksidacija (LP)	2,67 ^a ± 0,059	2,62 ^a ± 0,107	3,13 ^a ± 0,050	2,22 ^a ± 0,132	4,57 ^c ± 0,472	2,64 ^a ± 0,069

• srednja vrednost ± srednja greška
• ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju (P<0,05)

Pankreas nije ciljani organ delovanja PK ili OTA (tabela 31). Unos ova dva toksina, sa ili bez istovremenog unosa ATN-a pute hrane, nije doveo do značajnijih promena biohemijske homeostaze u ovom organu, niti ga doveo u stanje oksidativnog stresa. Uočava se da su oba toksina dovela do statistički značajnog (P<0,05) povećanja aktivnosti CAT. ATN je uspeo da poništi taj efekat kada je u pitanju PK, ali ne i OTA.

Tabela 31. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u pankreasu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	4,02 ^a ± 0,12	4,26 ^a ± 0,14	4,22 ^a ± 0,14	4,09 ^a ± 0,11	4,18 ^a ± 0,15	4,20 ^a ± 0,16
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	6,09 ^a ± 0,23	6,02 ^a ± 0,22	7,35 ^b ± 0,57	5,59 ^a ± 0,32	9,52 ^c ± 0,29	7,63 ^b ± 0,39
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	0,28 ^a ± 0,005	0,32 ^a ± 0,006	0,35 ^a ± 0,010	0,31 ^a ± 0,008	0,29 ^a ± 0,008	0,30 ^a ± 0,009
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	2,12 ^a ± 0,16	2,17 ^a ± 0,15	2,45 ^a ± 0,22	2,34 ^a ± 0,19	2,11 ^a ± 0,16	2,61 ^a ± 0,04
Lipidna peroksidacija (LP)	1,91 ^a ± 0,16	2,20 ^a ± 0,17	2,08 ^a ± 0,13	1,75 ^a ± 0,04	1,91 ^a ± 0,04	1,69 ^a ± 0,08

• srednja vrednost ± srednja greška
• ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju (P<0,05)

U tabeli 32 su prikazani rezultati merenja aktivnosti SOD-1, CAT, PPx, GPx i intenziteta lipidne peroksidacije u slezini pilića izloženih delovanju PK i OTA i hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN-a u hranivo. Iz rezultata se vidi da PK ne remeti aktivnost ovih enzima u odnosu na piliće kontrolne grupe, dok OTA izaziva statistički značajne ($P<0,05$) poremećaje. Primena jedne doze OTA dovodi do inhibicije aktivnosti slezinske SOD-1 i do povećanja aktivnosti ostalih merenih enzima, što dovodi i do povećanog intenziteta lipidne peroksidacije. Unos ATN-a nema nikakvog efekta na ovakvo delovanje OTA u slezini.

Tabela 32. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u slezini pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	3,60 ^a ± 0,10	3,82 ^a ± 0,09	3,65 ^a ± 0,10	3,68 ^a ± 0,08	5,14 ^b ± 0,09	5,01 ^b ± 0,13
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	4,27 ^a ± 0,18	4,14 ^a ± 0,11	4,44 ^a ± 0,22	4,03 ^a ± 0,14	5,32 ^b ± 0,15	5,18 ^b ± 0,12
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	0,68 ^a ± 0,014	0,72 ^a ± 0,033	0,69 ^a ± 0,022	0,69 ^a ± 0,027	0,85 ^b ± 0,026	0,88 ^b ± 0,037
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	13,50 ^a ± 0,63	13,71 ^a ± 0,60	14,29 ^a ± 1,03	13,50 ^a ± 0,68	16,66 ^b ± 0,18	17,40 ^b ± 0,81
Lipidna peroksidacija (LP)	2,25 ^a ± 0,172	2,07 ^a ± 0,057	2,24 ^a ± 0,055	2,30 ^a ± 0,074	2,73 ^b ± 0,109	2,21 ^a ± 0,048
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P<0,05$) 						

Aktivnost enzima antioksidativne zaštite i intenzitet lipidne peroksidacije u plućima pilića izloženih delovanju PK ili OTA i hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN-a u hranivo je prikazana u tabeli 33. Iz rezultata se jasno vidi da su pluća jedan od ciljanih organa delovanja PK. Hroničnim unosom ovog herbicida u organizam dovodi do statistički značajnog ($P<0,05$) povećanja aktivnosti SOD-1 i CAT, dok aktivnosti peroksidaza ostaju u nivou pilića kontrolne grupe. PK izaziva i povećan intenzitet lipidne peroksidacije u plućnom tkivu. Zajedničkim unosom ATN-a sa PK se sprečava poremećaj biohemijske ravnoteže u plućima. OTA i ATN sami i u kombinaciji OTA-ATN ne dovode do poremećaja merenih parametara u ovom organu.

Tabela 33. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u plućima pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	3,42 ^a ± 0,08	3,56 ^a ± 0,08	6,87 ^b ± 0,10	3,80 ^a ± 0,11	3,28 ^a ± 0,10	3,35 ^a ± 0,09
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	5,69 ^{a,c} ± 0,12	5,23 ^a ± 0,14	8,14 ^b ± 0,19	6,34 ^c ± 0,19	5,02 ^a ± 0,11	5,55 ^a ± 0,27
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	1,16 ^a ± 0,032	1,24 ^a ± 0,029	1,20 ^a ± 0,030	1,21 ^a ± 0,030	1,15 ^a ± 0,033	1,17 ^a ± 0,030
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	29,84 ^a ± 0,98	33,36 ^a ± 1,28	33,30 ^a ± 0,85	30,44 ^a ± 1,16	31,72 ^a ± 0,41	30,97 ^a ± 0,83
Lipidna peroksidacija (LP)	3,20 ^a ± 0,12	3,05 ^a ± 0,16	3,97 ^b ± 0,09	3,28 ^a ± 0,13	2,87 ^a ± 0,21	2,90 ^a ± 0,24
• srednja vrednost ± srednja greška						
• ^{a,b} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju (P<0,05)						

Rezultati delovanja PK, OTA i ATN-a na oksidativni status mozga su prikazani u tabeli 34. Nijedna od primenjenih supstanci nije dovela do povećane produkcije reaktivnih kiseoničnih čestica i do pojave oksidativnog stresa u ovom organu. Svi mereni parametri su bili u nivou rezultata dobijenih u mozgu pilića kontrolne grupe.

Tabela 34. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u mozgu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	1,26 ± 0,028	1,35 ± 0,025	1,28 ± 0,031	1,28 ± 0,024	1,36 ± 0,030	1,30 ± 0,026
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	1,95 ± 0,14	1,68 ± 0,04	2,02 ± 0,09	2,26 ± 0,09	2,12 ± 0,15	2,10 ± 0,08
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	3,01 ± 0,20	2,94 ± 0,21	3,06 ± 0,27	3,45 ± 0,24	2,73 ± 0,22	3,41 ± 0,59
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	11,34 ± 0,41	12,48 ± 0,41	9,70 ± 0,57	12,28 ± 0,47	9,97 ± 0,40	10,28 ± 0,80
Lipidna peroksidacija (LP)	6,21 ± 0,23	6,29 ± 0,11	5,93 ± 0,21	5,91 ± 0,22	6,75 ± 0,15	6,31 ± 0,19
• srednja vrednost ± srednja greška						

U tabeli 35 su prikazani rezultati delovanja PK, OTA i ATN-a na aktivnosti antioksidativnih enzima i intenzitet lipidne peroksidacije u duodenumu

tronedeljnih pilića. Iz rezultata se vidi da ATN i PK ne remete oksidativni status u ovom organu pilića. Jedini izuzetak je povećana aktivnost GPx kod pilića izloženih delovanju PK, ali oralni unos ATN-a uspešno otklanja ovake posledice delovanja ovog herbicida. Jedna primenjena doza OTA je dovela do statistički značajnih promena u aktivnosti enzima antioksidativne zaštite pilića. Uočava se inhibicija aktivnosti CAT, povećanje aktivnosti peroksidaza i blago (ne statistički značajno) povećanje intenziteta lipidne peroksidacije. Kod pilića OTA-ATN grupe nisu uočene nikakve promene aktivnosti enzima u odnosu na piliće kontrolne i ATN grupe.

Tabela 35. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u duodenumu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Superoxid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	2,64 ^a ± 0,065	2,52 ^a ± 0,058	2,68 ^a ± 0,054	2,60 ^a ± 0,060	2,51 ^a ± 0,051	2,54 ^a ± 0,055
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	13,73 ^a ± 0,12	13,56 ^a ± 0,20	13,35 ^a ± 0,29	13,53 ^a ± 0,54	10,24 ^b ± 0,13	13,89 ^a ± 0,72
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	0,93 ^a ± 0,132	0,77 ^a ± 0,184	1,85 ^b ± 0,228	0,72 ^a ± 0,114	1,57 ^b ± 0,105	0,89 ^a ± 0,123
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	2,76 ^{a,c} ± 0,41	2,39 ^a ± 0,29	2,33 ^a ± 0,29	2,60 ^a ± 0,26	3,20 ^b ± 0,17	3,10 ^{b,c} ± 0,38
Lipidna peroksidacija (LP)	1,44 ^a ± 0,377	1,46 ^a ± 0,324	1,38 ^a ± 0,286	1,44 ^a ± 0,289	1,70 ^a ± 0,464	1,42 ^a ± 0,284
<ul style="list-style-type: none"> • srednja vrednost ± srednja greška • ^{a,b,c} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju (P<0,05) 						

Hroničan unos PK u organizam pilića oralnim putem tokom 3 nedelje dovodi do inhibicije aktivnosti CAT srčanog mišića, što rezultira povećanim intenzitetom lipidne peroksidacije u ovom organu (tabela 36). Istovremeni unos ATN-a putem hrane, u količini od 0,5% sprečava negativne posledice delovanja PK. Jedna doza OTA ne remeti normalnu aktivnost enzima antioksidativne zaštite.

Tabela 36. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u srcu pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	1,46 ^a ± 0,046	1,53 ^a ± 0,042	1,48 ^a ± 0,038	1,53 ^a ± 0,057	1,52 ^a ± 0,041	1,42 ^a ± 0,046
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	4,03 ^a ± 0,10	4,36 ^a ± 0,08	3,12 ^a ± 0,17	3,91 ^a ± 0,08	4,03 ^a ± 0,13	3,92 ^a ± 0,16
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	1,84 ^a ± 0,061	2,06 ^a ± 0,072	1,92 ^a ± 0,069	1,95 ^a ± 0,078	1,80 ^a ± 0,064	2,00 ^a ± 0,075
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	13,36 ^a ± 0,28	14,12 ^a ± 0,29	13,84 ^a ± 0,34	13,30 ^a ± 0,22	14,24 ^a ± 0,25	14,00 ^a ± 0,31
Lipidna peroksidacija (LP)	5,44 ^a ± 0,20	5,41 ^a ± 0,17	6,04 ^b ± 0,13	4,87 ^a ± 0,16	5,92 ^b ± 0,40	5,61 ^{a,b} ± 0,19

• srednja vrednost ± srednja greška
• ^{a,b} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$)

Merenjem aktivnosti enzima antioksidativne zaštite i intenziteta lipidne peroksidacije je utvrđeno da oralni unos ATN-a, PK i OTA ne dovode do poremećaja normalne biohemijske homeostaze u mišićnom tkivu grudi tronedeljnih pilića (belom mesu) (tabela 37).

Tabela 37. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u mišićnom tkivu grudi (belom mesu) pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	0,32 ^a ± 0,008	0,30 ^a ± 0,006	0,27 ^a ± 0,008	0,31 ^a ± 0,010	0,32 ^a ± 0,005	0,33 ^a ± 0,011
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	0,876 ^a ± 0,094	0,777 ^a ± 0,049	0,737 ^a ± 0,064	0,827 ^a ± 0,090	0,815 ^a ± 0,076	0,838 ^a ± 0,062
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	1,05 ^a ± 0,054	1,04 ^a ± 0,044	1,09 ^a ± 0,077	1,13 ^a ± 0,065	0,99 ^a ± 0,053	1,24 ^a ± 0,095
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	3,44 ^a ± 0,14	3,43 ^a ± 0,07	4,17 ^b ± 0,09	3,52 ^a ± 0,17	3,23 ^a ± 0,12	3,89 ^{a,b} ± 0,18
Lipidna peroksidacija (LP)	1,50 ^a ± 0,056	1,61 ^a ± 0,047	1,34 ^a ± 0,059	1,31 ^a ± 0,038	1,76 ^a ± 0,120	1,52 ^a ± 0,049

• srednja vrednost ± srednja greška
• ^{a,b} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$)

Rezultati analize antioksidativnih enzima seruma i intenziteta lipidne peroksidacije mišićnog tkiva bataka (crveno meso) su u saglasnosti sa onima dobijenim za mišićno tkivo grudi. ATN, PK i OTA ne dovode do promena u aktivnosti odabranih enzima i ine izazivaju oksidativni stres u ovom tkivu (tabela 38).

Tabela 38. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) i intenzitet lipidne peroksidacije u mišićnom tkivu bataka (crvenom mesu) pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Superoskid dismutaza (SOD-1) [IU/mg prot.]	0,75 ± 0,014	0,81 ± 0,016	0,79 ± 0,014	0,80 ± 0,015	0,76 ± 0,011	0,75 ± 0,011
Katalaza (CAT) [IU/mg proteina]	1,77 ± 0,10	1,88 ± 0,14	2,27 ± 0,22	1,82 ± 0,14	2,62 ± 0,20	2,04 ± 0,16
Gvajakol peroksidaza (GPx) [IU/mg proteina]	2,56 ± 0,14	1,91 ± 0,13	2,47 ± 0,19	2,31 ± 0,09	2,23 ± 0,15	2,06 ± 0,13
Pirogalol peroksidaza (PPx) [IU/mg proteina]	5,42 ± 0,21	4,46 ± 0,17	6,27 ± 0,31	5,77 ± 0,39	5,73 ± 0,31	5,27 ± 0,19
Lipidna peroksidacija (LP)	3,33 ± 0,11	3,71 ± 0,14	3,44 ± 0,09	3,60 ± 0,22	3,62 ± 0,21	3,74 ± 0,09

• srednja vrednost ± srednja greška

U tabeli 39 su prikazani rezultati merenja telesne mase i potrošnje hrane pilića koji su u toku tri nedelje primali PK oralnim putem, sa ili bez ATN-a dodatog hranivu u količini od 0,5%. ATN nije uticao na prirast pilića. Hronični oralni unos PK je doveo do statistički značajno ($P < 0,05$) manjeg prirasta pilića u toku treće nedelje eksperimenta. U prisustvu ATN ove negativne posledice delovanja PK su otklonjene. Konverzija hrane je bila ujednačena za sve četiri eksperimentalne grupe.

Tabela 39. Prirast i konverzija hrane u toku tronedeljnog uzgoja pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa			
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN
1. nedelja	14,37 ^a ± 0,97	15,16 ^a ± 1,44	14,67 ^a ± 1,23	15,24 ^a ± 0,87
2. nedelja	29,78 ^a ± 1,27	30,06 ^a ± 1,25	29,41 ^a ± 1,18	27,77 ^a ± 1,87
3. nedelja	51,62 ^a ± 1,56	49,80 ^a ± 2,14	45,62 ^b ± 1,45	51,78 ^a ± 1,91
Konverzija	1,63 ^a	1,63 ^a	1,62 ^a	1,59 ^a

• srednja vrednost ± srednja greška
• ^{a,b} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$)

Relativne mase unutrašnjih organa pilića izloženih delovanju PK i OTA i hranjenih sa ili bez dodatka ATN-a u količini od 5 g/kg hraniva, su prikazani u tabeli 40. Relativne mase svih unutrašnjih organa su bile ujednačene sa rezultatima kontrolne grupe pilića. Statistički značajne ($P < 0,05$) razlike se uočavaju jedino u povećanoj relativnoj masi pluća i bubrega pilića koji su hronično unosili PK u organizam oralnim putem u toku 3 nedelje. Oralni unos ATN-a je uspeo da otkloni negativno delovanje ovog herbicida.

Tabela 40. Relativne mase unutrašnjih organa pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Jetra [g/100g t.m.]	3,04 ^a ± 0,32	2,79 ^a ± 0,24	2,93 ^a ± 0,02	2,94 ^a ± 0,29	2,94 ^a ± 0,21	2,95 ^a ± 0,22
Bubrezi [g/100g t.m.]	0,55 ^a ± 0,02	0,54 ^a ± 0,03	0,62 ^b ± 0,02	0,55 ^a ± 0,01	0,56 ^a ± 0,03	0,54 ^a ± 0,02
Žlezdani želudac [g/100g t.m.]	0,59 ^a ± 0,06	0,59 ^a ± 0,06	0,59 ^a ± 0,07	0,66 ^a ± 0,09	0,57 ^a ± 0,06	0,58 ^a ± 0,06
Mišićni želudac [g/100g t.m.]	2,29 ^a ± 0,07	2,16 ^a ± 0,15	2,22 ^a ± 0,20	2,27 ^a ± 0,25	2,35 ^a ± 0,17	2,15 ^a ± 0,14
Duodenum [g/100g t.m.]	0,40 ^a ± 0,008	0,44 ^a ± 0,009	0,41 ^a ± 0,011	0,41 ^a ± 0,007	0,44 ^a ± 0,010	0,40 ^a ± 0,009
Slepo crevo [g/100g t.m.]	0,38 ^a ± 0,08	0,40 ^a ± 0,06	0,41 ^a ± 0,06	0,41 ^a ± 0,06	0,40 ^a ± 0,06	0,39 ^a ± 0,04
Pluća [g/100g t.m.]	0,68 ^a ± 0,012	0,71 ^a ± 0,011	0,83 ^a ± 0,009	0,69 ^a ± 0,009	0,71 ^a ± 0,010	0,69 ^a ± 0,014
Pankreas [g/100g t.m.]	0,44 ^a ± 0,06	0,44 ^a ± 0,09	0,43 ^a ± 0,06	0,43 ^a ± 0,05	0,45 ^a ± 0,09	0,43 ^a ± 0,07
Slezina [g/100g t.m.]	0,099 ^a ± 0,018	0,092 ^a ± 0,020	0,112 ^a ± 0,025	0,104 ^a ± 0,036	0,099 ^a ± 0,031	0,098 ^a ± 0,031
Fabricijeva burza [g/100g t.m.]	0,26 ^a ± 0,03	0,27 ^a ± 0,04	0,31 ^a ± 0,09	0,28 ^a ± 0,05	0,34 ^a ± 0,09	0,28 ^a ± 0,10
Srce [g/100g t.m.]	0,63 ^a ± 0,10	0,59 ^a ± 0,06	0,61 ^a ± 0,04	0,61 ^a ± 0,07	0,60 ^a ± 0,03	0,57 ^a ± 0,08

- srednja vrednost ± srednja greška
- ^{a,b} Rezultati unutar istog reda sa različitim eksponentom se statistički međusobno značajno razlikuju ($P < 0,05$)

Tabela 41 prikazuje rezultate relativnih masa odabranih delova trupa pilića koji su oralnim putem unosili ATN, PK ili OTA. Nisu uočene nikakve statistički značajne razlike između eksperimentalnih grupa.

Tabela 41. Relativne mase pojedinih delova trupa pilića hranjenih sa ili bez dodatka 0,5% ATN u hranivo i izloženih delovanju parakvata ili ohratoksina

	Eksperimentalna grupa					
	Kontrola	ATN	PK	PK-ATN	OTA	OTA-ATN
Grudi [g/100g t.m.]	17,46 ± 1,05	18,09 ± 1,49	18,13 ± 1,11	17,72 ± 1,75	17,24 ± 0,91	17,84 ± 0,67
Batak [g/100g t.m.]	9,21 ± 0,27	9,51 ± 0,46	9,40 ± 0,52	9,23 ± 0,54	9,09 ± 0,32	9,01 ± 0,42
Karabatak [g/100g t.m.]	10,29 ± 0,60	10,18 ± 0,55	9,98 ± 0,46	10,07 ± 0,49	9,67 ± 0,44	9,01 ± 0,42
Krila [g/100g t.m.]	10,59 ± 0,32	10,68 ± 0,46	10,66 ± 0,39	10,50 ± 0,67	10,33 ± 0,37	10,54 ± 0,62
Glava [g/100g t.m.]	4,03 ± 0,31	3,91 ± 0,33	3,92 ± 0,24	3,88 ± 0,31	3,82 ± 0,21	3,87 ± 0,18
Noge [g/100g t.m.]	4,35 ± 0,28	4,45 ± 0,35	4,43 ± 0,24	4,38 ± 0,36	4,15 ± 0,30	4,45 ± 0,28
• srednja vrednost ± srednja greška						

6.1. DISKUSIJA

6.1. Oglad 1

6.1.1. Hematološke analize

Kod životinja, izmenjena krvna slika i/ili promene u koncentraciji pojedinih konstituenata krvi, ukazuju na promene u fiziološkoj ili biohemijskoj homeostazi organizma-. Analizom tih parametara se relativno lako može utvrditi zdravstveno stanje životinja. Hematološki pokazatelji krvi su veoma važan faktor u dijagnostici i u laboratorijskim analizama se najčešće meri koncentracija hemoglobina, vrednost hematokrita, broj i vrsta belih ili crvenih krvnih zrna, faktori koagulacije i dr.

Hemoglobin je složeni hemoprotein, kvaternarne strukture, izgrađen od četiri subjedinice, svaka sa molekulom hema i polipeptidnim lancem. Do poremećaja u koncentraciji hemoglobina mogu da dovedu mnogobrojni faktori, kao gubitkom putem hemolize ili hemoragije, poremećene hematopoeze, nedovoljnog unosa ili poremećenog usvajanja jona gvožđa u digestivnom traktu, nepravilnosti pri razmeni gasova u plućima, unos pojedinih mikotoksina ili jona teških metala, pojedinih oboljenja i dr. (Hsu 1981, Sivaprasad i sar. 2003, Toplan i sar. 2004, Janaczyk i sar., 2006; Sakhare i sar., 2007; Zhang i sar., 2007, Sawale i sar., 2009). Sam dodatak različitih vrsta aluminosilikata (bentonita, klinoptilolita ili zeolita NaA) ne utiče na promenu koncentracije hemoglobina kod pilića (Keçeci i

sar., 1998; Oğuz i sar., 2000; Shi i sar., 2006), ali ni kod drugih ispitivanih životinjskih vrsta poput svinja (Pond i Yen, 1983; Harvey i sar., 1994; Jiang i sar., 2010), pacova (Grosicki i sar., 2004) ili miševa (Martin-Kleiner i sar., 2001). Hematokrit ili zapremina istaloženih krvnih ćelija je značajan pokazatelj preko koga se mogu izračunati mnogi drugi parametri, poput veličine eritrocita ili prosečne koncentracije hemoglobina u njima (Swenson, 1975). Različiti faktori dovode do pada vrednosti hematokrita. To mogu biti intoksikacije jonima teških metala ili pojedinim mikotoksinima (Pond i Yen, 1983; Kubena i sar., 1990; Keçeci i sar., 1998; Morris i sar., 1999).

Analizom hematoloških pokazatelja (tabela 2) nisu uočene statistički značajne razlike između vrednosti dobijenih za kontrolnu i ATN grupu pilića, što je u saglasnosti sa podacima koje su dobili drugi autori. Svi izmereni parametri su bili u granicama referentnih vrednosti za živinu što ukazuje na to da dodatak ATN-a u hranivo ne remeti usvajanje jona gvožđa u lumenu digestivnog trakta i njegovo ugrađivanje u molekule hemoglobina, da se hematopoeza normalno odvija i da u organizmu ne deluju činioci koji bi doveli do promene broja i veličine eritrocita.

6.1.2. Biohemijske analize seruma pilića

6.1.2.1. Analiza metabolita

Određivanje proteina i metabolita prisutnih u serumu dalo je uvid u zdravstveno stanje pilića tokom eksperimenta.

Proteini nisu samo važne strukturne komponente nego imaju nezamenjivu ulogu u nizu kataboličkih i regulatornih procesa, transportu metabolita i u odbrambenom sistemu. Endokrini status jedinke utiče na brzinu sinteze mnogih proteina i njegov poremećaj može uticati i na koncentraciju određenih proteina u

serumu. Pojedina patološka stanja, disbalans u prometu vode, neadekvatan unos hrane, oštećenje bubrega ili različiti poremećaji u biosintezi takođe mogu dovesti do hipo- ili hiperproteinemije (Grant i sar. 1997). Dodaci preparata na bazi aluminosilikata u hranivo ne dovode do poremećaja nivoa serumskih proteina živine (Döll i sar., 2005; Bailey i sar., 2006; Pappas i sar., 2010), svinja (Malagutti i sar., 2002; Prvulović i sar., 2007) i pacova (El-Kady i sar., 2009). Zaključuje se da preparati na bazi aluminosilikata ne remete normalnu biosintezu proteina niti dovode do disbalansa vode u organizmu (tabela 3).

Ureja - ureja je glavni metabolički proizvod katabolizma proteina i predstavlja više od 75% neproteinskog azota koji se eliminiše iz organizma. Do povećanja koncentracije ureje u krvi (uremije) mogu dovesti različita oboljenja ili oštećenja bubrega, dehidracija, visokoproteinska ishrana ili smanjen katabolizam proteina, kao i mnogi drugi faktori (Rock i sar. 1997). Rezultati ovog ogleada (tabela 2?) su u skladu sa rezultatima koje su dobili drugi autori za različite vrste aluminosilikata (Kubena i sar., 1990; Lindemann i sar., 1993; Prvulović i sar., 2009; Zhao i sar., 2010). Aditivi ovog tipa ne dovode do poremećaja u sintezi i ekskreciji ureje. Ipak, pojedini autori su registrovali blago (ali ipak ne i signifikantno) povećanje ovog metabolita u serumu pacova, nakog primene bentonita, (Abdel-Wahhab i sar., 1998) i prasića, nakon upotrebe monmorilonita (Jiang i sar., 2010).

Kreatinin - kreatin se sintetiše u jetri, bubrezima i pankreasu, a zatim se putem krvi prenosi do ostalih organa kao što su mišići i mozak gde se u povratnoj reakciji sa ATP fosforiliše u visokoenergetsko jedinjenje fosfokreatin i predstavlja rezervu ATP u ćeliji, posebno za mišićni rad. Jedan deo slobodnog kreatina se pretvara u anhidrid kreatinin koji se iz krvi putem bubrega eliminiše iz organizma. Na osnovu oslobađanja kreatinina se prati stopa filtriranja bubrežnih glomerula. Mala količina kreatinina se reasorbuje u tubulama bubrega, a količina kreatinina koja se javlja u urinu potiče upravo od sekrecije u tubulama (Rock i sar.,

1997). Ispitivanja su pokazala da preparati na bazi klinoptilolita (Martin-Kleiner i sar., 2001; Malagutti i sar., 2002; Prvulović i sar., 2007) i glina (Kubena i sar., 1990; Harvey i sar., 1994; Ledoux i sar., 1999) u hranivo ne dovodi do poremećaja nivoa serumskog kreatinina što su potvrdili i rezultati ovog eksperimenta (tabela 3).

Glukoza - osnovni procesi metabolizma ugljenih hidrata obuhvataju glikogenezu, glikogenolizu, glukoneogenezu i glikolizu. Normalno se u krvi koncentracija glukoze održava u relativno uskom opsegu. To se postiže delovanjem hormona, pre svega insulina, koji snižava koncentraciju glukoze u krvi i dejstvom čitavog niza kontraregulatornih hormona poput glukagona, adrenalina, kortizola i somatotropina. Poremećaji u sintezi ili delovanju hormona i enzima koji učestvuju u metabolizmu glukoze i regulišu njen nivo, može za posledicu imati značajne promene u koncentraciji glukoze u serumu (Carway i Watts, 1997). U ovom ogledu (tabela 2) je koncentracija glukoze bila ujednačena između grupa i nije uočena statistički značajna razlika, što je u skladu sa rezultatima koje su dobili Kubena i sar. (1990), Bailey i sar. (2006), Prvulović i sar. (2007) i Zhao i sar. (2010). Ovakvi rezultati pre svega ukazuju na to da se dodatkom aluminosilikata, pa i ATN-a (tabela 3), u hranivo ne remeti normalna funkcija i biosinteza hormona regulatora metabolizma glukoze i da se održava normalna homeostaza glukoze.

Holesterol - holesterol je sekundarni steroidni alkohol i može se naći u svim ćelijama i telesnim tečnostima. Oko 90% holesterola u organizmu se sintetiše u jetri i crevima, a sintezu u jetri može da inhibira holesterol apsorbovan iz hrane, koji preko lipoproteina u jetru (Stein, 1997). Iako su pojedini autori (Döll i sar., 2005; Prvulović i sar., 2007) konstatovali da dodatak aditiva na bazi aluminosilikata u manjoj ili većoj meri smanjuje koncentraciju holesterola u serumu svinja, većina autora koja je radila ogleda na pilićima nije registrovala

ovakve promene (Huff i sar., 1992, Oğuz, 2000, 2002; Gowda i sar., 2008), što je u saglasnosti sa rezultatima prikazanim u tabeli 3.

Triacilgliceroli - lipidi su prisutni u svim tkivima i imaju značajnu ulogu u procesima koji se odvijaju u ćelijama. Oni služe kao metaboličko gorivo, obezbeđuju očuvanje energije, imaju ulogu hormona ili prekursora hormona, pomažu digestiju, predstavljaju strukturne i funkcionalne komponente bioloških membrana, a kao izolatori omogućavaju nervnu provodljivost i očuvanje telesne toplote. Triacilgliceroli (trigliceridi) su najzastupljeniji estri glicerola u hrani i plazmi, a takođe predstavljaju i 95% svih lipida tkiva. Poremećaji u koncentraciji lipida se dele na primarne i sekundarne. Primarni mogu biti genetski (u sintezi lipoproteina, receptora ili enzima) ili negenetski, dok su sekundarni poremećaji mnogo češći i nastaju usled loše ili neadekvatne ishrane, upotrebe pojedinih lekova ili kod metaboličkih, infektivnih, hormonalnih ili malignih oboljenja (Stein, 1997). Dodatak preparata na bazi aluminosilikata, glina ili zeolita, u hraniva pilića u većini slučajeva ne dovodi do poremećaja nivoa triacilglicerola u serumu (Harvey i sar., 1993; Kubena i sar. 1993; Ledoux i sar., 1999), što je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim u ovom ogledu (tabela 3). Kubena i sar. (1990) su uočili da je usled upotrebe gline u ishrani pilića došlo do blagog povećanja ovog metabolita u serumu. Do sličnih rezultata su došli i Prvulović i sar. (2007) pri ishrani svinja sa dodatkom klinoptilolita, i Abdel-Wahhab i sar. (2001) kod pacova hranjenih sa dodatkom različitih glina.

Dobijeni rezultati biohemijske analize metabolita seruma jasno ukazuju na to da ATN ne dovodi do poremećaja u normalnom funkcionisanju metaboličkih puteva, da je endokrini sistem koji reguliše sintezu i razgradnju pojedinih komponenti očuvan i da je njihova biosinteza i distribucija u granicama referentnih vrednosti za datu vrstu. Takođe se može zapaziti da su funkcija jetre, bubrega i nekih drugih organa očuvane.

6.1.2.2. Analiza elektrolita

Praćenjem koncentracija elektrolita seruma se može mnogo toga saznati o funkcionisanju crevnog trakta, balansu vode u organizmu i funkciji bubrega, a mogu se uočiti i poremećaji u funkciji pojedinih drugih organa i sistema.

Hloridi - hlorid je glavni ekstracelularni anjon i predstavlja najveću frakciju u plazmi od svih neorganskih anjona. Uloga hlorida je u distribuciji vode, održavanju jonske ravnoteže i osmotskog pritiska u ekstracelularnom prostoru. Hloridi želudačnog soka potiču od hlorida krvi i najčešće se resorbuju tokom kasnijih faza varenja u nižim delovima digestivnog trakta. Kod različitih oboljenja bubrega, koja imaju za posledicu gubitak soli iz organizma, javlja se hipohloremija. Prekomerno odavanje jona hlora preko želudačnog soka ili nedovoljan unos putem hrane mogu da dovedu do pojave alkaloze pošto se nedovoljne količine hlorida delimično zamenjuju ili kompenzuju jonima bikarbonata (Tietz i Siggard-Andersen, 1997). Koncentracija anjona hlorida u krvnom serumu je bila ujednačena između grupa (tabela 4), što potvrđuje rezultate i drugih autora u primeni aluminosilikata kod pilića (Ledoux i sar., 1999; Eraslan i sar., 2005; Zhao i sar., 2010) ili svinja (Prvulović i sar., 2007, 2009).

Kalcijum i neorganski fosfat - kalcijum i neorganski fosfat se nalazi u tvrdim tkivima, kostima, zubnoj kosti i gleđi koegzistiraju u relativno fiksnim proporcijama. Njihova koncentracija u plazmi zavisi od čitavog niza faktora, a prvenstveno od ravnoteže između brzine razgradnje i izgradnje koštanog matriksa. Koncentracija svakog od ovih elemenata je u direktnoj vezi sa procesom mineralizacije kostiju. Fiziološki aktivan oblik kalcijuma je njegov jonizovani oblik i na njegovu koncentraciju direktno utiču i pH i koncentracija proteina plazme. Intraćelijski joni kalcijuma su jedni od glavnih neorganskih glasnika odgovornih za regulisanje mnogih funkcija ćelije. Oni utiču na aktivnost mnogih enzima,

aktiviraju kontrakcije miozinskih vlakana u mišićima, a regulišu i propustljivost membrane. Celokupna količina fosfora u organizmu se nalazi u obliku fosfata koji se gotovo ravnomerno raspoređuje između vanćelijskih i unutarćelijskih odeljaka. Intraćelijski fosfati su sastavni delovi pojedinih makromolekula poput fosfolipida i fosfoproteina. Ova frakcija se zato i naziva organski fosfati. Mala, ali izuzetno važna frakcija, su neorganski fosfati i oni učestvuju u reakcijama razmene energije i homeostaze pH. Koncentracija fosfata u plazmi i vanćelijskim tečnostima je važan pokazatelj stanja koštanog matriksa. Koncentracije jona kalcijuma i fosfata su uslovljene ravnotežom između apsorpcije i lučenja u bubrežima, crevima i, u manjoj meri, kože, kao i razmenom ovih jona između plazme, vanćelijskih tečnosti i tkiva, uključujući i kosti. Različiti faktori mogu da dovedu do poremećaja u koncentracijama ova dva jona u serumu. To su pre svega poremećaji u funkcionisanju paratireoidne žlezde, bubrega i creva, kao i nedovoljan unos ili poremećaj u resorpciji provitamina vitamina D (Fraser i sar., 1997). Koncentracije jona kalcijuma i fosfata u serumu pilića su se kod obe eksperimentalne grupe kretale u granicama referentnih vrednosti (tabela 4), ukazujući na postojanje uravnoteženog sistema između ova dva jona. Slični rezultati su dobijeni i u drugim ogleđima primene aluminosilikata i to na pilićima (Bailey i sar., 1998; Oğuz i sar., 2000; Gowda i sar., 2008; Zhao i sar., 2010), svinjama (Harvey i sar., 1993, 1994; Prvulović i sar., 2007, 2009) i kravama (Bosi i sar., 2002). Za razliku od njih, pojedini drugi autori su pronašli da aluminosilikati primenjeni oralnim putem, u manjoj ili većoj meri, smanjuju koncentraciju ova dva jona u serumu, što je najverovatnije posledica smanjene apsorpcije jona kalcijuma u lumenu digestivnog trakta (Eraslan i sar., 2005; Bailey i sar., 2006).

Praćenjem koncentracija elektrolita seruma se uočava da dodatak ATN-a (koji poseduje velike jonoizmenjivačke sposobnosti) ne utiče na apsorpciju naeophodnih minerala iz hrane, da ne remeti njihov balans i da ne remeti

normalnu apsorpciju vitamina D i balans vode. Može se zaključiti da je pH vrednost seruma ostala u granicama referentnih vrednosti, a da su funkcije bubrega, muskulature, pankreasa, paratireoidne žlezde, jetre i kostiju očuvana.

6.1.2.3.. Aktivnosti enzima

Alkalna fosfataza - Alkalna fosfataza (ALP) je prisutna u svim tkivima organizma. U posebno visokim koncentracijama se nalazi u epitelijalnim ćelijama tankog creva, tubulama bubrega, osteoblastima kostiju, jetri i placenti. Uključena je u procese kalcifikacije kostiju. Oblici prisutni u serumu zdravih jedinki uglavnom potiču iz jetre ili iz bilijarnog trakta, a gotovo polovina od ukupne aktivnosti je poreklom iz koštanog sistema. Pojedini dvovalentni katjoni, poput Mg^{2+} , Mn^{2+} i Co^{2+} , deluju kao aktivatori ovog enzima, dok je cink kofaktor ovog enzima. Odgovarajući odnos jona cinka i magnezijuma je neophodan za optimalnu aktivnost ovog enzima. Različiti anjoni, poput borata, oksalata, fosfata ili cijanida, mogu da inhibiraju aktivnost enzima. Veće količine jona kalcijuma povećavaju aktivnost ALP, dok je aktivnost enzima u obrnutoj sazeri sa koncentracijom neorganskih fosfata, što je više fosfata dostupno, aktivnost je manja. Do povećanja aktivnosti ALP mogu dovesti različita oboljenja povezana sa hepatobilijarnim ili koštanim sistemom (Watkins i Southern, 1991; Moss i sar. 1997). Dodatak glina (Kubena i sar., 1990; Abdel-Wahhab i sar., 1998, 1999, 2001), preparata na bazi prirodnih zeolita (Harvey i sar. 1993; Schell i sar., 1993b) ili monmorilonita (Shi i sar., 2006; Jiang i sar., 2010) ne dovodi do promene aktivnosti serumske ALP životinja, što potvrđuje rezultate dobijene i u ovom ogledu (tabela 5). Međutim, literaturni podaci ukazuju da u pojedinim slučajevima može doći do odstupanja. Dugotrajan unos zeolita A kod svinja dovodi do povećane aktivnost ALP u serumu (Ward i sar., 1991), a kod pilića do pada aktivnosti ovog enzima (Watkins i Southern, 1991).

Aminotransferaze - aminotransferaze su grupa enzima koji katališu interkonverziju aminokiselina i α -okso kiselina putem prenosa aminogrupa. Aminotransferaze su široko rasprostranjene u organizmu i normalno su prisutne u hepatocitima, miocitima, krvnoj plazmi, žuči, cerebrospinalnoj tečnosti i pljuvački, ali su u urinu prisutne jedino u slučaju oštećenja bubrega. Aktivnost alanin aminotransferaze (ALT) i aspartat aminotransferaze (AST) se povećava u serumu pri svakom patološkom procesu koji narušava integritet ćelija jetre, ali je dokazano da je ALT specifičnija za tkivo jetre od AST i povećanje njene aktivnosti se retko sreće pri drugim patološkim stanjima. Oboljenja srca, mišića, pluća i pankreasa dovode do povećanja aktivnosti serumske AST, a samo ponekad i ALT (Moss i sar., 1997). Dodatak aluminosilikata, poput hidratisanog natrijum kalcium aluminosilikata (glina) u hranivo pilića (Kubena i sar., 1990; Bailey i sar., 1998) ili pacova (Abdel-Wahhab i sar., 2001), klinoptilolita u hranivo svinja (Vrzgula i Bartko, 1984) ili goveda (Bachman i sar., 1992) ili monmorilonita u hranivo pacova (Abdel-Wahhab i sar., 2001; El-Kady i sar., 2009) ili prasića (Jiang i sar., 2010) ne dovodi do promena u aktivnostima serumskih aminotransferaza. ATN takođe ne remeti normalnu aktivnost ovih enzima (tabela 5). Ti rezultati ukazuju da aluminosilikati ne dovode do promena na jetri, kostima ili nekim drugim organima.

Gama glutamil transferaza - γ -glutamil transferaza (GGT) spada u grupu peptidaza i uloga joj je da prenosi γ -glutamil grupe sa peptida, ili drugih jedinjenja koja sadrže ovu grupu, na odgovarajuće primaoce. Akceptor glutamil grupa može biti i sam supstrat na koga enzim deluje, pojedine aminokiseline ili peptidi, pa čak i voda ?. GGT je prisutna u serumu i ćelijama svih organa izuzev mišićnih ćelija. Aktivnost serumske GGT primarno vodi poreklo iz hepatobilijarnog sistema i njena aktivnost je blisko povezana sa funkcijama jetre. Pojedina hepatična oboljenja poput maligniteta, bilijarne opstrukcije, hepatitisa ili

masne degeneracije jetre, ali i pankreasa dovode do povećanja aktivnosti ovog enzima u serumu (Cornelius, 1989). U serumu pilića hranjenih sa dodatkom ATN-a je uočen blago viši nivo aktivnosti ovog enzima, ali ne i statistički značajno (tabela 5). Do sličnog rezultata su došli i Döll i sar., (2005) kod prasića hranjenih sa dodatkom monmorilonita. Većina autora nije zabeležila nikakvu promenu u aktivnosti ovog enzima kod životinja hranjenih sa dodatkom nekog aluminosilikata (Lindermann i sar., 1993; Eraslan i sar., 2004a; Shi i sar., 2006; Prvulović i sar., 2007) što ukazuje na očuvanu funkciju jetre.

Laktat dehidrogenaza - laktat dehidrogenaza (LDH) je enzim prenosa vodonika i spada u grupu oksidoreduktaza. Katalizuje povratnu reakciju redukcije piruvata u laktat sa koenzimom NADH/NAD⁺. Ovaj enzim može biti inhibiran i supstratom i proizvodom, a njegovu aktivnost mogu inhibirati i razna druga jedinjenja, poput jona žive, oksalata, borata, *p*-hloromerkuribenzoata. LDH postoji u svim ćelijama organizma i nalazi se isključivo u citoplazmi. Nivo enzima u tkivima je za oko 500 puta veći nego što se normalno nalazi u serumu tako da izlazak enzima čak i iz vrlo malo oštećenog tkiva može da poveća aktivnost serumske LDH i nekoliko puta. U mladim eritrocitima je aktivnost LDH visoka, a sa starenjem eritrocita se smanjuje njihova metabolička aktivnost pa samim tim i aktivnost LDH opada (Kramer, 1989; Moss i sar., 1997). Do povećanja aktivnosti LDH u serumu mogu da dovedu različita oboljenja, a naročito oboljenja jetre, srca, mišića, anemija, malignitet, kao i intoksikacija CCl₄ (Cornelius, 1989; Moss i sar., 1997). U serumu pilića ATN grupe je zabeležena statistički signifikantno veća aktivnost LDH nego u serumu pilića kontrolne grupe (tabela 5). Razlog ovakvog skoka aktivnosti LDH nije jasan i nije u saglasnosti sa rezultatima koje su dobili drugi autori primenom preparata na bazi aluminosilikata kod različitih životinjskih vrsta (Kubena i sar., 1990; Bailey i sar., 1998; El-Kady i sar., 2009).

Moguće je da unos ATN-a dovodi do oštećenja nekog od organa, ali to nije praćeno i promenama u koncentraciji drugih biomarkera .

Kreatin kinaza - kreatin kinaza (CK) katališe povratnu fosforilaciju kreatina koristeći ATP/ADP. Za aktivnost CK je neophodno prisustvo Mg^{2+} jona kao aktivatora koji služi za kompleksiranje ADP-a i ATP-a. Aktivnost CK je najveća u glatkim mišićima, mozgu i srčanom mišiću. Aktivnost serumske CK je u funkcionalnoj zavisnosti od ukupne mišićne mase organizma. Povećana aktivnost CK u serumu može biti posledica oboljenja skeletnih mišića, srca, centralnog nervnog sistema ili tireoidne žlezde (Moss i sar., 1997). Rezultati ovog oglada (tabela 5) ukazuju na to da dodatak glina u hranivo životinja ne remeti normalnu fiziološku homeostazu i aktivnosti ovog enzima.

Amilaza - amilaze (AMY) predstavljaju grupu hidrolaza koje raskidaju α 1,4 – glikozidnu vezu ugljenih hidrata. α -Amilaza je kalcijum-metaloenzim i za funkcionalni integritet ovog enzima su neophodni joni kalcijuma. AMY svoju punu aktivnost ispoljavaju samo u prisustvu anjona hlorida, bromida, nitrata, holata ili hdrogenfosfata jer ovi anjoni deluju kao aktivatori. Amilaza je prisutna u velikom broju organa i tkiva. Najveća koncentracija AMY je u pankreasu, gde se ovaj enzim i stvara u acinusnim ćelijama, a zatim i izlučuje u digestivni trakt putem konikularnog sistema *ductus pancreaticus*-a. I pljuvačne žlezde luče AMY u velikoj meri. AMY seruma potiče prevashodno iz pankreasa (P-tip) ili iz pljuvačke (S-tip). Serumska AMY je usko povezana sa finkcijom pankreasa. Do povećanja aktivnosti ovog enzima u serumu dolazi kod pankreatitisa (naročito akutnog) i drugih poremećaja u funkciji pankreasa, ali povećanje njene aktivnosti mogu da dovedu i oboljenja drugih organa: renalana insuficijencija, lezija pljuvačnih žlezda, pojedina intraabdominalna oboljenja, kao i oštećenja bilijarnog trakta (Moss i sar., 1997). Merenjem aktivnosti AMY u serumu obe eksperimentalne grupe je zabeleženo da je aktivnost ovog enzima u granicama referentnih vrednosti, ali da

je aktivnost kod pilića ATN grupe statistički značajno veća u odnosu na aktivnost pilića kontrolne grupe. Takav rezultat nije u saglasnosti sa rezultatima koje su publikovali Prvulović i sar. (2007) u eksperimentu na svinjama.

Dodatak ATN-a u hranivo u količini od 0,5% je uticao na statistički značajno povećanje aktivnosti serumskih LDH i AMY. Visoka aktivnost serumske LDH i AMY ukazuje na promene u metabolizmu ugljenih hidrata ili bi mogao biti znak oštećenja pojedinih tkiva u organizmu (naročito jetre i pankreasa) uz istovremeno povećanje aktivnosti i drugih serumskih enzima biomarkera funkcije jetre, naročito aminotransferaza. Međutim, dodatak ATN-a u hranivo pilića nije uticao na promenu aktivnosti drugih enzima seruma poput: ALP, AST, ALT, CK i GGT što bi ukazivalo e na oštećenje jetre, bubrega, pankreasa ili drugih organa i izlaska tih enzima iz oštećenih tkiva u krvotok.

6.1.3. Određivanje glutation S-transferaze u jetri pilića

Veliki broj fizičkih i hemijskih činioca može da dovede do pojave oksidativnog stresa kod živih bića. Glavni način delovanja je indukovanje stvaranja reaktivnih kiseoničnih čestica, naročito slobodnoradikalskih vrsta, poput vodonik peroksida (H_2O_2), hidroksil radikala ($\cdot OH$) ili superoksid anjona ($O_2^{\cdot -}$). Ove reaktivne kiseonične vrste narušavaju strukturu i funkciju proteina, izazivaju lipidnu peroksidaciju membranskih lipida dovodeći do ozbiljnih oštećenja samih ćelija. Antioksidativni enzimi i neenzimski sistemi su sposobni da hvataju i transformišu ove slobodnoradikalske čestice u netoksične oblike. Na osnovu aktivnosti ovih enzima u krvi i drugim tkivima se može utvrditi da li je neki organizam ili sistem pod oksidativnim stresom. Do prekomernog formiranja slobodnih radikala u tkivima životinja mogu da dovedu mnogobrojni faktori, kao i velik broj supstanci kada se u organizam unesu oralnim putem poput lekova (Abdel-Wahhab i sar., 2003), pesticida (Seth i sar., 2001), mikotoksina (Meki i

Hussein, 2001) i dr. Isto tako većina bolesti, infektivnih ili autoimunih, dovode organizam u stanje oksidativnog stresa (Muruganandan i sar., 2002). Pri takvim stanjima dolazi i do poremećaja aktivnosti antioksidativnih enzima. Generalno će aktivnost enzima antioksidativne zaštite biti povišena, ukoliko sam toksikant ili izazivač ovog poremećaja ne deluje inhibitorno na sam enzim ili na adsorpciju neke od komponenti potreban za normalan rad enzima (poput jona selena, bakra ili mangana) ili pak transformiše glutation i/ili tiolne grupe u molekulima proteina u neke neaktivne forme. Ukoliko stepen oksidacije prelazi kapacitete delovanja ovih enzima onda se javlja i povišen nivo lipidne peroksidacije.

Glutation S-transferaze (GST) su multigena grupa izoenzima koji katališu konjugaciju tripeptida glutationa sa brojnim hidrofobnim i elektrofilnim jedinjenjima. GST učestvuje u procesima detoksifikacije, a ima ulogu i u transportu i sintezi manje toksičnih jedinjenja. GST metaboliše kancerogene materije, zagađivače životne sredine, lekove i širok spektar drugih ksenobiotika, prevodeći ih u manje toksična (najčešće rastvorljivija) jedinjenja koja se mnogo lakše eliminišu iz organizma. GST su deo antioksidativne zaštite jer učestvuju u detoksifikaciji egzogenih, prooksidativnih supstanci i endogeno štetnih jedinjenja, nastalih u procesu lipidne peroksidacije (Chubben i sar., 2001; Nordberg i Arnér, 2001).

Merenjem aktivnosti GST, enzima detoksifikacije, kod pilića hranjenih sa dodatkom ATN-a u hranivo nisu uočene značajnije promene koje bi ukazivale da se životinje nalaze u stanju intoksikacije (tabela 7). Aktivnost GST je čak bila nešto niža (iako ne statistički značajno) kod pilića ATN grupe, što ukazuje na moguću adsorpciju pojedinih štetnih materija od strane ATN-a već u lumenu creva i sprečavanje njihovog ulaska u krvotok. Isto tako, dodatak ATN-a u količini od 0,5% nije poremetio ni sadržaj rastvorljivih proteina jetre pilića (tabela 7).

6.1.4. Mase unutrašnjih organa

Različiti agensi i kontaminanti koji su prisutni u spoljašnjoj sredini, pa i u hrani, mogu da dovedu do ozbiljnih poremećaja u organizmu. Ti poremećaji se pre svega ogledaju u promenama koje izazivaju na pojedinim vitalnim organima. Merenjem mase i analizom histopatološke strukture samih organa i/ili metabolita tih organa može se zaključiti da li neki faktor remeti homeostazu organizma i koji je način delovanja tih štetnih agenasa. Najosetljivija tkiva su ona koja su odgovorna za detoksikaciju samog organizma i njihovom analizom se najpre može utvrditi toksičnost pojedinih supstanci po organizam. U zavisnosti koji je kontaminant u pitanju i kakav je njegov načina delovanja, promene se mogu detektovati na skoro svim tkivima i organima.

Efekti ATN u hranivu - dodatak ATN-a u hranivo pilića nije uticao na relativnu masu jetre-glavnog organa detoksifikacije organizma (tabela 6). Takođe nije uočena ni promena relativne mase jednjaka, pankreasa, duodenuma i Fabricijeve burze. Statistički signifikantno povećanje ($P < 0,05$) je uočeno kod relativnih masa slezine, žlezdanog i mišićnog želuca i tankog creva pri dodatku ATN-a u hranivo u količini od 0,5%. Drugi autori nisu zabeležili nikakvo značajnije povećanje relativnih masa unutrašnjih organa pri dodatku aditiva na bazi aluminosilikata u hranivo. Relativne mase jetre (Huff i sar., 1992; Miazzi i sar., 2000, 2005; Rosa i sar., 2001), želuca (Kubena i sar., 1990; Miazzi i sar., 2005), pankreasa (Ledoux i sar., 1999; Shi i sar., 2006), slezine (Grosicki i sar., 2004; Ortatatli i sar., 2005), Fabricijeve burze (Kubena i sar., 1990; Shi i sar., 2006) i duodenuma (Döll i sar., 2005) su ostale nepromenjene nakon dodatka nekog od aluminosilikata u hranivo. Uočena veća relativna masa želuca, slezine i tankog creva može biti povezana sa sporijim prolaskom himusa kroz digestivni trakt ili može biti posledica iritacije ovih organa usled dodatka ATN-a.

6.1.5. Prirast i konverzija hrane

Rezultati dosadašnjih istraživanja su najčešće ukazivala na to da primena aluminosilikata u ishrani svinja ne dovodi do premene u prirastu ili konverziji hrane (Ward i sar., 1991; Matthews i sar., 1999; Malagutti i sar., 2002; Döll i sar., 2005; Prvulović i sar., 2007, 2009). I u ishrani pilića su dobijeni isti rezultati bez obzira koji tip aluminosilikata je primenjen: paligorskit (Pappas i sar., 2010), zeolit A (Yalcin i sar., 1995), bentonit (Rosa i sar., 2001; Miazzo i sar., 2005), monmorilonit (Desheng i sar., 2005; Shi i sar., 2006), klinoptilolit (Harvey i sar., 1993; Parlat i sar., 1999), mordenit (Harvey i sar., 1993) ili hidratirani natrijum, kalcijum aluminosilikat (glina) (Huff i sar., 1992; Gowda i sar., 2008; Zhao i sar., 2010). Ipak, pojedini autori su zabeležili, u manjoj ili većoj meri, veći prirast životinja i bolju konverziju hrane pri upotrebi aluminosilikata u ishrani jaganjaca (Deligiannis i sar., 2005), pacova (Grosicki i sar., 2004), pa i pilića (Kubena i sar., 1990; Miazzo i sar., 2000; Xia i sar., 2004), što se pripisuje dužem zadržavanju hrane u digestivnom traktu i boljem iskorištavanju hranjivih materija. Da li će neki preparat na bazi aluminosilikata uticati na prirast i konverziju hrane najviše zavisi od vrste primenjenog aluminosilikata, njegovih fizičkih i hemijskih osobina, primenjene doze, životinjske vrste i starosti, kao i od uslova gajenja životinja, jer što su uslovi gajenja lošiji, veće su šanse da preparat ispolji pozitivan efekat. Dodatak ATN-a u količini od 0,5% u hranivo pilića nije ispoljio jasan efekat (tabela 8). ATN je pokazao pozitivne efekte u toku prve i treće nedelje uzgoja, ali je u završnoj fazi, tokom poslednje nedelje uzgoja, doveo do manjeg prirasta pilića ATN grupe u odnosu na kontrolnu. Ipak, ako se u obzir uzme celokupan period uzgoja, nije bilo razlike u prirastu i konverziji hrane između eksperimentalnih grupa.

6.1.6. Hemijski sastav mesa

U proizvodnji hrane najvažniji ciljevi su bezbednost i zadovoljavanje tržišnog kvaliteta. U eri intenzivne stočarske proizvodnje, koja je zasnovana na korišćenju savremenih bioloških, hemijskih i fizičkih agenasa, nastojanja su usmerena na proizvodnju kvalitetnog i bezbednog mesa, koje, ni u kom slučaju, ne sme da izazove negativne posledice po zdravlje ljudi (Savković i sar., 2008). Hemijski sastav mesa zavisi od vrste životinje, rase, pola, starosti, načina gajenja i ishrane, uhranjenosti i regije trupa. Promenama su naročito podložne količina masti i vode, dok je sadržaj azotnih i mineralnih materija u mesu relativno stalan (Vuković, 1998). Ako su svi ostali parametri ujednačeni, ishrana ima veoma važnu ulogu na hemijski sastav i kvalitet mesa (Ristic i sar., 2007).

U literaturi nisu pronađeni podaci da je neko ispitivao hemijski sastav mesa nakon primene aluminosilikata u ishrani životinja. ATN pozitivno utiče na tehnološke parameter kvaliteta belog mesa pilića, snižavajući količinu masti u njemu i povećavajući sadržaj proteina (tabela 9). Takav efekat nije uočen kada je crveno meso (batak) u pitanju. Uočen je povišen sadržaj pepela u oba ispitivana mesa kod pilića hranjenih dodatkom ATN-a ali u granicama referentnih vrednosti. Svi ostali mereni parametri belog i crvenog mesa su bili ujednačeni između pilića kontrolne i ATN grupe.

6.2. Ogljed 2

6.2.1. Mikrocistini (MC)

U literaturi nema mnogo dostupnih podataka o tome na koji način MC deluju na serumske parametre kičmenjaka, a naročito toplokrvnih životinja. Kod pacova koji su primili jednu dozu MC intraperitonealnim putem Nidhi Gupta et al (2003) i Billam i sar. (2008) nisu zabeležili nikakvu promenu u ukupnoj koncentraciji serumskih proteina, ali dolazi do smanjenja albuminske frakcije (Billam i sar., 2008). Ako se MC u organizam miševa unese inhalatornim putem za posledicu ima smanjenje nivoa proteina seruma (Benson i sar., 2005). I kod riba MC mogu da dovedu do promena u koncentraciji ovog metabolita, ali to zavisi od vrste ribe. Qiu i sar., (2009) su istraživali da li unos MC dovodi do promena u nivou proteina kod dve vrste šarana i ustanovili da je kod jedne vrste došlo do smanjenja koncentracije, a kod druge ne. Rezultati dobijeni u ovom ogledu ukazuju da MC dovode do poremećaja u biosintezi serumskih proteina kod pilića (tabela 10). Posledica toga je pad koncentracije proteina u serumu, što je u saglasnosti sa rezultatima drugih autora. Nakon primene MC dolazi do pada koncentracije serumske glukoze i kod pacova (Billam i sar., 2008) i kod šarana (Qiu i sar., 2009). U ovom ogledu je utvrđeno da oralni unos MC ne dovodi do promene nivoa glukoze u serumu brojlera (tabela 10), što nije u saglasnosti sa rezultatima koje su dobili drugi autori. Billam i sar. (2008) su ustanovili da samo jedna uneta doza MC kod pacova može da dovede do promena i drugih serumskih parametara. MC dovodi do statistički značajnog skoka koncentracije kreatinina u serumu i do pada aktivnosti AMY, ali ne utiče na koncentraciju jona kalcijuma u serumu. I Al-Jassabi i Azirun (2010) su registrovali povećanje nivoa kreatinina u serumu miševa nakon unosa MC. Izuzev koncentracije jona Ca^{2+} , koja se nije

statistički značajno razlikovala između eksperimentalnih grupa, i što je u saglasnosti sa rezultatima Billam i sar. (2008), rezultati dobijeni za nivo kreatinina i aktivnost AMY nisu u korelaciji sa nalazima drugih autora (tabela 10). Uzrok tome je najverovatnije što ptice drugačije reaguju na ove toksine od kičmenjaka. Moguće je da je statistički značajno niži nivo kreatinina posledica inhibicije sinteze kreatina u jetri jer su MC prevashodno hepatotoksini. Sa druge strane, nepromenjena aktivnost serumske AMY ukazuje da MC ne utiču na normalno funkcionisanje pankreasa. Uočeno je i protektivno delovanje ATN-a. Istovremenim oralnim unosom i MC i ATN-a negativni efekti delovanja MC se nisu ispoljili (tabela 10). Kod šarana se koncentracija Hb značajno smanjuje nakon unosa MC (Zhang i sar., 2007) ali takvi rezultati nisu dobijeni u ovom radu (tabela 12). Kod brojlera unos MC oralnim putem ne dovodi do promena u koncentraciji Hb u eritrocitima.

Detoksikacija MC u organizmu je slična detoksikaciji drugih ksenobiotika. Ksenobiotici, poput pojedinih lekova i droga, se eliminišu iz organizma na različite načine, od kojih je najznačajnija mikrozomalna aktivnost enzima jetre, čija se aktivnost značajno smanjuje sa starošću samog organizma (Lakshmana Rao i sar., 2005). Postoje literaturni podaci o delovanju MC i na druge enzime. Tako, nije sasvim razjašnjeno na koji način MC utiče na aktivnost ALP. Merenjima aktivnosti ovog enzima u serumu šarana su dobijene oprečni rezultati. Li i sar. (2004) su utvrdili da dolazi do blagog, ali ne i statistički značajnog, povećanja aktivnosti ovog enzima, a Qiu i sar. (2009) su ustanovili da to zavisi od vrste šarana. Kod jedne vrste ovih riba je došlo do povećanja aktivnosti ALP, dok kod druge ova toksična supstanca dovodi do njegove inhibicije. Oralni unos MC je kod pilića doveo do inhibicije aktivnosti ALP (tabela 11), što je, bez obzira na literaturne navode, i bio očekivani rezultat. Mikrocistini, inhibirajući protein fosfatazu 1 i 2A dovode do hiperfosforilacije proteina. Sa druge strane je poznato da povišena koncentracija fosfata dovodi do smanjenja aktivnosti ALP. Najviše proučavani

enzimi biomarkeri funkcije jetre su aminotransferaze. Aktivnosti ALT u ćelijama jetre miševa se povećava pod uticajem MC (Gehring i sar., 2003). I u serumu različitih životinjskih vrsta MC najčešće dovodi do povećanja aktivnosti ovih enzima. Slični rezultati su dobijeni bez obzira na način unosa MC u organizam kod miševa (Lakshmana Rao i sar., 2005; Al-Jassabi i Saif-Ali, 2010), pacova (Nidhi Gupta i sar., 2003) i riba (Malbrouck i sar., 2003; Li i sar., 2004). Kod nekih drugih životinjskih vrsta, poput kraba (Dewes i sar., 2006) i prepelica (Skocovska i sar., 2007) se ne uočavaju promene u aktivnosti aminotransferaza. Na osnovu ovih literaturnih podataka je bilo za očekivati da kod pilića, kao i kod drugih ptica (prepelice), neće doći do promene u aktivnosti aminotransferaza. To je i potvrđeno u ovom ogledu (tabela 11) jer nikakve statistički značajne razlike nisu uočene između eksperimentalnih grupa u aktivnosti ALT. Povećanje aktivnosti ALT kao kliničkog indikatora je veoma značajno jer je ALT citosolni enzim koji se oslobađa u krvotok jedino u slučaju oštećenja tkiva jetre ili njene nekroze (Lakshmana Rao i sar., 2005).

Kod miševa i pacova unos MC dovodi do povećanja aktivnosti serumske GGT (Nidhi Gupta i sar., 2003; Lakshmana Rao i sar., 2005; Al-Jassabi i Azirun, 2010; Al-Jassabi i Saif-Ali, 2010), dok se kod šarana ne uočavaju neke značajnije promene (Li i sar., 2004; Qiu i sar., 2009). Ne postoje literaturni podaci da li MC deluju na aktivnost AMY kod životinja. Dewes i sar. (2006) su zaključili da se standardni biohemijski pokazatelji nisu pokazali kao uspešni markeri oštećenja hepatopankreasa kod beskičmenjaka.

Kakav će biti odgovor organizma, i da li će unos MC dovesti do aktivacije ili inhibicije enzima antioksidativne zaštite, pa i do oksidativnog stresa, zavisi od životinjske vrste. MC dovodi do poremećaja aktivnosti SOD-1 i CAT jetre tako što kod miševa dovodi do njihove inhibicije (Jayaraj i sar., 2006; Al-Jassabi i Azirun, 2010; Al-Jassabi i Saif-Ali, 2010; Sedan i sar., 2010), a kod riba do aktivacije (Li i

sar., 2003; Jos i sar., 2005; Li i sar., 2005; Al-Kahtani i Fathi, 2008). Literaturni podaci dobijeni za aktivnost peroksidaza i GST nisu ujednačeni. Merenjem aktivnosti glutathion-peroksidaze (GSH-Px) jetre nakon unosa MC u organizam riba su pokazali da MC može da poveća (Jos i sar., 2005), smanji (Li i sar., 2007) ili da uopšte ne utiče (Li i sar., 2003; Li i sar., 2005) na aktivnost ovog enzima. Ustanovljeno je da kod miševa MC izazivaju pad aktivnosti GSH-Px (Jos i sar., 2005; Jayaraj i sar., 2006; Al-Jassabi i Azirun, 2010). Što se aktivnosti GST jetre tiče, literaturni podaci o delovanju MC na aktivnost i ovog enzima kod kraba i riba su različiti. Ustanovljeno je da MC može da dovede kako do povećanja aktivnosti GST (Pinho i sar., 2003; Li i sar., 2007), kao i inhibicije (Malbrouck i sar., 2003), a u pojedinim radovima nije zabeležena nikakva promena u aktivnosti ovog enzima nakon unosa MC u organizam (Li i sar., 2003; Pinho i sar., 2005). I kod miševa MC može da izazove suprotne efekte, da dovede do pada (Jayaraj i sar., 2006) ili povećanja aktivnosti (Gehring i sar., 2003; Sedan i sar., 2010). Kod japanskih prepelica akutna intoksikacija MC ne dovodi do promena u aktivnosti GST. Ako se ptice izlože subhroničnom delovanju ovog toksina onda se aktivnost GST statistički značajno povećava (Pašková i sar., 2008). Iako u većini slučajeva MC u životinjskom organizmu dovode do poremećaja aktivnosti antioksidativnih enzima, to ne mora uvek da dovede i do oksidativnog stresa koji se manifestuje povećanim intenzitetom lipidne peroksidacije. Aktiviranjem enzimskih i neenzimskih sistema antioksidativne zaštite životinje različitih vrsta mogu da se izbore sa toksičnošću ovog toksina (Pinho i sar., 2003; Li i sar., 2005; Pašková i sar., 2008). Ipak, u većem broju slučajeva dolazi do oksidativnog stresa u ćelijama jetre (Gehring i sar., 2003; Jos i sar., 2005; Lakshmana Rao i sar., 2005; Dewes i sar., 2006; Jayaraj i sar., 2006; Al-Jassabi i Saif-Ali, 2010). Oralni unos MC je kod brojlera doveo do statistički značajnih promena u aktivnosti enzima antioksidativne zaštite u jetri (tabela 13). MC je doveo do manje ili veće inhibicije aktivnosti svih merenih

enzima (SOD, CAT, GPx i PPx), izuzev GST, čija je aktivnost bila statistički značajno veća ($P < 0,05$). Ovakav poremećaj dovodi do povećanog intenziteta lipidne peroksidacije u tkivu jetre (tabela 13). Istovremeni unos MC i ATN-a ublažava, a u pojedinim slučajevima i potpuno poništava, nepovoljno delovanje MC na homeostazu jetre pilića (tabela 13).

Poput jetre i bubrezi su osetljivi na dejstvo MC i efekat je sličan. Pod dejstvom MC u bubrežima miševa dolazi do pada aktivnosti SOD i CAT (Al-Jassabi i Saif-Ali, 2010; Sedan i sar., 2010). Kod riba MC nema uticaja na aktivnost SOD, ali dovodi do povećanja aktivnosti CAT (Jos i sar., 2006; Li i sar., 2007; Al-Kahtani i Fathi, 2008). Sličan odgovor na dejstvo MC daje i GSH-Px bubrega. Kod miševa dolazi do inhibicije aktivnosti ovog enzima (Sedan i sar., 2010), a kod riba do njegovog povećanja (Jos i sar., 2006). Zajednički imenitelj i za ribe i za miševе je da unos MC u organizam dovodi do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije u bubrežima (Jos i sar., 2006; Al-Jassabi i Azirun, 2010; Al-Jassabi i Saif-Ali, 2010). Rezultati dobijeni merenjem aktivnosti antioksidativnih enzima i intenziteta lipidne peroksidacije bubrega u ovom ogledu su delimično u saglasnosti sa rezultatima koje su dobili drugi autori (tabela 14). Uočava se značajan pad aktivnosti SOD i peroksidaza pod dejstvom MC, dok aktivnost katalaze ostaje nepromenjena. Iako se jasno uočava da su bubrezi jedan od ciljanih organa delovanja MC, kod brojlera on ipak ne dovodi do izraženog oksidativnog stresa jer intenzitet lipidne peroksidacije ostaje nepromenjen u odnosu na kontrolnu grupu pilića. Dodatak ATN-a u hranivo u količini od 5 g/ kg hraniva, delimično se ublažavaju posledice delovanja MC na aktivnost SOD-1 i peroksidazu bubrega (tabela 14).

Delovanje MC na druge organe bilo koje životinjske vrste nije mnogo istraživano. Pašková i sar. (2008) su ustanovili da, pod određenim uslovima, MC može da dovede do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije i u srčanom tkivu i

mozgu. Nasuprot tome, kod brojlera nisu uočene nikakve promene homeostaze ova dva organa, kao ni eritrocita, pankreasa, slezine, pluća i mišićnog tkiva (tabele 12, 15-18 i 20-22). Istovremeni unos ATN-a ne remeti normalne biohemijske funkcije ovih organa.

Pošto je MC unošen u organizam pilića oralnim putem, jedan od prvih organa izloženih delovanju MC je duodenum. Na ovom organu se jasno uočavaju znaci toksičnog delovanja MC (tabela 19). Pod uticajem ovog toksina dolazi do povećanja aktivnosti CAT i do inhibicije aktivnosti PPx, što rezultira i povećanim intenzitetom lipidne peroksidacije u odnosu na kontrolnu grupu. Aktivnosti SOD-1 i GPx ostaju nepromenjene. I kod ovog organa ATN uspeva delimično da ublaži toksične efekte delovanja MC.

Nisu pronađeni dostupni literaturni podaci koji bi ukazali da li unos MC dovodi do promena u prirastu životinja, masi unutrašnjih organa ili određenih delova trupa. U ovom eksperimentu nisu uočene nikakve statistički značajnije razlike u prirastu, masi organa ili delova trupa između eksperimentalnih grupa (tabele 23-25). Relativna masa jetre brojlera koji su unosili MC u organizam oralnim putem je jedini parameter koji se donekle razlikuje od rezultata ostalih eksperimentalnih grupa, ali ni ovde ta razlika nije bila statistički značajna (tabela 24). Postoji mogućnost da unos MC u organizam oralnim putem ne dovodi do promena ovih parametara kod pilića, ali je veća verovatnoća da je period uzgoja od tri nedelje previse kratak da bi MC uticao na ove parametere i da bi se razlike ispoljile.

Iz rezultata ovog oglada se zaključuje da su brojleri osetljivi na delovanje MC ako se ovi unesu oralnim putem u organizam. Najugroženiji organi su jetra, bubrezi i creva, gde se i uočavaju najizraženije promene izazvane delovanjem ovog toksina. ATN dodat u hranivu u količini od 0,5% uspeva da delimično, a u pojedinim slučajevima čak i potpuno, ublaži ove negativne efekte. Pretpostavlja se

da su preparati na bazi aluminosilikata sposobni da u lumenu digestivnog trakta, tokom varenja, vežu za sebe MC i na taj način spreče njihov dalji prodor u organizam.

6.2.2. Olovo

Merenjem koncentracije ili aktivnosti pojedinih biohemijskih parametara se može doći do zaključaka koji od unutrašnjih organa je najviše ugrožen. Serumski proteini su dosta stabilan parametar tako da je i bilo očekivano da joni olova ne dovode do promene u njihovoj koncentraciji u serumu pacova (Shalan i sar. 2005) i pilića (Erdoğan i sar. 2005). Unos jona olova u organizam kod ptica i pacova dovodi do povećanja koncentracije serumske glukoze (Hoffman i sar. 1981, Shalan i sar. 2005) i kreatinina (Hoffman i sar. 1981, Shakoor i sar. 2000). Zbog interferencije jona olova i jona kalcijuma u lumenu digestivnog trakta može doći do smanjenja koncentracije jona kalcijuma u serumu (Hsu i sar. 1975). Rezultati dobijeni u ovom ogledu su donekle drugačiji (tabela 10). Utvrđeno je da joni Pb^{2+} dovode do poremećaja biosinteze kreatinina i do pada njegove koncentracije u serumu. Interesantan podatak je da je aktivnost AMY u serumu statistički značajno manja u odnosu na piliće kontrolne grupe. To bi moglo da ukazuje na poremećenu homeostazu u pankreasu pod dejstvom jona Pb^{2+} . Dodatak ATN-a u hranivo sa povišenim sadržajem olova deluje protektivno. Istovremenim unosom jona olova i ATN-a se obezbeđuje zaštita organizma od štetnog delovanja jona ovog teškog metala (tabela 10).

Bez obzira koja vrsta toksina ili ksenobiotika je u pitanju, jetra kao glavni organ detoksifikacije organizma je najviše izložena delovanju ovih supstanci. Hronični unos olovo acetata u organizam u toku dužeg vremenskog perioda dovodi do promena u aktivnosti enzima biomarkera funkcije jetre. Kod miševa je uočen skok aktivnosti ALT (El-Ashmawy i sar. 2005, El-Sayed i sar. 2006), kao i

povećanje aktivnosti ALP (El-Ashmawy i sar. 2005) kao posledica hroničnog unosa jona olova. u ovom radu je uočeno da oralni unos većih količina jona olova deluje inhibitorno na aktivnost ALP i GGT u samoj jetri. Dodatkom ATN-a hranivu se ublažavaju negativne posledice delovanja jona olova (tabela 11). Interesantno je da joni Pb^{2+} nisu doveli do promene aktivnosti AMY u jetri. Iz toga se može zaključiti da je uzrok statistički značajno niže aktivnosti ovog enzima u serumu upravo delovanje jona olova na pankreas gde je glavno mesto njegove sinteze, a ne na jetru.

Jedan od najkarakterističnijih pokazatelja delovanja jona olova je smanjenje koncentracije hemoglobina. Sinteza porfobilinogena, jednog od intermedijera u sintezi hema je inhibisana olovom, što vodi do akumulacije aminolevulinske kiseline (ALA), koja je neurotoksin. Poznato je da olovo i interferira sa hemom, te utiče na morfologiju eritrocita i na njihov životni vek. To sve dovodi do anemije. Olovo utiče na iskorištavanje gvožđa i na njegovo ugrađivanje u hem. Olovo samo se ugrađuje u molekule hema umesto gvožđa ali sam mehanizam nije još uvek sasvim razjašnjen (Berrahal i sar. 2007). Kod pacova je došlo do pada nivoa hemoglobina bez obzira na način na koji su joni olova uneti u organizam: oralnim putem (Hsu 1981, McMurry i sar. 1995, Sivaprasad i sar. 2003, Flora i sar. 2004, Toplan i sar. 2004), intraperitonealno (Berrahal i sar. 2007) ili intramuskularno (Othman i sar. 2004). Isti efekat delovanja jona olova je registrovan i kod ptica (Hoffman i sar. 1981). I u ovom radu je uočen pad koncentracije Hb u eritrocitima pod dejstvom jona olova (tabela 12). To je praćeno i oksidativnim stresom ovih ćelija što se ogleda u inhibiciji aktivnosti SOD-1, stimulaciji aktivnosti CAT, peroksidaza i GST, kao i povećanim intenzitetom lipidne peroksidacije. ATN se pokazao kao vrlo uspešan preparat u uklanjanju nepoželjnih posledica delovanja jona Pb^{2+} na eritrocite (tabela 12).

Intoksikacija olovom dovodi do ćelijskih oštećenja koja prouzrokovana delovanjem slobodnih radikala. Delovanje slobodnih radikala pri unosu Pb^{2+} se može objasniti na dva načina: ili inhibicijom 5-aminolevulinska kiselina dehidrataze pomoću Pb^{2+} što dovodi do akumulacije 5-aminolevulinske kiseline (ALA), potencijalnog endogenog izvora slobodnih radikala, ili Pb^{2+} sam po sebi poseduje kapacitet da stimuliše lipidnu peroksidaciju u prisustvu Fe^{2+} jona (Adonaylo i Oteiza 1999).

Unos jona olova u organizam dovodi do oksidativnog stresa u jetri što se, između ostalog ogleda i u padu aktivnosti SOD-1 kod eksperimentalnih životinja poput miševa (El-Sayed i sar. 2006) ili pacova (Upasani i Balaraman 2003, Patra i sar. 2004). Oksidativni stres izazvan jonima pojedinih metala dovodi do povećane produkcije superoksid anjona. Tokom oksidativnog stresa SOD-1 se može ponašati na dva načina: u početku, i kad je stres umeren, ćelije utiču na povećanje aktivnosti SOD-1, ali ako se stres produži i dovede do sve veće produkcije reaktivnih kiseoničnih čestica, oni deluju inhibitorno i dolazi do pada njihove aktivnosti. Smatra se da do pada aktivnosti SOD-1 može doći i zato što olovo dovodi do poremećaja u usvajanju jona bakra, kofaktora ovog enzima. Moguće je da je niska aktivnost SOD-1 posledica i oštećenja na samoj DNK (Berrahal i sar. 2007). I u jetri brojlera oralni unos jona Pb^{2+} dovodi do inhibicije aktivnosti ovog enzima (tabela 13). Kada je u pitanju aktivnost katalaze jetre u toku intoksikacije jonima olova, literaturni podaci su veoma kontradiktorni čak i kada je u pitanju ista vrsta ili srodne vrste poput miševa i pacova. Pojedini autori su otkrili da Pb^{2+} joni deluju stimulatивно na aktivnost katalaze i da povećavaju njenu aktivnost (Patra i sar. 2001, Flora i sar. 2004, Correa i sar. 2005). Drugi autori su došli do rezultata gde Pb^{2+} deluje inhibitorno na aktivnost ovog enzima i smanjuje njegovu aktivnost (Flora i sar. 2003, Upasani i Balaraman 2003, El-Sayed i sar. 2006). Gurer i sar. (1999) nisu registrovali nikakvu promenu u aktivnosti katalaze u toku

intoksikacije pacova jonima olova. Slični rezultati su dobijeni i kada je u pitanju aktivnost GSH-Px jetre kod pacova. Flora i sar. (2003) su detektovali značajno višu aktivnost ove peroksidaze, dok su isti autori (Flora i sar. 2004) u drugom eksperimentu registrovali značajno manju aktivnost ovog enzima u jetri pacova. Nauprot tome, Hsu (1981) nije zabeležio nikakvu promenu u aktivnosti ovog enzima jetre pod dejstvom jona olova. Unos olova nije imao nikakav efekat na aktivnost hepatične GST (El-Sayed i sar. 2006). Aktivnost CAT, GST i peroksidaza jetre brojlera ostaje nepromenjena u odnosu na kontrolnu grupu pri oralnom unosu jona olova (tabela 13). I pored neusaglašenih rezultata što se tiče aktivnosti pojedinih enzima antioksidativne zaštite, svi autori se slažu da joni olova uneti u organizam dovode do povećanog intenziteta lipidne peroksidacije u jetri bez obzira na način unosa olova. Rezultati dobijeni u ovom ogledu su u saglasnosti sa onima koje su dobili drugi autori (tabela 13). Slični rezultati su dobijeni kod miševa i pacova koji su jone olova primali putem hrane ili vode (Gurer i sar. 1999, Flora i sar. 2003, 2004, Upasani i Balaraman 2003, El-Sayed i sar. 2006), intraperitonealnim putem (Patra i sar. 2004, Berrahal i sar. 2007) ili inhalatorno (Valverde i sar. 2002). Iako se u literaturi uvek naglašava da joni Pb^{2+} deluju hepatotoksično, u ovom radu taj efekat nije bio toliko izražen (tabela 13). Uočava se da je organ u stanju oksidativnog stresa ali se iz rezultata ne vidi jasno na koji način je taj stres prouzrokovan jer je aktivnost većine enzima antioksidativne zaštite nepromenjena. Evidentno je da aluminosilikatna osnova ATN-a uspeva da adsorbuje jone Pb^{2+} u samom digestivnom traktu i da poništi štetno delovanje jona ovog teškog metala na jetru (tabela 13).

Bubrezi su jedan od osetljivijih organa na toksično dejstvo jona olova. Međutim, kao i u slučaju jetre, literaturni podaci za aktivnost antioksidativnih enzima ovog organa pri toksikozi izazvanoj jonima olova su prilično neusaglašeni i često kontradiktorni. Intoksikacija pacova jonima olova može da dovede do pada

aktivnosti bubrežne SOD-1 (Upasani i Balaraman 2003) ili se može desiti da joni olova uopšte ne utiču na aktivnost ovog enzima (Patra i sar. 2004). Conterato i sar. (2007) su ustanovili da je aktivnost SOD-1 bubrega zavisna od primenjene doze olovo-acetata. Sa primenom manjih doza dolazi do povećanja aktivnost ovog enzima, a sa primenom većih doza se ne uočavaju nikakve statistički značajne promene. Slično SOD-1 i katalaza i glutation-peroksidaza su dale slične odgovore na stimulaciju jonima olova. Dok je Conterato i sar. (2007) kod pacova zabeležio porast aktivnosti katalaze bubrega, neki drugi autori su registrovali inhibiciju aktivnosti ovog enzima (Flora i sar. 2003, Upasani i Balaraman 2003, Patra i sar. 2004), a Gurer i sar. (1999) nije zabeležio nikakvu promenu aktivnosti. Kada je aktivnost GSH-Px u pitanju Flora i sar. (2003) su ustanovili povećanje aktivnosti ovog enzima. Isti autori su u svom drugom radu (Flora i sar. 2004) zabeležili pad aktivnosti GSH-Px bubrega. Hsu (1981) i Conterato i sar. (2007) nisu zabeležili nikakvu statistički značajnu promenu ovog enzima pod uticajem jona olova. U skoro svim radovima je publikovan podatak da joni olova dovode do manjeg ili većeg povećanja intenziteta lipidne peroksidacije u bubrezima nakon intoksikacije jonima olova (Gurer i sar. 1999, Upasani i Balaraman 2003, Flora i sar. 2003, 2004, Patra i sar. 2004). Jedini izuzetak je ako se joni olova unesu u organizam inhalatornim putem jer tada svoje prooksidativno dejstvo ispoljavaju pre svega na plućima (Valverde i sar. 2002). Za razliku od jetre gde su joni Pb^{2+} doveli samo do blagog oksidativnog stresa, u bubrezima je taj stres bio intenzivan (tabela 14) što ukazuje na to da su i bubrezi jedan od glavnih ciljanih organa delovanja jona ovog teškog metala. Iako nisu uočene promene u izmerenoj aktivnosti peroksidaza u odnosu na kontrolnu grupu, aktivnosti SOD-1 i CAT su bile statistički značajno uvećane, što je rezultiralo i povećanim intenzitetom lipidne peroksidacije u ovom organu. Unos ATN-a putem hrane je delovao protektivno na bubrege (tabela 14).

Kada su u pitanju oksidativne promene koje u organizmu joni olova izazivaju na eritrocitima, i ovde su, kao i kod drugih organa, efekti koje ti joni izazivaju na aktivnost enzima antioksidativne zaštite različiti. Aktivnost SOD-1 u nekim istraživanjima je statistički značajno povećana (Soltaninejad i sar. 2003), a u drugim snižena (Flora i sar. 2004, Sivaprasad i sar. 2003, Berrahal i sar. 2007). Mousa et al (2002) su ustanovili da nakon primene olova kod koza u početku dolazi do skoka aktivnosti ovog enzima, dok dugotrajni unos dovodi do njegove inhibicije. Kod pacova su Gurer i sar. (1999) i Soltaninejad i sar. (2003) registrovali povećanje aktivnosti katalaze, a Sivaprasad i sar. (2003) sniženje. Kada je u pitanju aktivnost GSH-Px tokom intoksikacije jonima olova Mousa et al (2002) su registrovali sličan odgovor kakvu je dala i SOD-1, na početku primene skok aktivnosti, a nakon toga njen pad. Sivaprasad i sar. (2003) su zabeležili samo pad aktivnosti ovog enzima usled delovanja jona olova. Zajednički zaključak svih autora je da, bez obzira na način delovanja olova na aktivnost antioksidativnih enzima, joni ovog teškog metala dovode do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije kod pacova (Gurer i sar. 1999, Villeda-Hernández i sar. 2001, Soltaninejad i sar. 2003, Flora i sar. 2004), koza (Mousa et al 2002), pa i kod ljudi (Kasperczyk i sar. 2005).

Za razliku od drugih ispitivanih organa, dostupni literaturni podaci su usaglašeni kada je u pitanju način delovanja jona olova na aktivnost enzima oksidativne zaštite u mozgu. Barijera između krvotoka i centralnog nervnog sistema ne predstavlja prepreku za prodor jona olova, tako da se delovanje olova na mozak može pripisati njegovim direktnim delovanjem na neurone ili gliju. Olovo ima uticaja na funkciju neurotransmitera jer joni olova mogu inhibirati ili zamaskirati delovanje jona kalcijuma koji imaju važnu ulogu u ovim procesima. Olovo se može vezati za specifične proteine poput proteina membranskih kanala, kalmodulina ili za protein kinaze (Antonio i sar. 1996). Autori se slažu da joni

olova dovode do inhibicije aktivnosti SOD-1 mozga (Upasani i Balaraman 2003, Flora i sar. 2004, Wang i sar. 2006), kao i do stimulacije aktivnosti katalaze (Correa i sar. 2000, 2004, 2005, Patra i sar. 2001, Flora i sar. 2003, 2004) i GSH-Px (Adonaylo i Oteiza 1999, Flora i sar. 2004). Ovakvo delovanje jona olova na aktivnost enzima antioksidativne zaštite dovodi do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije u ovom organu kod pacova (Adonaylo i Oteiza 1999, Gurer i sar. 1999, Patra i sar. 2001, Villeda-Hernández i sar. 2001, Soltaninejad i sar. 2003). Rezultati dobijeni u ovom ogledu ukazuju da se u mozgu brojlera dešavaju isti procesi kao i u mozgu pacova (tabela 18). Joni Pb^{2+} izazivaju inhibiciju aktivnosti SOD-1 i statistički značajnu aktivaciju CAT, što dovodi do oksidativnog stresa i povećanog intenziteta lipidne peroksidacije. Interesantno je da joni olova u mozgu dovode do inhibicije aktivnosti i gvajakol- i pirogalol-peroksidaze. Ovakvi rezultati ukazuju na masovnu produkciju slobodnoradikalnih čestica u mozgu. Dodatak ATN-a u hranivo u količini od 5 g po kilogramu hraniva u potpunosti sprečava pojavu oksidativnog stresa u ovom organu i deluje protektivno (tabela 18).

Joni olova dovode do inhibicije aktivnosti SOD-1 i katalaze u srčanom mišiću pacova (Upasani i Balaraman 2003), uz istovremeno povećanje intenziteta lipidne peroksidacije u ovom organu (Upasani i Balaraman 2003, Patra i sar. 2004). Do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije dolazi i kada se joni olova primene na kulturu endotelijalnih srčanih ćelija (Ding i sar. 2000). Kod brojlera se uočava da unos jona Pb^{2+} oralnim putem dovodi do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije u srčanom tkivu, što je u saglasnosti sa rezultatima drugih autora, ali nije zabeležena nikakva promena u aktivnosti merenih enzima antioksidativne zaštite (tabela 20). ATN dodat hranivu donekle ublažava delovanje jona olova na ovaj organ, ali ga u potpunosti ne poništava.

Upasani i Balaraman (2003) su registrovali isti odgovor na oralni unos jona olova kod pacova i kada je u pitanju plućno tkivo. Zabeležen je pad aktivnosti

SOD-1 i katalaze, uz istovremeno povećanje intenziteta lipidne peroksidacije. Da joni olova direktno utiču na lipidnu peroksidaciju pluća su potvrdili i Valverde i sar. (2002) na miševima koji su jone olova uneli u organizam upravo inhalatornim putem. Za razliku od miševa i pacova, kod brojlera nije uočena pojava oksidativnog stresa u plućima jer su aktivnosti svih merenih antioksidativnih enzima, kao i intenzitet lipidne peroksidacije bili izjednačeni sa onima dobijenim za kontrolnu grupu pilića (tabela 17).

Kao i pri hroničnom unosu MC, i hroničan unos Pb^{2+} jona dovodi do oksidativnog stresa u duodenumu brojlera (tabela 19) što se ogleda u statistički značajnom povećanju aktivnosti SOD-1, CAT i GPx, smanjenoj aktivnosti PPx i povećanom intenzitetu lipidne peroksidacije. Pošto su creva u direktnom kontaktu sa himusom bogatim jonima olova, i pošto celokupan transport ide tim putem, ovakav odgovor organizma je bio i očekivan. ATN je u potpunosti poništio ove negativne posledice delovanja jona Pb^{2+} na creva (tabela 19).

Nikakve promene u aktivnosti, u odnosu na kontrolnu grupu pilića, enzima antioksidativne zaštite i intenzitetu lipidne peroksidacije nisu uočene na drugim ispitivanim organima: pankreasu (tabela 15), slezini (tabela 16) i mišićnom tkivu (tabela 21 i 22).

Unosom jona olova (najčešće u obliku olovo-acetata) u organizam dolazi do smanjenog prirasta životinja ili do gubitka na masi kod već odraslih jedinki. Takav odgovor na unos olova su pokazali i pacovi koji su jone olova uneli oralnim putem (Wapnir i sar. 1980, Hsu 1981, Shakoore i sar. 2000, Conterato i sar. 2007) ili intraperitonealno (Wright i sar. 1998, Berrahal i sar. 2007), kao i miševi kod kojih su joni olova aplicirani *per os* (Wang i sar. 2006) ili intraperitonealno (Correa i sar. 1999, 2000, 2004). I na plućima su vršeni brojni eksperimenti ovog tipa i pokazalo se da su i oni, kao životinjska vrsta, veoma osetljivi na unos jona olova putem hrane jer je u svim slučajevima zabeležen pad prirasta (Mykkänen i Wasserman

1981, Leeming i Donaldson 1984, Cupo i Donaldson 1988, Erdoğan i sar. 2005). Međutim, u ovom radu nije uočena nikakva razlika u prirastu pilića između eksperimentalnih grupa (tabela 23). Najverovatnije da period prve tri nedelje života nije dovoljno dug da bi subhronične doze jona Pb^{2+} u potpunosti ispoljile svoj efekat na rast i razvoj brojlera.

Velik broj toksikanata ostavlja i posledice po relativnu masu pojedinih unutrašnjih organa. Kod pacova unos jona olova u organizam dovodi do povećanja relativne mase bubrega (Hsu 1981, Shakoor i sar. 2000) i slezine (McMurry i sar. 1995, Shakoor i sar. 2000). Što se tiče relativne mase jetre, dostupni literaturni podaci nisu ujednačeni. Dok je Hsu (1981) ustanovio da pod dejstvom jona olova kod pacova dolazi do uvećanja relativne mase ovog organa, McMurry i sar. (1995) su konstatovali smanjenje njene relativne mase. Kod nekih drugih organizama, poput žaba (Vogiatzis i Loumbourdis 1999) nisu detektovane nikakve promene relativnih masa pojedinih unutrašnjih organa. Ni u ovom radu nisu detektovane nikakve promene u relativnim masama unutrašnjih organa (tabela 24) ili relativnim masama odabranih delova trupa (tabela 25).

Na osnovu dobijenih rezultata se zaključuje da su glavni ciljni organi delovanja jona olova u organizmu brojlera bubrezi i mozak, kao i creva, ako se Pb^{2+} unese u organizam oralnim putem. Pored ova tri organa, jetra i srce su takođe pod uticajem negativnog delovanja Pb^{2+} jona. Unosom preparata na bazi prirodnih aluminosilikata, ATN-a, dolazi do potpune adsorpcije jona ovog teškog metala na aluminosilikate i njegovog izbacivanja iz organizam putem fecesa. ATN se pokazao kao veoma efikasan preparat u zaštiti pilića od jona Pb^{2+} .

6.2.3. Aflatoksin B₁

Nezavisno od životinjske vrste i načina unosa AFT u organizam i da li je u pitanju akutna intoksikacija ili hronično delovanje, odgovor organizma na delovanje AFT je prilično uniforman. Unosom AFT kod skoro svih životinjskih vrsta dovodi do signifikantnog pada koncentracije proteina seruma, a najviše albuminske frakcije. Ovakav odgovor je zabeležen kod pilića (Quezada i sar., 2000; Valdivia i sar., 2001; Modirsanei i sar., 2008; Tejada-Castañeda i sar., 2008; Yarru i sar., 2009) i koka nosilja (Stanley i sar., 2004), ali i kod drugih životinjskih vrsta poput riba (Hassan i sar., 2010), ćurića (Edrington i sar., 1996) i pacova (Abdel-Wahhab i Aly, 2005). Smanjene koncentracije albumina, globulina i ukupnih proteina ukazuje na poremećaje u biosintezi proteina i karakterističan je za aflatoksikoze (Ledoux i sar., 1999). I ovim ogledom je potvrđeno da akutno izlaganje pilića delovanju AFTB₁ dovodi do statistički značajnog pada koncentracije rastvorljivih proteina u serumu (tabela 10). To je potvrda da je AFTB₁ moćan inhibitor biosinteze proteina.

Kod pojedinih drugih životinjskih vrsta, kao što su svinje (Lindemann i sar., 1993; Schell i sar., 1993b; Harvey i sar., 1994) i jaganjci (Fernández i sar., 1996) ovakav odgovor organizma je mnogo blaži, ili čak i u potpunosti izostaje. Dodatak preparata na bazi glina ublažuje, a veoma često i u potpunosti poništava ovaj efekat delovanja AFT kod pilića (Kubena i sar., 1990; Huff i sar., 1992; Ledoux i sar., 1999). Međutim, preparati na bazi zeolita su se pokazali mnogo manje uspešni. Oni najčešće ne sprečavaju smanjenje koncentracije serumskih proteina pod uticajem AF (Harvey i sar., 1993; Keçeci i sar., 1998). ATN, slično kao i većina aluminosilikatnih preparata, uspešno eliminiše efekte delovanja aflatoksina B₁ (tabela 10).

Poremećaj koncentracije serumske glukoze nije karakterističan za aflatoksikozu kod pilića (Bailey i sar., 1998; Oğuz i sar., 2000; Allameh i sar., 2005; Modirsanei i sar., 2008). I u ovom radu je to potvrđeno jer unos AFTB₁ nije doveo do promena u koncentraciji glukoze u serumu (tabela 10). Ipak, u nekoliko radova (Ledoux i sar., 1999; Zhao i sar., 2010) je publikovano da je pod dejstvom AFT došlo do pada koncentracije serumske glukoze kod pilića. Preparati na bazi glina su se i u tim slučajevima pokazali efikasnim i sprečili negativno dejstvo AFT.

AFT ne dovodi do poremećaja u sintezi i koncentraciji kreatinina kod pilića što je potvrđeno brojnim radovima (Harvey i sar., 1993, 1994; Edrington i sar., 1997; Ledoux i sar., 1999). Rezultati ove disertacije potvrđuju takvo stanovište (tabela 10). Kod aflatoksikoze pacova ipak dolazi do povećanja koncentracije ovog metabolita (Abdel-Wahhab i sar., 1998) ali je dodatak preparata na bazi gline ublažio taj negativni efekat delovanja AF.

U ovom radu je ustanovljeno da AFTB₁ ne dovodi do promene koncentracije jona kalcijuma (tabela 10) što su pojedini autori u svojim radovima već objavila (Edrington i sar., 1997; Bailey i sar., 1998; Keçeci i sar., 1998). Ipak, preovlađujuće je mišljenje da AF snižava nivo ovog elektrolita u serumu pilića (Harvey i sar., 1993; Allameh i sar., 2005; Yarru i sar., 2009), kokoški (Stanley i sar., 2004), ćurića (Edrington i sar., 1996) i jaganjaca (Ramos i sar., 1996). Smanjena koncentracija jona kalcijuma može biti posledica njihove smanjene apsorpcije unutar digestivnog trakta ili njihovog povećanog izlučivanja preko bubrega ili kombinacija ova dva (Keçeci i sar., 1998). Dodatak glina u hranivo je sprečilo štetno delovanje AFT (Ledoux i sar., 1999; Gowda i sar., 2008; Zhao i sar., 2010), ali ne i dodatak preparata na bazi zeolita (Harvey i sar., 1993).

U literaturi nisu pronađeni podaci da je neko ispitivao uticaj AFT na aktivnost serumske AMY. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da akutna intoksikacija AFTB₁ ne dovodi do promene aktivnosti serumske AMY (tabela 10)

što je bio i očekivan rezultat s obzirom da je glavni ciljnj organ delovanja AFTB₁ jetra a ne pankreas.

Za poređenje rezultata o uticaju AFT na same enzime u jetri, nije bilo dostupne literature, pa smo , rezultate ovog ogleđa poredili sa aktivnosti enzima u serumu.

Na koji način AFT deluje na aktivnost ALP nije potpuno jasno, jer su podaci koji se mogu naći u literaturi veoma kontradiktorni. Dok neki autori smatraju da unos AF u organizam dovodi do povećanja aktivnosti serumske ALP kod pilića (Harvey i sar., 1994; Shi i sar., 2006), pacova (Abdel-Eahhab i sar., 1998, 1999) i prasića (Schell i sar., 1993), druga grupa autora smatra da ovaj mikotoksin ustvari dovodi do inhibicije aktivnosti ALP kod pilića (Bailey i sar., 1998; Allameh i sar., 2005; Zhao i sar., 2010) i jaganjaca (Fernández i sar., 1996). Pojedini autori su pak pronašli da uopšte ne dolazi do promene aktivnosti ovog enzima kod aflatoksikoze peradi (Kubena i sar., 1990; Edrington i sar., 1997; Cheng i sar., 2001; Denli i sar., 2003). Dodatak aluminosilikata u hranivo je uspeo da ublaži poremećaj koji AFT ispoljava na aktivnost ALP (Schell i sar., 1993; Abdel-Wahhab i sar., 1998, 1999; Shi i sar., 2006, Zhao i sar., 2010).

U eksperimentima u kojima je merena aktivnost ALP u homogenatu jetre nakon primene AFT, su pokazali da aplikacija AFT deluje inhibitorno na aktivnost ovog enzima u samim jetrenim ćelijama (Preetha i sar., 2006; Sharmila Banu i sar., 2009).

I literaturni podaci koji se odnose na aktivnost aminotransferaza tokom aflatoksikoze su isto tako neusaglašeni. Dok pojedini autori konstatuju da AF nema uticaja na aktivnost serumske AST i ALT živine (Kubena i sar., 1990; Edrington i sar., 1996; Denli i sar., 2003; Jansen van Rensburg i sar., 2006; Modirsanei i sar., 2008), drugi autori beleže porast aktivnosti ovih enzima u

takvim stanjima kod različitih vrsta životinja (Abdel-Wahhab i sar., 1998, 1999; Cheng i sar., 2001; Tejada-Castañeda i sar., 2008). U nekim radovima je ustanovljeno da dolazi samo do indukcije aktivnosti AST, a li ne i ALT kod pilića (Adav i Govindwar, 1997; Allameh i sar., 2005), ili čak da dolazi do inhibicije AST kod pilića usled delovanja ovog mikotoksina (Huff i sar., 1992). Valdavia i sar. (2001) su ustanovili da je u serumu pilića odnos aktivnosti AST:ALT približno 3:1 i da se unosom AFT u organizam taj odnos menja. Utvrđeno je da dolazi do povećanja aktivnosti AST uz istovremenu inhibiciju aktivnosti ALT tako da je novonastali odnos aktivnosti AST:ALT sada 14:1. Poremećaji u aktivnostima transaminaza su povezani sa razlikama među polovima, kao i sa vrstom i sortom životinja. Dodatkom preparata na bazi aluminosilikata se ublažava poremećaj koji izaziva AF (Huff i sar., 1992; Schell i sar., 1993; Abdel-Wahhab i sar., 1998, 1999). U pojedinim slučajevima (Oğuz i sar., 2002) dodatak klinoptilolita u hranivo pilića kontaminirano sa AFT, samo pogoršava negativni efekat AFT na aktivnost aminotransferaza.

I literaturni podaci za aktivnost aminotransferaza u samim ćelijama jetre pacova su dosta kontradiktorni. Dok su Preetha i sar.(2006) i Sharmila Banu et al (2009) registrovali pad aktivnosti ovih enzima pod dejstvom AFT, El-Agamy (2010) je zabeležila povećanje njihove aktivnosti.

GGT je osetljivi indikator oštećenja jetre. Povećana aktivnost ovog enzima može ukazivati kako na zapaljenske procese ovog organa, tako i na lezije unutar tkiva ili na bilijarnu opstrukciju (Kubena i sar., 1990). Intoksikacija AFT kod pilića može da dovede do povećanja aktivnosti GGT u serumu (Quezada i sar., 2000; Shi i sar., 2006; Tejada-Castañeda i sar., 2008) ili da ne dovede ni do kakve promene u njenoj aktivnosti (Gowda i sar., 2008; Denli i sar., 2009; Zhao i sar., 2010) u zavisnosti koja je doza primenjena, koliko duga je bila ekspozicija organizma ovom toksinu i još od mnogih drugih faktora. Preparati na bazi aluminosilikata

uspešno sprečavaju negativan uticaj AFT na aktivnost ove peptidaze kod pilića (Kubena i sar., 1990) i svinja (Schell i sar., 1993; Harvey i sar., 1994).

Nisu pronađeni podaci o tome na koji način AFT deluje na aktivnost AMY u jetri ili serumu. Analizom aktivnosti enzima jetre nakon primene jedne oralne doze AFTB₁ nisu uočene statistički značajne promene u aktivnosti ALP, ALT i AMY (tabela 11). Došlo je samo do inhibicije aktivnosti GGT u samoj jetri. Razlog ovakvog delovanja AFTB₁, pri ovoj primenjenoj dozi, nije sasvim jasan i nije u saglasnosti sa rezultatima koje su dobili drugi autori. Dodatak ATN-a je uspeo da delimično ublaži ovakav način delovanja AFTB₁ na jetru (tabela 11).

Poznato je da AFT može da dovede do oksidativnog stresa u animalnim tkivima, da poveća intenzitet lipidne peroksidacije u njima i da dovede do pada ćelijskog antioksidativnog sistema. Do oksidativnog stresa u tkivu ili ćeliji dolazi onda kada koncentracija nastalih reaktivnih kiseoničnih čestica (superoksid radikala, hidroksil radikala i vodonik peroksida) veća od antioksidativnog kapaciteta ćelije ili kada je antioksidativni kapacitet ćelije iz nekog razloga smanjen (Choudhary i Verma, 2005). Dosadašnja istraživanja su pokazala da AF dovodi do značajnih promena u antioksidativnom sistemu u eritrocitima ljudi i životinja. Unos AFT u organizam dovodi do inhibicije aktivnosti svih merenih enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, GSH-Px i CAT) i do značajnog povećanja intenziteta lipidne peroksidacije u eritrocitima pilića (Eraslan i sar., 2005c), pacova (Abdel-Wahhab i Aly, 2005; Yener i sar., 2009), pa i ljudi (Turkez i Geyikoglu, 2010). Jedino u aktivnosti GST pacova nije uočena nikakva promena u eritrocitima pacova pod dejstvom AFT (Yener i sar., 2009). Isti odgovor na dejstvo AFT je dobijen i u drugim organima.

Najviše je proučavan odgovor antioksidativnog sistema u jetri, jer je jetra najvažniji organ u detoksifikaciji AFT, a i AFT je klasifikovan kao hepatotoksin jer svojim delovanjem pogađa najviše ovaj organ. Pad aktivnosti svih enzima

antioksidativne zaštite je uočen i u jetri. Aktivnost SOD-1 je pod dejstvom AFT bila značajno manja u jetri pilića (Shi i sar., 2006), miševa (Choudhary i Verma, 2005; Naaz i sar., 2007; Choi i sar., 2010) i pacova (Preetha i sar., 2006; El-Agamy, 2010). Isti odgovor organizma je dobijen i kada je u pitanju aktivnost katalaze jetre pilića (Gowda i sar., 2008), miševa (Choudhary i Verma, 2005) i pacova (Abdel-Wahhab i Aly, 2005; Jodynis-Liebert i sar., 2006; Sharmila Banu i sar., 2009). Peroksidazna aktivnost je merena preko GSH-Px i to je utvrđeno da AFT deluje inhibitorno na aktivnost ovog enzima jetre (Preetha i sar., 2006; Shi i sar., 2006; Naaz i sar., 2007; El-Agamy, 2010), kao i na aktivnost GST (Preetha i sar., 2006; 2006; Naaz i sar., 2007; Sharmila Banu i sar., 2009). Padom aktivnosti enzimskog sistema antioksidativne zaštite jetra dospeva u stanje oksidativnog stresa. Posledica toga je povećan intenzitet lipidne peroksidacije i oštećenje samog organa. Povećan intenzitet lipidne peroksidacije pod dejstvom AFT je detaljno proučen i zabeležen je kod svih ispitivanih životinjskih vrsta: pilića (Özen i sar., 2009), miševa (Ankrah i sar., 1995; Choi i sar., 2010), pacova (Jodynis-Liebert i sar., 2006; Preetha i sar., 2006), pa i riba (Madhusudhanan i sar., 2004). Dodatkom gline u hranivo pilića smanjeni su negativni efekti delovanja AFT na jetru i sprečena pojava oksidativnog stresa (Shi i sar., 2006; Gowda i sar., 2008). Jedna primenjena doza AFTB₁ uneta oralnim putem nije dovela do izrazitih karakteristika oksidativnog stresa u jetri brojlera (tabela 13). Uočava se pad aktivnosti samo GST, što je u saglasnosti sa rezultatima koje su dobili drugi autori, dok je aktivnost ostalih enzima antioksidativne zaštite ostala nepromenjena u odnosu na kontrolnu grupu brojlera. Da je jetra uopšte u stanju oksidativnog stresa nakon unosa AFTB₁ uočava se samo na osnovu povećanog intenziteta lipidne peroksidacije koji je utvrđen u ovom organu. Prema očekivanjima, oralni unos ATN-a ima zaštitnu ulogu u delovanju AFTB₁ na jetru (tabela 13).

Bubrezi su isto osetljiv organ kada je delovanje AFT u pitanju. Utvrđeno je da kod svih ispitivanih životinjskih vrsta unos AFT u organizam dovodi do intenziviranja lipidne peroksidacije u ovom organu, što dovodi do oksidativnog stresa (Rastogi i sar., 2001; Madhusudhanan i sar., 2004; Sivanesan i Hazeena Begum, 2007; Özen i sar., 2009; Ameen Abdulmajeed, 2010). Istovremeno je zabeležena i inhibicija aktivnosti svih merenih enzima antioksidativne zaštite (Rastogi i sar., 2001; Sivanesan i Hazeena Begum, 2007; Ameen Abdulmajeed, 2010). Iako je jetra primarni organ delovanja AFT, te je stoga ovaj mikotoksin i svrstan u hepatotoksine, u ovom ogledu njegovo dejstvo je bilo mnogo izraženije na biohemijske procese u bubrezima nego u jetri. Unos jedne doze AFTB₁ doveo je do inhibicije aktivnosti SOD-1 i peroksidaza kod brojlera, što je i dovelo do povećanog intenziteta lipidne peroksidacije u ovom organu (tabela 14). Oralni unos preparata na bazi aluminosilikata, ATN-a, je uspeo da delimično, ali ne i potpuno, ublaži negativne efekte delovanja AFTB₁ na ovaj organ.

Dejstvo AF na antioksidativne enzime u drugim organima je ispitivano u mnogo manjoj meri tako da se u literaturi može pronaći samo da AFT dovodi do oksidativnog stresa u mozgu pacova (Yener i sar., 2009) i riba (Madhusudhanan i sar., 2004), ali bez promena u aktivnosti CAT i SOD-1 (Yener i sar., 2009). Theumer i sar. (2010) su zabeležili povećan intenzitet lipidne peroksidacije u slezini pacova, uz istovremeno povećanje aktivnosti SOD-1 i CAT. Oralni unos jedne doze AFTB₁ nije doveo do značajnijih promena u aktivnosti enzima antioksidativne zaštite i intenziteta lipidne peroksidacije u drugim organima brojlera (tabele 15-22). Jedini izuzetak je blago povećana aktivnost CAT pod dejstvom AFTB₁ u pankreasu (tabela 15) i slezini (tabela16).

Unos AFT u organizam pilića dovodi do histopatoloških promena na većini organa. Najkarakterističnije su promene koje se odigravaju na jetri gde i male količine unetog AFT mogu da prouzrokuju brojne mikroskopske promene koje

uključuju hepatičnu nekrozu, bilijarnu hiperplaziju i degenerativne masne promene (Ledoux i sar., 1999). AF kod pilića dovodi do povećanja relativne mase jetre (Ortatatli i Oğuz, 2001; Rosa i sar., 2001; Jansen van Rensburg i sar., 2006; Denli i sar., 2009), ali i bubrega (Kubena i sar., 1990; Pimpukdee i sar., 2004; Shi i sar., 2006) i srca (Huff i sar., 1992; Bailey i sar., 1998; Jansen van Rensburg i sar., 2006). Kada je u pitanju dejstvo AFT na relativnu masu želuca, uočeno je da AF najčešće dovodi do povećanja njegovog žlezdanog dela, a mnogo ređe i do povećanja mišićnog dela ovog organa (Harvey i sar., 1993; Ledoux i sar., 1999). Pankreas i slezina takođe mogu da budu meta delovanja AFT, ali ne dolazi uvek do povećanja njihove relativne mase pod dejstvom AFT (Kubena i sar., 1990; Edrington i sar., 1997; Bailey i sar., 1998; Ledoux i sar., 1999; Shi i sar., 2006; Modirsanei i sar., 2008). Aflatoksikoza ne utiče na relativnu masu Fabricijeve burze pilića (Ortatatli i Oğuz, 2001; Ortatatli i sar., 2005; Modirsanei i sar., 2008). Zbog primene samo jedne doze AFTB₁ neposredno pred žrtvovanje, nikakve razlike u relativnim masama unutrašnjih organa (tabela 24) ili relativnim masama odabranih delova trupa (tabela 25) se nisu ni očekivale zbog male primenjene doze i kratkog vremenskog perioda da AFTB₁ ispolji svoj puni efekat.

Akutni unos manje doze AFTB₁ (1 mg/kg telesne mase) ne dovodi do značajnijih poremećaja koji remete biohemijsku homeostazu pilića. Odgovor organizma na delovanja AFTB₁ se pre svega uočava u promeni aktivnosti enzima antioksidativne zaštite i povećanju lipidne peroksidacije u jetri i bubrezima, ali ne i u drugim organima. Drugi enzimi jetre su mnogo stabilniji i mnogo manje osetljiv pokazatelj delovanja AFT, te manje doze i/ili akutna primena AFTB₁ neće dovesti do promene njihove aktivnosti. Isti slučaj je i sa enzimima, metabolitima i elektrolitima seruma do čijeg poremećaja mogu da dovedu samo veće primenjene doze ili hroničan unos AFT. ATN je, slično kao i drugi preparati ovog tipa, dao očekivane rezultate i ublažio štetno delovanje ovog mikotoksina na jetru i bubrege

jer je adsorbovao AFTB₁ već u samim crevima i na taj način sprečio njegov dalji prodor u organizam.

6.3. Ogled 3

6.3.1. Parakvat

Analizom pojedinih parametara krvog seruma se mnogo toga može otkriti o stanju samog organizma, funkcijama pojedinih organa i o delovanju pojedinih supstanci na njihovu homeostazu. Pošto unos PK u organizam dovodi do poremećaja funkcije većeg broja organa, za očekivati je da se takvo delovanje ovog pesticida odražava i na koncentracije pojedinih konstituenata krvnog seruma i hemolizata. Jedan od glavnih pokazatelja delovanja PK u serumu je povećanje koncentracije kreatinina, što je potvrđeno u brojnim radovima, kod ljudi (Fairshter i sar. 1976, Franzen i sar. 1991, Hong i sar. 2000, Huh i sar. 2006), miševa (Nagano i sar. 1992) i pacova (Attia i Nasr 2009), a i u ovom radu (tabela 26). ATN se pokazao kao efikasnim u poništavanju štetnog delovanja PK na nivo ovog metabolita u serumu (tabela 26). Ovo povećanje koncentracije kreatinina često je praćeno i snižavanjem koncentracije ukupnih proteina seruma (Wershana 2001, Attia i Nasr 2009) i glukoze (Wershana 2001) kod životinja. Takve promene u koncentraciji rastvorljivih proteina i glukoze nisu uočene u ovom eksperimentu (tabela 26).

Nije pronađen nijedan literaturni podatak koji bi ukazivao na koji način PK utiče na koncentraciju jona kalcijuma u serumu ili na aktivnost serumske amilaze. Na osnovu rezultata dobijenih u ovom ogledu može se zaključiti da oralni unos PK ne dovodi do poremećaja homeostaze ova dva parametra (tabela 26).

Iako jetra nije glavni ciljani organ delovanja PK i na njoj se često uočavaju patološke promene usled delovanja ovog pesticida i to kako na biohemijskom,

tako i na fiziološkom i histološkom nivou (Dere i sar. 2001, Kori-Siakpere i sar. 2007).

Jedan od glavnih biomarkera funkcije jetre su aminotransferaze i svaka promena njihove aktivnosti ukazuje na neke poremećaje koji se odigravaju u ovom organu (Görgens i sar. 1988, Yakubu i sar. 2005). Povećanje aktivnosti ALT pod dejstvom PK koji je uočen u ovom ogledu (tabela 27) je u saglasnosti sa rezultatima eksperimenata drugih autora. Do sličnih rezultata su došli i Dere i sar. (2001) u eksperimentu sa pilićima koji su primili PK i.p. putem, a i Kori-Siakpere i sar. (2007) u ogledu sa ribama.

ALP je takođe važan pokazatelj funkcije jetre (Kaplan i Righetti 1970, Yorio i sar. 2000, Yakubu i sar. 2005) i u ovom radu je uočen pad aktivnosti ovog enzima pod dejstvom PK (tabela 27). Drugi autori, poput Raja i sar. (1992) u eksperimentu sa zečevima, nisu uočili promenu aktivnosti ovog enzima.

Za razliku od Dere i sar. (2001) koji su u jetri pilića koji su dobili dozu PK i.p. putem ustanovili značajno veću aktivnost GGT, u ovom ogledu nije zabeležena promena aktivnosti ovog enzima kod pilića koji su primali PK oralnim putem (tabela 27). Ni aktivnost amilaze se nije značajno razlikovala između eksperimentalnih grupa (tabela 27), što ukazuje na to da PK ne utiče značajno na aktivnost ovog enzima u jetri.

Dere i sar. (2001) su publikovali rezultate koji ukazuju na to da PK može da utiče i na druge biomarkere funkcije jetre, dovodeći do inhibicije aktivnosti CK ili do značajnog povećanja aktivnosti LDH. ATN je ispoljio protektivno dejstvo u delovanju ovog herbicida na aktivnost enzima jetre (tabela 27).

Poznato je da PK podstiče hiperprodukciju reaktivnih kiseoničnih čestica, što dovodi do oksidativnih oštećenja makromolekula tkiva, uključujući i DNK, proteine i lipide (Dere i sar. 2001, Dafre i sar. 2004, Huh i sar. 2006). To neminovno dovodi do aktiviranja sistema antioksidativne zaštite u tkivima i organima.

Dosadašnji rezultati istraživanja nisu usaglašena. . Delom se ti rezultati razlikuju zbog različitih postavki ogleda, različitih životinjskih vrsta, načina primene i doze PK kao i različite dužine ekspozicije ovoj reaktivnoj supstanci. Ipak, čak i u pojedinim eksperimentima koji su međusobno veoma slični životinje su dale različite biohemijske odgovore na stimulans.

Nakon primene PK došlo je do slučajeva kada je u jetri zabeležena značajno veća aktivnost SOD-1, i to i kod pacova kod kojih je PK bio apliciran i.p. putem (Noriega i sar. 2002) ili oralnim putem (Tieppo i sar. 2006), a i kod riba (Figueiredo-Fernandes i sar. 2006). Interesantno je da su i Peixoto i sar. (2004) i Igarashi i sar. (1998, 2000) otkrili da kod pacova koji su bili izloženi delovanju PK dolazi do pada aktivnosti SOD-2 u mitohondrijama jetre, ali da u citosolskoj frakciji(SOD-1) ne dolazi ni do kakve promene aktivnosti ovog enzima. I kod žaba je uočen pad u aktivnosti ovog KOG? enzima nakon primene PK (Czarniewska i sar. 2003). Tsuchiya i sar. (1996) nije zabeležio nikakvu promenu aktivnosti SOD-1 u jetri pacova koji su PK primili putem hrane.

PK je delovao induktivno na aktivnost katalaze jetre pacova, bilo da je PK unešen u organizam oralnim (Tsuchiya i sar. 1996) ili intraperitonealnim putem (Noriega i sar. 2002, Ray i sar. 2007). I u *in vitro* kulturama hepatocita je došlo do povećanja aktivnosti CAT (Sousa i sar. 2009). Naspurot njima, brojni autori su ustanovili da u mithondrijama jetre pacova koji su bili izloženi delovanju PK dolazi do supresije aktivnosti SOD-2 (Igarashi i sar. 1998, 2000, Peixoto i sar. 2004, Ghazi-Khansari i Mohammadi-Bardbori 2007), dok kod citosolske frakcije, sa SOD-1 nema promene aktovnosti (Igarashi i sar. 1998, 2000). Tieppo i sar. (2006) nije zabeležio promenu aktivnosti SOD-1 u jetri pacova nakon unošenja ove supstance u organizam oralnim putem. U jetri žaba su Czarniewska i sar. (2003) zabeležili da je došlo do značajne aktivacije SOD-1 6 dana nakon primene PK, ali

da je pri sledećem merenju aktivnost ovog enzima bila značajno niža u odnosu na kontrolnu grupu.

Što se peroksidazne aktivnosti tiče svi drugi autori su merili aktivnost glutation-peroksidaze, ali su rezultati koji su dobijeni nakon delovanja PK na jetru različiti. Dok su Noriega i sar. (2002) i Ray i sar. (2007) kod pacova koji su PK primili i.p. putem i Tsuchiya i sar. (1996) kod pacova kod kojih je PK unet oralnim putem, zabeležili značajno veću aktivnost ovog enzima u jetri, Peixoto i sar. (2004) je u mitohondrijama jetre pacova i Czarniewska i sar. (2003) u jetri žaba su zabeležili njegovu značajno manju aktivnost. U pojedinim eksperimentima nije uočena nikakva promena u aktivnosti GSH-Px, bilo da su u pitanju jetra pacova koji su PK uneli putem hrane (Aoki i sar. 2002, Tieppo i sar. 2006) ili samo njena citosolska frakcija (Igarashi i sar. 1998, 2000) ili hepatociti pacova (Sousa i sar. 2009).

Iako Aoki i sar. (2002) nisu zabeležili promenu aktivnosti GST u jetri pacova, pojedini drugi autori su uočili povećanje aktivnosti ovog enzima pod dejstvom PK i to i kod pacova (Ray i sar. 2007) i kod riba (Figueiredo-Fernandes i sar. 2006).

PK nije doveo do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije u jetri pacova (Aoki i sar. 2002, Anguelov i Chichovska 2004) i riba (Parvez i Raisuddin 2006), mada su neki autori konstatovali da PK dovodi do značajnog povećanja lipidne peroksidacije. Veći intenzitet lipidne peroksidacije u jetri je uočen kod pacova koji su PK uneli u organizam putem hrane (Tsuchiya i sar. 1996, Igarashi i sar. 2000), intraperitonealnim (Melchiorri i sar. 1994, Piotrowski i sar. 1996, Noriega i sar. 2002) ili subkutanim putem (Malekinejad i sar. 2010). Povećanje intenziteta lipidne peroksidacije je zabeležen i u mikrozomalnoj frakciji (Tomita i Okuyama 1994, Ahmad i sar. 2010), mitohondrijama (Ghazi-Khansari i Mohammadi-Bardbori 2007, Mohammadi-Bardbori i Ghazi-Khansari 2007) jetre pacova, kao i u hepatocitima (Sousa i sar. 2009). Svoje toksične efekte praćene poremećajem

funkcije jetre PK je pokazao i u ovom radu (tabela 29). Kod brojlera koji su hronično, oralnim putem, unosili PK u organizam došlo je do statistički značajnog povećanja aktivnosti SOD-1, CAT i GST, što je rezultiralo pojavom oksidativnog stresa i povećanim intenzitetom lipidne peroksidacije. Jedino je aktivnost GPx i PPx ostala nepromenjena i na nivou kontrolne grupe pilića. ATN je u punoj meri ispoljio svoje protektivno dejstvo i zaštitio jetru od toksičnih efekata koje PK izaziva (tabela 29).

Bubrezi su posebno osetljivi na delovanje PK (Fowler i Brooks 1971, Florkowski i sar. 1992). Dodatak PK u kulturu ćelija bubrega dovodi do povećanja aktivnosti ćelijske SOD-1 (Samai i sar. 2008). Primećena je i povećana aktivnost katalaze, kao i GSH-Px u bubrezima pacova koji su primili jednu dozu PK i.p. putem (Ray i sar. 2007). Sve to ukazuje da PK dovodi do oksidativnog stresa u ćelijama bubrega što rezultira i povećanim intenzitetom lipidne peroksidacije u ovom organu (Gil i sar. 2005, Samai i sar. 2008). Pojedini autori ipak nisu došli do ovakvih podataka (Piotrowski i sar. 1996, Anguelov i Chichovska 2004) kod pacova koji su dobijali PK intraperitonealnim putem, a ni kod riba (Parvez i Raisuddin 2006). Dejstvo PK na bubrege brojlera se ogleda u poremećaju aktivnosti enzima antioksidativne zaštite, kao i u povećanom intenzitetu lipidne peroksidacije (tabela 30). Slobodni radikali nastali delovanjem PK, indukuju povećanu aktivnost SOD-1 i GPx, ali i do inhibicije aktivnosti CAT. Sve to rezultira pojavom oksidativnog stresa i u ovom organu. ATN se pokazao kao vrlo uspešan preparat u zaštiti bubrega od dejstva PK jer nije uočena ni jedna promena u aktivnost antioksidativnih enzima kod pilića koji su oralnim putem unosili i PK i ATN u količini od 0,5% (tabela 30).

Glavni organ gde se ispoljavaju toksični efekti delovanja PK su pluća. Na njima se uočavaju najintenzivnije morfo-fiziološke promene koje su najčešći uzrok smrti organizma (Piotrowski i sar. 1996, Ali i sar. 2000, Candan i Alagözlü 2001).

Takvo delovanje PK se ogleda i u poremećaju aktivnosti enzima antioksidativne zaštite, kao i u povećanoj lipidnoj peroksidaciji. Pri unosu PK u organizam pacova različiti autori su dobili kontradiktorne podatke vezane za aktivnost SOD u plućima. Pri intraperitonealnoj primeni PK, Candan i Alagözlü (2001) su registrovali povećanje aktivnosti ovog enzima, dok su Zhi i sar. (2011) ustanovili značajno smanjenje. Sa druge strane, Igarashi i sar. (1998) nije pronašao nikakvu promenu u aktivnosti SOD-1 kad se kod pacova PK unese oralnim putem. Podaci dobijeni za aktivnost katalaze u plućima su malo ujednačeniji. Veći broj autora je je pronašao da do povećanja aktivnost ovog enzima u plućima dolazi kada se PK primeni i.p. putem, i to kako kod pacova (Dinis-Oliveira i sar. 2007, Ray i sar. 2007), tako i kod miševa (Ali i sar. 2000). Ali i sar. (2000) su u isto vreme utvrdili da ne dolazi do poremećaja aktivnosti katalaze pluća kada se na pacovima primeni PK i.p. putem, a do sličnih rezultata su došli i Igarashi i sar. (1998) kod pacova koji su PK unosili oralnim putem. Što se peroksidazne aktivnosti tiče u svim eksperimentima je merena aktivnosti GSH-Px u plućima pacova ili *in vitro* u kulturama ćelija plućnog porekla i tu su dobijeni isto tako vrlo raznoliki i često kontradiktorni podaci. Dok jedni autori tvrde da se usled dejstva PK aktivnost ovog enzima povećava (Dinis-Oliveira i sar. 2007, Ray i sar. 2007, Takizawa i sar. 2007), drugi su pronašli da se njegova aktivnost smanjuje (Candan i Alagözlü 2001, Zhi i sar. 2011), a treći nisu registrovali nikakve promene aktivnosti (Igarashi i sar. 1998, Aoki i sar. 2002). Izuzev u par radova gde je publikovano da PK nije doveo do povećanja intenziteta lipidne peroksidacije plućnog tkiva (Igarashi i sar. 1998, Aoki i sar. 2002), većina drugih autora pronalazi da PK izaziva povećanje intenziteta lipidne peroksidacije u manjoj ili većoj meri, i to pacova (Piotrowski i sar. 1996, Ali i sar. 2000, Candan i Alagözlü 2001, Anguelov i Chichovska 2004, Asmadi i sar. 2005, Mohammadi-Karakani i sar. 2006, Dinis-Oliveira i sar. 2007, Malekinejad i sar. 2010, Zhi i sar. 2011), miševa (Mustafa i sar. 2002, Gamal el-Din

i sar. 2005a) i prepelica (Galvani i sar. 2000) bez obzira na način unosa pesticida u organizam. Da su pluća glavni ciljni organ delovanja PK kod životinja potvrđeno je i rezultatima ovog rada. Oralnim unosom u organizam PK je doveo do pojave oksidativnog stresa u plućima brojlera, što se ogleda u statistički značajno većoj aktivnosti SOD-1 i CAT i većim intenzitetom lipidne peroksidacije u odnosu na piliće kontrolne grupe (tabela 33).

Drugi organi su takođe podložni oksidativnom stresu ako se PK na neki način unese u organizam ali su i ovde podaci dobijeni u dosadašnjim istraživanjima dosta neujednačeni. U radovima je potvrđeno da PK ne utiče na koncentraciju hemoglobina u eritrocitima kod ljudi (Fairshter i sar. 1976, Hong i sar. 2000) i morskih prasića (Wershana 2001). U eritrocitima su uočene druge promene u biohemijskim procesima. Ako pacovi unesu PK u telo oralnim putem može doći ili do inhibicije aktivnosti SOD-1 (Igarashi i sar. 1998) ili može proći bez ikakvog efekta na ovaj enzim (Tsuchiya i sar. 1996). Slični rezultati su dobijeni i kada je u pitanju aktivnost katalaze. Tsuchiya i sar. (1996) i Igarashi i sar. (1998) nisu uočili nikakvu promenu aktivnosti ovog enzima usled dodatka PK, dok su Ivanović i sar. (2007) i Ray i sar. (2007) zabeležili njegovu značajno veću aktivnost. Većina autora jedan od glavnih pokazatelja prooksidativnog delovanja PK u eritrocitima je povećana peroksidazana aktivnost, pre svega GSH-Px (Tsuchiya i sar. 1996, Galvani i sar. 2000, Ray i sar. 2007). PK dovodi do značajno većeg intenziteta lipidne peroksidacije u eritrocitima (Ivanović i sar. 2007). Ivanović i sar. (2007) su takođe pokazali da su prirodni i sintetički bentoniti sposobni da u *in vivo* uslovima, u samom lumenu digestivnog trakta adsorbuju molekule PK i na taj način smanje njegovo štetno delovanje na biohemijske i fiziološke procese u organizmu, a pre svega u eritrocitima životinja. Rezultati ovog oglada ukazuju da PK ne utiče na koncentraciju Hb, ali dovodi do oksidativnog stresa u eritrocitima brojlera (tabela 28). PK dovodi do statistički značajnog povećanja aktivnosti SOD-

1, CAT i GST, ali i do indukcije peroksidaza. Povećanje aktivnosti svih merenih enzima antioksidativne zaštite jasno ukazuje na hiperprodukciju slobodnih radikala u ovim ćelijama. Antioksidativni sistem odbrane nije imao dovoljan kapacitet da zaštiti ćelije od toksičnog delovanja PK što je dovelo do oksidativnog stresa i povećanog intenziteta lipidne peroksidacije u ovim ćelijama. Kod pilića koji su zajedno sa PK unosili u organizam i ATN nisu uočeni nikakvi znaci poremećaja aktivnosti enzima ili oksidativnog stresa, što jasno ukazuje na protektivnu ulogu ovog preparata (tabela 28).

I nervno tkivo, a pre svega mozak je podložan prooksidativnom delovanju PK, što dovodi do povećanog intenziteta lipidne peroksidacije u ovom tkivu (Mollace i sar. 2003, Somayajulu-Nițu i sar. 2009). Oralni unos PK nije doveo do promena aktivnosti enzima antioksidativne zaštite, niti izazvao povećanje intenziteta lipidne peroksidacije u odnosu na piliće kontrolne grupe (tabela 34).

Srčani mišić nije toliko pogođen štetnim delovanjem PK po organizam, te u njemu nije uočen veći intenzitet lipidne peroksidacije kod pacova koji su PK primili i.p. putem (Piotrowski i sar. 1996, Anguelov i Chichovska 2004). Ni unos PK oralnim putem nije doveo do poremećaja aktivnosti antioksidativnih enzima srčanog mišića brojlera, ali je zabeležen statistički značajno veći intenzitet lipidne peroksidacije u ovom tkivu (tabela 36), što ukazuje da PK može da dovede srčani mišić u stanje oksidativnog stresa. Takvo dejstvo PK može prouzrokovati ozbiljne posledice po životinju.

Uočava se da oralni unos PK dovodi do statistički značajnog povećanja aktivnosti CAT pankreasa (tabela 31) i GPx duodenuma (tabela 34), ali bez remećenja aktivnosti drugih enzima i bez uticaja na intenzitet lipidne peroksidacije u ovim organima. PK ne pokazuje nikakve efekte na mišićno tkivo grudi i bataka (tabele 37 i 38).

U najvećem broju oglada koji su ispitivali delovanje hroničnog unosa PK u organizam korišćeni su pacovi kao model organizam. Autori ovih radova (Igarashi i sar. 1998, 2000, Aoki i sar. 2002, Dinis-Oliveira i sar. 2007, Shopova et al 2007) su ustanovili da pod dejstvom PK dolazi do smanjenog prirasta životinja, ili do gubitka na masi kod odraslih jedinki (Malekinejad i sar. 2010), kao i do promene relativnih masa pojedinih unutrašnjih organa, a pre svega povećana relativna masa pluća i značajno smanjena relativna masa jetre. Vremenski period od tri nedelje je relativno kratak da bi se uočilo delovanje PK na prirast brojlera. Slabiji prirast pilića PK grupe u odnosu na kontrolnu, ATN i PK-ATN grupu, se uočava tek u toku poslednje nedelje (tabela 39). Pretpostavlja se da bi se razlike u masi između eksperimentalnih grupa povećale da je eksperiment duže trajao. Merenjem mase unutrašnjih organa uočena je samo veća relativna masa pluća brojlera hranjenih sa dodatkom PK i blago uvećanje mase bubrega, ali ne i statistički značajno (tabela 40). Smanjenje relativne mase jetre pod uticajem PK, koje su zabeležili drugi autori, nije uočeno u ovom radu. I relativne mase ostalih merenih organa su bile izjednačene sa relativnim masama kontrolne i ATN grupe (tabela 40). Zbog kratkog vremenskog perioda uzgoja ni na relativnim masama odabranih delova trupa pilića se ne uočavaju statistički značajne razlike između eksperimentalnih grupa (tabela 41).

Analizom rezultata dobijenih u ovom radu zaključuje se da oralni unos PK dovodi do indukcije antioksidativnih enzima i povećanja intenziteta lipidne peroksidacije u mnogim tkivima i organima. Najveće promene se dešavaju u plućima, bubrezima, eritrocitima i jetri gde je produkcija slobodnih radikala i najveća. Aluminosilikatna osnova ATN-a se pokazala kao uspešan antidot protiv trovanja brojlera ovim herbicidom. Pretpostavlja se da monmorilonit prisutan u ATN-u najodgovorniji za adsorpciju i inaktivaciju PK u *in vivo* uslovima (ko?, radovi).

6.3.2. Ohratoksin

OTA je veoma snažan nefrotoksin, ali pokazuje i hepatotoksične efekte. Unet u organizam dovodi do niza poremećaja čije se posledice mogu videti i analizom krvog seruma. OTA dovodi do pada koncentracije proteina seruma kod živine (Sandhu i sar., 1998; Stoev i sar., 2002; García i sar., 2003; Sawale i sar., 2009; Zahoor-ul-Hassan i sar., 2010), svinja (Stoev i sar., 2001) i pacova (Abdel-Wahhab i sar., 2008), i do povećanja nivoa serumskog kreatinina kod živine (Stoev i sar., 2002; Sakhare i sar., 2007; Zahoor-ul-Hassan i sar., 2010), pacova (Dorant i sar., 2001; Malekinejad i sar. 2011) i svinja (Stoev i sar., 2001; Jarczyk i sar., 2008). Unosom OTA u organizam dolazi do pada koncentracije jona kalcijuma u serumu kod pilića (Santin i sar., 2002), ali drugi autori nisu zabeležili takav uticaj OTA kod koka nosilja (Zahoor-ul-Hassan i sar., 2010) ili svinja (Jarczyk i sar., 2008). Literaturni podaci o delovanju OTA na nivo serumске glukoze su protivrečni. Álvarez i sar. (2004) nisu registrovali nikakvu promenu koncentracije ovog metabolita u serumu pacova usled delovanja OTA. Stoev i sar. (2001) su zabeležili da usled unosa u organizam svinja dolazi do pada koncentracije glukoze u krvi, a ista grupa autora (Stoev i sar., 2002) je kod pilića registrovala povećan nivo glukoze u serumu. Nisu pronađeni literaturni podaci o načinu delovanja OTA na aktivnost serumске AMY. Preparati na bazi aluminosilikata nisu uspeli da ublaže negativan efekat delovanja OTA na merene serumске parametre KOJE? (Santin i sar., 2002; García i sar., 2003; Jarczyk i sar., 2008). Akutna primena jedne doze OTA nije dovela do značajnijih promena u homeostazi ispitivanih parametara krvog seruma (tablea 25). Jedina uočena promena je povećanje koncentracije serumskog kreatinina pod uticajem ovog mikotoksina, što je u saglasnosti sa rezultatima koje su publikovali i drugi autori ?. Unos ATN-a zajedno sa OTA je ublažio ovaj poremećaj (tablea 26).

Unos OTA u organizam dovodi do povećanja aktivnosti ALP jetre pacova (Atroshi i sar., 2000), a isti takav odgovor se dobija i u serumu (Dorant i sar., 2001; Malekinejad i sar., 2011). Aktivnost ALP je povećana i u serumu živine kao posledica toksičnog delovanja OTA (Sakhare i sar., 2007; Denli i sar., 2008). Kao posledica unosa OTA u organizam životinja je i povećanje aktivnosti aminotransferaza u jetri pacova (Atroshi i sar., 2000) i u serumu pacova (Dorant i sar., 2001; Malekinejad i sar., 2011) i živine (Santin i sar., 2002; Sawale i sar., 2009; Zahoor-ul-Hassan i sar., 2010). Ipak, pojedini autori nisu uočili aktivaciju ovih enzima u serumu nakon unosa OTA (Sandhu i sar., 1998; García i sar., 2003; Álvarez i sar., 2004). Iako je zabeleženo da OTA dovodi po povećanja aktivnosti GGT seruma kod živine (Dorant i sar., 2001; Santin i sar., 2002; Denli i sar., 2008), Atroshi i sar. (2000) nisu registrovali promenu aktivnosti ovog enzima u jetri tokom ohratoksikoze pacova. Dodatkom gline u hranivo se ne ublažava toksično delovanje OTA (Santin i sar., 2002; Jarczyk i sar., 2008). Primena jedne doze OTA oralnim putem kod brojlera dovodi do inhibicije aktivnosti ALP jetre (tabela 27), što je u saglasnosti sa rezultatima koje su dobili i drugi autori. ATN dodat u hranivo nije uspeo da poništi negativno delovanje OTA na aktivnost ALP ovog organa. Drugi izmereni poremećaj funkcije jetre je statistički značajno povećanje aktivnosti AMY. U ovom slučaju ATN je delovao protektivno i poništio nepovoljan efekat delovanja OTA (tabela 27).

OTA inhibira aktivnost SOD-1 u bubrezima i jetri miševa i pacova (Meki i Hussein, 2001; Özçelik i sar., 2004; Abdel-Wahhab i sar., 2008; Chakraborty i Verma, 2010). Moguće je da OTA u tkivima reaguje sa bakrom i/ili cinkom iz molekula SOD-1 i na taj način izaziva inhibiciju aktivnosti ovog enzima (Meki i Hussein, 2001). Unosom OTA u organizam i aktivnost CAT je značajno smanjena u ova dva organa (Meki i Hussein, 2001; Chakraborty i Verma, 2010). Smanjena aktivnost CAT usled delovanja OTA može biti posledica smanjenja apsorpcije

esencijalnih elemenata neophodnih za aktivnost ovog enzima (Meki i Hussein, 2001). OTA dovodi i do pada aktivnosti GSH-Px u tkivu oba ispitivana organa (Meki i Hussein, 2001; Özçelik i sar., 2004; Abdel-Wahhab i sar., 2008; Chakraborty i Verma, 2010). Indukcija GST u ćelijama jetre se može smatrati glavnim mehanizmom zaštite od hemijskog stresa i kancerogeneze. GST je važan deo intracelularnog detoksifikacionog sistema i štiti ćeliju od različitih mutagena i drugih toksičnih supstanci. I pored očiglednih toksičnih efekata koje OTA izaziva u organizmu, nije registrovana indukcija ovog enzima u tkivu jetre pacova (Meki i Hussein, 2001). Do istih rezultata se došlo i u ovom ogledu (tabela 28). Aktivnost GST jetre kod pilića izloženih delovanju OTA nije bio statistički značajno različit od aktivnosti ovog enzima u jetri pilića kontrolne grupe.

OTA indukuje lipidnu peroksidaciju tako što se helatira sa Fe^{3+} gradeći OTA- Fe^{3+} helat koji se mnogo lakše redukuje do OTA- Fe^{2+} kompleksa uz pomoć flavoprotein-NADPH-Citohrom P450 reduktaze. U prisustvu kiseonika novonastali kompleks omogućava stvaranje reaktivnih kiseoničnih čestica koje iniciraju lipidnu peroksidaciju. OTA može intenzivirati nivo lipidne peroksidacije ili tako što uzrokuje povećanu produkciju slobodnoradikalnih čestica i/ili eventualno inhibira endogene mehanizme zaštite od tih čestica (Meki i Hussein, 2001). Povećan intenzitet lipidne peroksidacije u tkivu jetre je zabeležen u radovima mnogih autora (Gautier i sar., 2001; Meki i Hussein, 2001; Soyöz i sar., 2004; Abdel-Wahhab i sar., 2008; Chakraborty i Verma, 2010). Analizom antioksidativnog statusa jetre, nakon primene jedne doze OTA oralnim putem, uočava se jedino inhibicija aktivnosti SOD-1 (tabela 29), što je u skladu sa rezultatima koje su dobijeni od strane i drugih autora. Aktivnosti drugih merenih enzima antioksidativne zaštite u jetri nisu bile različite od onih dobijenih kod pilića kontrolne grupe. Intenzitet lipidne peroksidacije je bio povećan što jasno ukazuje da je i jedna oralna doza OTA dovoljna da dovede jetru u stanje

oksidativnog stresa. Primena ATN-a nije pokazala zadovoljavajuće rezultate. ATN nije uspeo da poništi ili ublaži efekte koje OTA izaziva u jetri (tabela 29). I u bubrezima je nivo lipidne peroksidacije indukovana unosom OTA u organizam, što jasno pokazuje da se i ovaj organ nalazi u stanju oksidativnog stresa (Baudrimont i sar., 1997; Gautier i sar., 2001; Meki i Hussein, 2001; Özçelik i sar., 2004; Abdel-Wahhab i sar., 2008; Chakraborty i Verma, 2010). Čak i jedna doza OTA unetog u organizam oralnim putem je bila dovoljna da ovaj mikotoksin ispolji svoje nefrotoksične osobine kod brojlera. OTA je kod brojlera doveo do pada aktivnosti svih merenih antioksidativnih enzima i doveo do izraženog oksidativnog stresa u ovom organu (tabela 30). Ni dodatak ATN-a u hranivo nije uspeo da poništi ovakvo delovanje OTA na bubrege, aktivnosti svih merenih enzima su ostale smanjene, a intenzitet lipidne peroksidacije statistički značajno povećan (tabela 30).

Literaturni podaci ukazuju da OTA dovodi do statistički značajnog pada koncentracije Hb kod živine i uzrokuje anemiju (Huff i sar., 1979; Janaczyk i sar., 2006; Sakhare i sar., 2007; Sawale i sar., 2009). Takvi rezultati nisu dobijeni u ovom ogledu primenom jedne doze OTA (tabela 28).

Nisu pronađeni literaturni podaci o načinu delovanja OTA u drugim organima. Analizom rezultata ovog rada se uočava i izuzetno snažno delovanje OTA na slezinu (tabela 32). OTA indukuje povećanje aktivnosti sva četiri enzima antioksidativne zaštite (SOD-1, CAT, GPx i PPx) što dovodi ovaj organ u stanje oksidativnog stresa i povećanog intenziteta lipidne peroksidacije. Dodatak ATN-a nije delovao blagotvorno ni kad je slezina u pitanju i nije uspeo da ublaži štetne posledice delovanja OTA (tabela 32). Što se drugih organa tiče, unos OTA nije doveo do ozbiljnijih poremećaja. Uočeno je povećanje aktivnosti nekih enzima u pojedinim organima ali to su izolovani slučajevi i ni u jednom organu nisu uočeni znaci oksidativnog stresa (tabele 28, 31, 33-38).

OTA utiče i na relativne mase unutrašnjih organa kod pilića. Utvrđeno je da dugotrajnim unosom OTA dolazi do uvećanja relativne mase jetre (Sakhare i sar., 2007; Zahoor-ul-Hassan i sar., 2010), bubrega i želuca (Zahoor-ul-Hassan i sar., 2010). Relativna masa Fabricijeve burze je smanjena, kao i masa slezine (Sakhare i sar., 2007). Pošto u ovom radu nije ispitivan dugotrajan unos OTA i pošto je primenjena samo jedna doza i to oralnim putem, nije došlo do promene relativne mase ni jednog merenog organa (tabela 40) ili dela trupa (tabela 41) brojlera.

Unos čak i jedne doze OTA oralnim putem kod pilića se ispoljavaju negativni efekti delovanja ovog mikotoksina ne jetru, bubrege i slezinu. U ovim organima se jasno uočavaju svi znaci oksidativnog stresa izazvanih povećanom produkcijom slobodnoradikalnih čestica. Primena ovako male doze međutim, ne dovodi do sličnog efekta u drugim ispitivanim organima. Primena ATN-a se pokazala neefikasna u zaštiti od ovog mikotoksina, što ukazuje na činjenicu da primena preparata na bazi aluminosilikata u *in vivo* uslovima nije rešenje za sprečavanje mikotoksikoza.

7. ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata primene Antitoksičnog nutritiva (ATN), preparata na bazi prirodnih aluminosilikata, u ishrani pilića (5 g/kg hraniva), tokom 3 ili 6 nedelja, mogu se izvesti sledeći zaključci:

- svi hematološki i biohemijski parametri određivani u serumu i homogenatu jetre ukazuju da ATN ne remeti normalne biohemijske procese, a da vitalne fiziološke funkcije pilića ostaju očuvane,
- aktivnost glutation S-transferaza, enzima detoksikacije i parametra toksičnosti, nije povećana u grupi pilića sa dodatkom ATN u hrani,
- u grupi sa ATN utvrđene su promene u hemijskom sastavu mesa, povećan je sadržaj proteina a smanjen lipida u belom mesu, a količina pepela je povećana i u belom i u crvenom mesu.
- od parametara uzgoja, utvrđeno je da ATN ne utiče na prirast životinja, ni na konverziju hrane, ali pri dužem, šestonedeljnem, uzgoju dovodi do povećanih relativnih masa pojedinih organa digestivnog trakta.

U eksperimentu toksičnosti čiji cilj je bio da se utvrdi protektivno delovanje ATN u hrani uz prisustvo različitih toksikanata, na osnovu rezultata hematoloških i biohemijskih analiza, određivanja enzima antioksidativne zaštite i lipidne peroksidacije, kao i odredjivanja parametara uzgoja i težine organa, mogu se izvesti sledeći zaključci:

Delovanje mikotoksina - aflatoksina i ohratoksina

- dvanaest časova nakon unosa 1 mg/kg telesne mase aflatoksina B₁ (AFTB₁) kod pilića starih tri nedelje, dolazi do poremećaja, ali ne signifikantnih, u oksidativnom statusu pojedinih organa, pre svega jetre i bubrega, ali se izvesne promene uočavaju i na mozgu. Jedna primenjena doza u ovoj količini nije dovoljna da dovede do značajnijih promena na drugim organima,
- jedna doza ohratoksina A uneta u količini od 1,5 mg/kg telesne mase, dvanaest časova nakon unosa dovodi do signifikantnih promena u aktivnosti enzima antioksidativne zaštite i lipidne peroksidacije, što ukazuje na oksidativni stres, pre svega u bubrezima i slezini, a u manjoj meri i u jetri i plućima,
- na osnovu ispitivanih parametara je utvrđeno da bi ATN, dodat u hranu, mogao da bude dobar protektivni agens za delovanje aflatoksina ali ne i ohratoksina.

Delovanje herbicida – parakvat

- signifikantno povećana aktivnost antioksidativnih enzima i lipidne peroksidacije delovanjem parakvata je utvrđena u plućima, jetri, srcu i bubrezima. Povećan nivo kreatinina u serumu takođe ukazuje na poremećaj funkcije bubrega. Posledica delovanja parakvata su i smanjen prirast pilića i uvećana masa pluća i bubrega,
- ATN dodat u hranivo, uz istovremenu intoksikaciju pilića parakvatom predstavlja odličan detoksifikacioni agens u zaštiti od delovanja ovog herbicida.

Delovanje jona teških metala – olova

- unos olova uzrokuje signifikantni pad koncentracije hemoglobina, dovodeći do anemije kod pilića. Biohemijski parametri, signifikantno promenjeni ukazuju na brojne fiziološke poremeće, a disbalans u aktivnosti antioksidativnih enzima potvrđuje prisustvo oksidativnog stresa u mnogim unutrašnjim organima. Najizrazitije promene se uočavaju na eritrocitima, bubrezima i mozgu, ali se poremećaji uočavaju i na jetri, duodenumu i srcu,
- u grupi pilića hranjenih uz istovremeni dodatak ATN, na osnovu ispitivanih parametara može se zaključiti da nije došlo do poremećaja, kakvi su konstatovani u grupi intoksiciranoj olovom.

Delovanje cijanotoksina - mikrocistina

- hronični unos mikrocistina u toku prve tri nedelje života pilića dovodi do signifikantnog smanjenja koncentracije proteina i kreatinina. Delovanje ovog hepatotoksina se najviše odražava na jetru. Signifikantno je promenjen sistem antioksidativne zaštite, što vodi oksidativnom stresu u jetri, ali i u drugim organima, pre svega u bubregu i duodenumu,
- protektivno delovanje ATN u hrani ogleda se u izostanku patoloških nalaza kod pilića intoksiciranih mikrocistinom.

Opšti zaključak ove teze bi bio da Antitoksični nutritiv, ATN, u količini od 0,5% u hranivo, predstavlja neškodljiv dodatak hrani, koji poboljšava određene parametre uzgoja pilića, a kao snažan detoksifikacioni agens, sprečava delovanje većine ispitivanih toksikanata. Pretpostavlja se da ATN adsorbuje molekule ispitivanih toksina u lumenu digestivnog trakta i da tako sprečava njihov prodor u krvotok.

8. LITERATURA

Abdel-Wahhab M.A., Abdel-Azim S.H., El-Nekeety A.A. **2008**. *Inula crithmoides* extract protects against ochratoxin A-induced oxidative stress, clastogenic and mutagenic alterations in male rats. *Toxicol* 52:566-573.

Abdel-Wahhab M.A., Ahmed H.H., Hagazi M.M. **2006**. Prevention of aflatoxin B₁-initiated hepatotoxicity in rat by marine algae extracts. *J. Appl. Toxicol.* 26:229-238.

Abdel-Wahhab M.A., Aly S.E. **2005**. Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis. *J. Appl. Toxicol.* 25:218-223.

Abdel-Wahhab M.A., Nada S.A., Amra H.A. **1999**. Effect of aluminosilicate and bentonite on aflatoxin-induced developmental toxicity in rat. *J. Appl. Toxicol.* 19:199-204.

Abdel-Wahhab M.A., Nada S.A., Khalil F.A. **2001**. Physiological and toxicological responses in rats fed aflatoxin-contaminated diet with or without sorbent materials. *Anim. Feed Sci. Technol.* 97:209-219.

Abdel-Wahhab M.A., Nada S.A., Farag I.M., Abbas N.F., Amra H.A. **1998**. Potential protective effect of HSCAS and bentonite against dietary aflatoxicosis in rat: with special reference to chromosomal aberrations. *Nat. Toxins* 6:211-218.

Abdollahi M., Fooladian F., Emami B., Zafari K., Bahreini-Moghadam A. **2003**. Protection by sildenafil and theophylline of lead acetate-induced oxidative stress in rat submandibular gland and saliva. *Human Exp. Toxicol.* 22:587-592.

Abrahams P.W. **2001**. Soils: their implications to human health. *Sci. Total Environ.* 291:1-32.

Abramson D. **1998**. Mycotoxin formation and environmental factors. U: K.K. Sinha i D. Bhatnagar (urednici) *Mycotoxins in agriculture and food safety*. Marcell Dekker, New York, s: 255-277.

Adav S.S., Govindwar S.P. **1997**. Effects of aflatoxin B₁ on liver microsomal enzymes in diferent strains of chickens. *Comp. Biochem. Physiol.* 118C:185-189.

Adonaylo V.N., Oteiza P.I. **1999**. Lead intoxication: antioxidant defenses and oxidative damage in rat brain. *Toxicology* 135:77-85.

Aebi H. **1984**. Catalase in vitro. U: L. Parker (urednik) *Methods in Enzymology* 105. Academic Press, New York, s:121-126.

Agrawal P., Laloraya M.M. **1977**. Induction of peroxidase in corpora lutea of rat ovary by lutropin. *Biochem. J.* 166:205-208.

Agarwal R., Srinivas R., Aggarwal A.N., Gupta D. **2006**. Experience with paraquat poisoning in a respiratory intensive care unit in North India. *Singapore Med. J.* 47:1033-1037.

Ahmad I., Shukla S., Kumar A., Kumar Singh B., Kumar Patel D., Prasad Pandey H., Singh C. **2010**. Maneb and paraquat-induced modulation of toxicant responsive genes in the rat liver: Comparison with polymorphonuclear leukocytes. *Chem. Biol. Interact.* 188:566-579.

Ali S., Diwakar G., Pawa S. **2000**. Paraquat induces different pulmonary biochemical responses in Wistar rats and Swiss mice. *Chem. Biol. Interact.* 125:79-91.

Al-Jassabi S., Azirun M.S. **2010a**. The role of sumac in attenuation of microcystin-LR-induced renal oxidative damage in Balb/C mice. *Am-Euras. J. Toxicol. Sci.* 2:123-128.

Al-Jassabi S., Saif-Ali R. **2010b**. Protective role of rosemary extract against microcystin-LR-induced liver injury in Balb/C mice. *Am-Euras. J. Toxicol. Sci.* 2:134-140.

Al-Kahtani M.A., Fathi A.A. **2008**. Physiological studies on tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) as influenced by the cyanobacterial toxins microcystin. *J. Biol. Sci.* 8:1226-1230.

Allameh A., Safamehr A., Mirhadi S.A., Shivazad M., Razzaghi-Abyaneh M., Afshar-Naderi A. **2005**. Evaluation of biochemical and production parameters of broiler chicks fed ammonia treated aflatoxin contaminated maize grains. *Anim. Feed Sci. Technol.* 122:289-301.

Álvarez L., Gil, A.G., Ezpeleta O., García-Jalón J.A., López de Cerain A. **2004**. Immunotoxic effects of Ochratoxin A in wistar rats after oral administration. *Food Chem. Toxicol.* 42:825-834.

Ameen Abdulmajeed N. **2010**. Therapeutic ability of some plant extracts on aflatoxin B₁ induced renal and cardiac damage. *Arabian J. Chem.* 4:1-10.

Anguelov A., Chichovska M. **2004**. Effect of paraquat intoxication and ambroxol treatment on hydrogen peroxide production and lipid peroxidation in selected organs of rat. *Vet. Arhiv* 74:141-155.

Ankrah N-A., Sittie A., Addo P.G.A., Ekuban F.A. **1995**. Enhanced depletion of glutathione and increased liver oxidative damage in aflatoxin-fed mice infected with *Plasmodium berghei*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 89:59-61.

Antonio M.T., Martínez S., Leret M.L., Corpas I. **1996**. Neurotoxic effects of gestational administration of low-dose lead acetate. *J. Appl. Toxicol.* 16:431-436.

AOAC **2002**. Official methods of analysis. U: Horowitz W. (urednik), 17th edition, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, SAD.

Aoki H., Otaka Y., Igarashi K., Takenaka A. **2002**. Soy protein reduces paraquat-induced oxidative stress in rats. *J. Nutr.* *132*:2258-2262.

Asmadi A.Y., Adam A., Wan Ngah W.Z., Norazlina M., Kamisah Y., Nur-Azlina M.F., Qodriyah M.S., Ahmad N.S., Gapor M.T., Marzuki A. **2005**. Tocotrienols and α -tocopherol reduced acute and chronic lung lipid peroxidation induced by paraquat in rats. *Pak. J. Nutr.* *4*:97-100.

Atroshi F., Rizzo A., Sankari S., Biese I., Westermarck T., Veijalainen P. **2000**. Liver enzyme activities of rats exposed to ochratoxin A and T-2 toxin with antioxidants. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* *64*:586-592.

Atroshi F., Rizzo A., Westermarck T., Ali-Vehmas T. **2002**. Antioxidant nutrients and mycotoxins. *Toxicology* *180*:151-167.

Attia A.H., Nasr H.M. **2009**. Evaluation of protective effect of omega-3 fatty acids and selenium on paraquat intoxicated rats. *Slovak J. Anim. Sci.* *42*:180-187.

Bachman S.E., Galyean M.L., Smith G.S., Hallford D.M., Graham J.D. **1992**. Early aspects of locoweed toxicosis and evaluation of a mineral supplement or clinoptilolite as dietary treatments. *J. Anim. Sci.* *70*:3125-3132.

Bailey R.H., Kubena L.F., Harvey R.B., Buckley S.A., Rottinghaus G.E. **1998**. Efficacy of various inorganic sorbents to reduce the toxicity of aflatoxin and T-2 toxin in broiler chickens. *Poult. Sci.* *77*:1623-1630.

Bailey C.A., Latimer G.W., Barr A.C., Wigle W.L., Haq A.U., Balthrop J.E., Kubena L.F. **2006**. Efficacy of montmorillonite clay (NovaSil PLUS) for protecting full-term broilers from aflatoxicosis. *J. Appl. Poult. Res.* *15*:198-206.

Baudrimont I., Ahouandjivo R., Creppy E.E. **1997**. Prevention of lipid peroxidation induced by ochratoxin A in Vero cells in culture by several agents. *Chem. Biol. Interact.* *104*:29-40.

Bennett J.W., Klich M. **2003**. Mycotoxins. *Clin. Microbio. Rev.* *16*:497-516.

Benson J.M., Hutt J.A., Rein K., Boggs S.E., Barr E.B., Fleming L.E. **2005**. The toxicity of microcystin LR in mice following 7 days of inhalation exposure. *Toxicol* *45*:691-698.

Berrahal A.A., Nehdi A., Hajjaji N., Gharbi N., El-Fazâa S. **2007**. Antioxidant enzymes activities and bilirubin level in adult rat treated with lead. *C. R. Biologies* *330*:581-588.

Billam M., Mukhi S., Tang L., Gao W., Wang J.-S. **2008**. Toxic response indicators of microcystin-LR in F344 rats following a single-dose treatment. *Toxicol* *51*:1068-1080.

Bingham A.K., Huebner H.J., Phillips T.D., Bauer J.E. **2004**. Identification and reduction of urinary aflatoxin metabolites in dogs. *Food Chem. Toxicol.* *42*:1851-1858.

Bosi P., Creston D., Casini L. **2002**. Production performance of dairy cows after the dietary addition of clinoptilolite. *Ital. J. Anim. Sci.* *1*:187-195.

Bradford M.M. **1976**. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* *72*:248-254.

Bus J.S., Aust S.D., Gibson J.E. **1976**. Paraquat toxicity: Proposed mechanism of action involving lipid peroxidation. *Environ. Health Prospect.* *16*:139-146.

Candan F., Alagözlü H. **2001**. Captopril inhibits the pulmonary toxicity of paraquat in rats. *Hum. Exp. Toxicol.* *20*:637-641.

Carbis C.R., Mitchel G.F., Anderson J.W., McCauley I. **1996**. The effects of microcystins on the serum biochemistry of carp, *Cyprinus carpio* L., when the toxins are administered by gavage, immersion and intraperitoneal routes. *J. Fish Dis.* *19*:151-159.

Carway W.T., Watts N.B. **1997**. Ugljeni hidrati. U: N.W. Tietz (urednik) Osnovi kliničke hemije. Velarta, Beograd, s: 444-471.

Cerri G., de' Gennaro M., Bonferoni M.C., Caramella C. **2004**. Zeolites in biomedical application: Zn-exchanged clinoptilolite-rich rock as active carrier for antibiotics in *anti-acne* tropical therapy. Appl. Clay Sci. 27:141-150.

Cervantes M.C., David J.T., Loyd D.R., Salinas J.A., Delville Y. **2005**. Lead exposure alters the development of agonistic behavior in golden hamsters. Dev. Psychobiol. 47:158-165.

Chakraborty D., Verma R. **2010**. Ameliorative effect of *Emblica officinalis* aqueous extract on ochratoxin-induced lipid peroxidation in the kidney and liver of mice. Int. J. Occup. Med. Environ. Health 23:63-73.

Chance B., Maehly A.C. **1955**. Methods in Enzymology II, s:773-775.

Chansiripornchai P., Fink-Gremmels J. **2004**. Evaluation of the aflatoxin B₁ adsorption capacity of bentonite using an *in vitro* method mimicking monogastric gastro-intestinal tract conditions. Thai. J. Vet. Med. 34:13-19.

Chelishchev N.F. **1995**. Use of natural zeolites at Chernobyl. U: D.W. Ming i F.A. Mumpton (urednici) Natural Zeolites '93. Int. Comm. Natural Zeolites, Brockport, New York, s: 525-532.

Cheng Y-H., Shen T-F., Pang V.F., Chen B-J. **2001**. Effects of aflatoxin and carotenoids on growth performance and immune response in mule ducklings. Comp. Biochem. Physiol. C 128:19-26.

Choi K.-C., Chung W.-T., Kwon J.-K., Yu J.-Y., Jang Y.-S., Park S.-M., Lee S.-Y., Lee J.-C. **2010**. Inhibitory effects of quercetin on aflatoxin B₁-induced hepatic damage in mice. Food Chem. Toxicol. 48:2747-2753.

Chomchai C., Tiawilai A. **2007**. Fetal poisoning after maternal paraquat ingestion during third trimester of pregnancy: Case report and literature review. J. Med. Toxicol. 3:182-186.

Choudhary A., Verma R.J. **2005**. Ameliorative effects of black tea extract on aflatoxin-induced lipid peroxidation in the liver of mice. *Food Chem. Toxicol.* *43*:99-104.

Chubben N.H.P., Rietjens I.M.C.M., Wortelboer H., Van Zanden J., Van Bladeren P.J. **2001**. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* *10*:141-152.

Clark K.J., Sarr A.B., Grant P.G., Phillips T.D., Woode G.N. **1998**. In vitro studies on the use of clay, clay minerals and charcoal to adsorb bovine rotavirus and bovine coronavirus. *Vet. Microbiol.* *63*:137-146.

Conterato G.M.M., Augusti P.R., Somacal S., Einsfeld L., Sobieski R., Torres J.R.V., Emanuelli T. **2007**. Effect of lead acetate on cytosolic thioredoxin reductase activity and oxidative stress parameters in rat kidneys. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* *101*:96-100.

Cornelius C.E. **1989**. Liver function. U: J.J. Kaneko (urednik) *Clinical biochemistry of domestic animals*, 4th Edition. Academic Press, San Diego, s: 364-397.

Correa M., Miquel M., Aragon C.M.G. **2000**. Lead acetate potentiates brain catalase activity and enhances ethanol-induced locomotion in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* *66*:137-142.

Correa M., Miquel M., Sanchis-Segura C., Aragon C.M.G. **1999**. Effects of chronic lead administration on ethanol-induced locomotor and brain catalase activity. *Alcohol* *19*:43-49.

Correa M., Pascual M., Sanchis-Segura C., Guerri C., Aragon C.M.G. **2005**. Lead-induced catalase activity differentially modulates behaviors induced by short-chain alcohols. *Pharmacol. Biochem. Behavior* *82*:443-452.

Correa M., Roig-Navarro A.F., Aragon C.M.G. **2004**. Motor behavior and brain enzymatic changes after acute lead intoxication on different strains of mice. *Life Sci.* 74:2009-2021.

Cupo M.A., Donaldson W.E. **1988**. Effect of lead and niacin on growth and serotonin metabolism in chicks. *J. Nutr.* 118:107-113.

Čuvanová S., Reháková M., Rimár J., Dzivák M. **2006**. Klinoptilolit ako nosič, regulator a stabilizátor uvoľňovania živín. *Acta Montanistica Slovaca* 11:285-289.

Czarniewska E., Kasprzyk A., Ziemnicki K. **2003**. Effect of paraquat and metoxychlor on antioxidant enzymes in frog *Rana esculentia* L. liver. *Biol. Lett.* 40:125-133.

Dafre A.L., Medeiros I.D., Müller I.C., Ventura E.C., Bairy A.C.D. **2004**. Antioxidant enzymes and thiol/disulfide status in the digestive gland of the brown mussel *Perna perna* exposed to lead and paraquat. *Chem. Biol. Interact.* 149:97-105.

Dai W., Fu L., Du H., Liu H., Xu Z. **2010**. Effects of montmorillonite on Pb accumulation, oxidative stress, and DNA damage in tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to dietary Pb. *Biol. Trace Elem. Res.* 136:71-78.

Deligiannis K., Lainas Th., Arsenos G., Papadopoulos E., Fortomaris P., Kufidis D., Stamataris C., Zygoiannis D. **2005**. The effect of feeding clinoptilolite on food intake and performance of growing lambs infected or not with gastrointestinal nematodes. *Livest. Prod. Sci.* 96:195-203.

Deng Y., Barrientos Velázquez A.L., Billes F., Dixon J.B. **2010**. Bonding mechanisms between aflatoxin B₁ and smectite. *Appl. Clay Sci.* 50:92-98.

Denli M., Blandon J.C., Guynot M.E., Salado S., Perez J.F. **2008**. Efficacy of a new ochratoxin-binding agent (OcroTox) to counteract the deleterious effects of ochratoxin A in laying hens. *Poult. Sci.* 87:2266-2272.

Denli M., Blandon J.C., Guynot M.E., Salado S., Perez J.F. **2009**. Effects of dietary AflaDetox on performance, serum biochemistry, histopathological changes, and aflatoxin residues in broilers exposed to aflatoxin B₁. *Poult. Sci.* 88:1444-1451.

Denli M., Celik K., Okan F. **2003**. Effects of vitamin A supplementary in the feed to reduce toxic effects of aflatoxin B₁ on Japanese quails (*Coturnix coturnix Japonica*). *Int. J. Poult. Sci.* 2:174-177.

Denli M., Okan F. **2006**. Efficacy of diferent adsorbents in reducing the toxic effects of aflatoxin B₁ in broiler diets. *South African J. Anim. Sci.* 36:222-228.

Dere E., Polat F. **2001**. The effect of paraquat on the activity of some enzymes in different tissues of mice (*Mus musculus-Swiss albino*). *Turk. J. Biol.* 25:323-332.

Desheng Q., Fan L., Yanhu Y., Niya Z. **2005**. Adsorption of aflatoxin B₁ on montmorillonite. *Poult. Sci.* 84:959-961.

Dewes L.J., Sandrini J.Z., Monserrat J.M., Yunes J.S. **2006**. Biochemical and physiological responses after exposure to microcystins in the crab *Chasmagnathus granulatus* (Decapoda, brachyuran). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 65:201-208.

Diaz D.E., Hagler Jr. W.M., Hopkins B.A., Whitlow L.W. **2002**. Aflatoxin binders I: *In vitro* binding assay for aflatoxin B₁ by several potential sequestering agents. *Mycopathologia* 156:223-226.

Diekman M.A., Green M.L. **1992**. Mycotoxin and reproduction in domestic livestock. *J. Anim. Sci.* 70:1615-1627.

Ding Y., Gonick H.C., Vaziri N.D. **2000**. Lead promotes hydroxyl radical generation and lipid peroxidation in cultured aortic endothelial cells. *Am. J. Hypertension* 13:552-555.

Ding X.S., Li X.Y., Duan H.Y., Chung I.K., Lee J.A. **2006**. Toxic effects of *Microcystis* cell extracts on the reproductive system of male mice. *Toxicol.* 48:973-979.

Dinis-Oliveira R.J., Sousa C., Remião F., Duarte J.A., Sánchez Navarro A., Bastos M.L., Carvalho F. **2007**. Full survival of paraquat-exposed rats after treatment with sodium salicylate. *Free Rad. Biol. Med.* 42:1017-1028.

Döll S., Gericke S., Dänicke S., Raila J., Ueberschär K.-H., Valenta H., Schnurrbusch U., Schweigert F.J., Flachowsky G. **2005**. The efficacy of a modified aluminosilicate as a detoxifying agent in *Fusarium* toxin contaminated maize containing diets for piglets. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 89:342-358.

Dorant P.M., Peters-Volleberg G.W.M., Van Loveren H., Marquardt R.R., Speijers G.J.A. **2001**. Age-related differences in the toxicity of ochratoxin A in female rats. *Food Chem. Toxicol.* 39:55-65.

Dwairi I.M. **1998**. Conserving toxic ammoniacal nitrogen in manure using natural zeolite tuff: a comparative study. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60:126-133.

Dyer A., Morgan S., Wells P., Williams C. **2000**. The use of zeolites as slow release antihelmintic carriers. *J. Helminth.* 74:137-141.

Eddleston M., Bateman D.N. **2007**. *Pesticides. Medicine* 35:646-648.

Edrington T.S., Kubena L.F., Harvey R.B., Rottinghaus G.E. **1997**. Influence of a superactivated charcoal on the toxic effects of aflatoxin or T-2 toxin in growing broilers. *Poult. Sci.* 76:1205-1211.

Edrington T.S., Sarr A.B., Kubena L.F., Harvey R.B., Phillips T.D. **1996**. Hydrated sodium calcium aluminosilicate (HSCAS), acidic HSCAS, and activated charcoal reduce urinary excretion of aflatoxin M₁ in turkey poults. Lack of effect by activated charcoal in aflatoxicosis. *Toxicol. Lett.* 89:115-122.

El-Agamy D.S. **2010**. Comparative effects of curcumin and resveratrol on aflatoxin B₁-induced liver injury in rats. *Arch. Toxicol.* 84:389-396.

El-Ashmawy I.M., El-Nahas A.F., Salama O.M. **2005**. Protective effect of volatile oil, alcoholic and aqueous extracts of *Origanum majorana* on lead acetate toxicity in mice. *Basic Clinical Pharmacol. Toxicol.* 97:238-243.

El-Kady A.A., Sharaf H.A., Abou-Donia M.A., Abbès S., Salah-Abbès J.B., Naguib K., Oueslati R., Abdel-Wahhab M.A. **2009**. Adsorption of Cd²⁺ ions on an Egyptian montmorillonite and toxicological effects in rats. *Appl. Caly Sci.* 44:59-66.

El-Sayed I.H., Lotfy M., El-Khawaga O.A.Y., Nasif W.A., El-Shahat M. **2006**. Prominent free radicals scavenging activity of tannic acid in lead-induced oxidative stress in experimental mice. *Toxicol. Ind. Health* 22:157-163.

Eraslan G., Akdoğan M., Liman B.C., Kanbur M., Delibaş N. **2006**. Effects of dietary aflatoxin and hydrate sodium calcium aluminosilicate on triiodothyronine, thyroxine, thyrotropin and testosterone levels in quails. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 30:41-45.

Eraslan G., Eşsiz D., Akdoğan M., Şahindokuyucu F., Altıntaş L. **2005a**. The effects of aflatoxin and sodium benonite combined and alone on some blood electrolyte levels in broiler chickens. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 29: 601-605.

Eraslan G., Essiz D., Akdogan M., Sahinokuyucu F., Altintas L., Hismiogullari S.E. **2005b**. Effects of dietary aflatoxin and sodium bentonite on some hormones in broiler chickens. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 49:93-96.

Eraslan G., Akdoğan M., Yarsan E., Şahindokuyucu F., Eşsiz D., Altıntaş L. **2005c**. The effects of aflatoxins on oxidative stress in broiler chickens. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 29:701-707.

Eraslan G., Akdogan M., Yarsan E., Essiz D., Sahindokuyucu F., Hismiogullari S.E., Altintas L. **2004a**. Effects of aflatoxin and sodium bentonite

administered in feed alone or combined on lipid peroxidation in the liver and kidney of broilers. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 48: 301-304.

Eraslan G., Liman B.C., Guclu B.C., Atasever A., Koc A.N., Beyaz L. **2004b**. Evaluation of aflatoxin toxicity in Japanese quails given various doses of hydrated sodium calcium aluminosilicate. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 48:511-517.

Erdoğan Z., Erdoğan S., Aksu T., Baytok E. **2005**. The effects of dietary lead exposure and ascorbic acid on performance, lipid peroxidation status and biochemical parameters of broilers. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 29:1053-1059.

Fairshier R.D., Rosen S.M., Smith W.R., Glauser F.L., McRae D.M., Wilson A.F. **1976**. Paraquat poisoning: New aspects of therapy. *Quarterly J. Med.* 180:551-565.

Fariás T., de Ménorval L.C., Zajac J., Rivera A. **2010**. Adsorbent modification of drugs onto natural clinoptilolite modified by adsorption of cationic surfactants. *Colloids Surf. B Bioint.* 76:421-426.

Fernández A., Ramos J.J., Sanz M.d.C., Saez T., de Luco D.F. **1996**. Alterations in the performance, haematology and clinical biochemistry of growing lambs fed with aflatoxin in the diet. *J. Appl. Toxicol.* 16:85-91.

Fernández A., Verde M.T., Gomez J., Gascon M., Ramos J.J. **1995**. Changes in the prothrombin time, haematology and serum proteins during experimental aflatoxicosis in hens and broiler chickens. *Res. Vet. Sci.* 58:119-122.

Fethiere R., Miles R.D., Harms R.H. **1990**. Influence of synthetic sodium aluminosilicate on laying hens fed different phosphorus levels. *Poult. Sci.* 69:2195-2198.

Figueiredo-Fernandes A., Fontainhas-Fernandes A., Peixoto F., Rocha E., Reis-Henriques M.A. **2006**. Effects of gender and temperature on oxidative stress enzymes in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to paraquat. *Pest. Biochem. Physiol.* 85:97-103.

Flora S.J.S., Pande M., Bhadauria S., Kannan G.M. **2004.** Combined administration of taurine and meso 2,3-dimercaptosuccinic acid in the treatment of chronic lead intoxication in rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 23:157-166.

Flora S.J.S., Pande M., Mehta A. **2003.** beneficial effect of combined administration of some naturally occurring antioxidants (vitamins) and thiol chelators in the treatment of chronic lead intoxication. *Chem. Biol. Interact.* 145:267-280.

Florkowski C.M., Bradberry S.M., Ching G.W.K., Jones A.F. **1992.** Acute renal failure in a case of paraquat poisoning with relative absence of pulmonary toxicity. *Postgrad. Med. J.* 68:660-662.

Fowler B.A., Brooks R.E. **1971.** Effects of the herbicide paraquat on the ultrastructure of mouse kidney. *Am. J. Pathol.* 63:505-520.

Franzen D., Baer F., Heitz W., Mecking H., Eidt S., Käferstein H., Baldamus C.A., Curtius J.M., Höpp H.W., Wassermann K. **1991.** Failure of radiotherapy to resolve fatal lung damage due to paraquat poisoning. *Chest* 100:1164-1165.

Fraser D., Jones G., Kooh S.W., Radde I.C. **1997.** Metabolizam kalcijuma i fosfata. U: N.W. Tietz (urednik) *Osnovi kliničke hemije.* Velarta, Beograd, s: 746-771.

Fratrić N., Stojić V., Rajčić S., Radojčić B. **2007.** The effect of mineral adsorbent in calf diet colostrum on the levels of serum immunoglobulin G, protein and glucose. *Acta Veterinaria (Beograd)* 57:169-180.

Galvani P., Cassani A., Funagalli P., Santagostino A. **2000.** Effect of paraquat on glutathione activity in Japanese quail. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 64:74-80.

Gamal el-Din A.M., Al-Majed A.A., Al-Yahya A.A., Al-Bekairi A.M., Mostafa A.M. **2005a.** A possible modulatory role of nitric oxide in paraquat-induced lung injury in mice. *Int. J. Pharmacol.* 1:360-365.

Gamal el-Din A.M., Al-Yahya A.A., Al-Majed A.A., Al-Bekairi A.M., Mostafa A.M. **2005b**. Antioxidant effect of arabic gum against paraquat-induced lung oxidative stress in mice. *J. Med. Sci.* 5:95-100.

García A.R., Avila E., Rosiles R., Petrone V.M. **2003**. Evaluation of two mycotoxin binders to reduce toxicity of broiler diets containing ochratoxin A and T-2 toxin contaminated grain. *Avian Dis.* 47:691-699.

Gautier J.-C., Holzhaeuser D., Markovic J., Gremaud E., Schilter B., Turesky R. **2001**. Oxidative damage and stress response from ochratoxin A exposure in rats. *Free Radic. Biol. Med.* 30:1089-1098.

Gehring M.M., Downs K.S., Downing T.G., Naudé R.J., Shephard E.G. **2003**. An investigation into the effect of selenium supplementation on microcystin hepatotoxicity. *Toxicon* 41:1-8.

Gekle M., Sauvant C., Schwerdt G. **2005**. Ochratoxin A at nanomolar concentrations: A signal modulator in renal cells. *Mol. Nutr. Food Res.* 49:118-130.

Ghazi-Khansari M., Mohammadi-Bardbori A. **2007**. Captopril ameliorates toxicity induced by paraquat in mitochondria isolated from the rat liver. *Toxicol. in Vitro* 21:403-407.

Gil H.W., Yang J.O., Lee E.Y., Hong S.Y. **2005**. Paraquat-induced Fanconi syndrome. *Nephrology* 10:430-432.

Gil H.W., Yang J.O., Lee E.Y., Hong S.Y. **2009**. The level and clinical significance of pancreatic enzymes in survivors of acute paraquat poisoning. *Clin. Toxicol. (Phila.)* 47:308-311.

Giri S.N., Curry D.L., Hollinger M.A., Freywald M. **1979**. Effect of paraquat on plasma enzymes, insulin, glucose and liver glycogen in the rat. *Environ. Res.* 20:300-308.

González-Pradas E., Villafranca-Sánchez M., Del Rey-Bueno F., Ureña-Amate M.D., Fernández-Pérez M. **2000**. Removal of paraquat and atrazine from

water by montmorillonite-(Ce or Zr) phosphate cross-linked compounds. *Pest Manag. Sci.* 56:565-570.

Görgens H.W., Hildebrand R., Haubitz I. **1988**. Distribution pattern of alanine aminotransferase activity in rat liver. *Histochem.* 88:383-386.

Gowda N.K.S., Ledoux D.R., Rottinghaus G.E., Bermudez A.J., Chen Y.C. **2008**. Efficacy of tumeric (*Curcuma longa*), containing a known level of curcumin, and a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the adverse effects of aflatoxin in broiler chicks. *Poult. Sci.* 87:1125-1130.

Grant P.G., Phillips T.D. **1998**. Isothermal adsorption of aflatoxin B₁ on HSCAS clay. *J. Agric. Food Chem.* 46:599-605.

Grant G.H., Silverman L.M., Chirstenson R.H. **1997**. Aminokiseline i proteini. U: N.W. Tietz (urednik) *Osnovi kliničke hemije*. Velarta, Beograd, s: 297-360.

Grosicki A., Kowalski B., Bik D. **2004**. Influence of bentonite on trace element kinetics in rats. II Calcium. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 48:337-340.

Guitart R., Croubels S., Caloni F., Sachana M., Davanzo F., Vandebroucke V., Berny P. **2010**. Animal poisoning in Europe. Part 1: Farm livestock and poultry. *Vet. J.* 183:249-254.

Gurer H., Neal R., Yang P., Oztezcan S., Ercal N. **1999**. Captopril as an antioxidant in lead-exposed Fischer 344 rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 18:27-32.

Gürer H., Özgünes H., Neal R., Spitz D.R., Erçal N. **1998**. Antioxidant effects of *N*-acetylcysteine and succimer in red blood cells from lead-exposed rats. *Toxicol.* 128:181-189.

Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. **1974**. Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249:7130-7139.

Harvey R.B., Kubena L.F., Elissalde M.H., Corrier D.E., Phillips T.D. **1994**. Comparison of two hydrated sodium calcium aluminosilicate compounds to

experimentally protect growing barrows from aflatoxicosis. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6:88-92.

Harvey R.B., Kubena L.F., Elissalde M.H., Phillips T.D. **1993**. Efficacy of zeolitic ore compounds on the toxicity of aflatoxin to growing broiler chickens. *Avian Dis.* 37:67-73.

Hassan A.M., Kenawy A.M., Abbas W.T., Abdel-Wahhab A.A. **2010**. Prevention of cytogenetic, histochemical and biochemical alterations in *Oreochromis niloticus* by dietary supplement of sorbent materials. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 73:1890-1895.

Hercigonja R., Dondur V., Rakić V. **2005**. A study of the adsorption thermodynamics of *n*-hexane on ion-exchanged X zeolites. *J. Serb. Chem. Soc.* 70:1409-1418.

Hoffman D.J., Pattee O.H., Wiemayer S.N., Mulhern B. **1981**. Effects of lead shot ingestion on δ -aminolevulinic acid dehydratase activity, hemoglobin concentration, and serum chemistry in bald eagles. *J. Wildlife Dis.* 17:423-431.

Hong S.Y., Yang D.H., Hwang K.Y. **2000**. Associations between laboratory parameters and outcome of paraquat poisoning. *Toxicol. Lett.* 118:53-59.

Hsu J.M. **1981**. Lead toxicity as related to glutathione metabolism. *J. Nutr.* 111:26-33.

Hsu F.S., Krook L., Pond W.G., Duncan J.R. **1975**. Interactions of dietary calcium with toxic levels of lead and zinc in pigs. *J. Nutr.* 105:112-118.

Huff W.E., Chang C.F., Warren M.F., Hamilton P.B. **1979**. Ochratoxin A-induced iron deficiency anemia. *Appl. Environ. Microbiol.* 37:601-604.

Huff W.E., Kubena L.F., Harvey R.B., Phillips T.D. **1992**. Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the individual and combined toxicity of aflatoxin and ochratoxin A. *Poult. Sci.* 71:64-69.

Huh J.W., Hong S.B., Lim C-M., Do K-H., Lee J.S., Koh Y. **2006**. Sequential radiologic and functional pulmonary changes in patients with paraquat intoxication. *Int. J. Occup. Environ. Health* 12:203-208.

Hussain Z., Khan M.Z., Khan A., Javed I., Saleemi M.K., Mahmood S., Asi M.R. **2010**. Residues of aflatoxin B₁ in broiler meat: Effects of age and dietary aflatoxin B₁ levels. *Food Chem. Toxicol.* 48:3304-3307.

Huwig A., Freimund S., Käppeli O., Dutler H. **2001**. Mycotoxin detoxification of animal feed by different adsorbents. *Toxicol. Lett.* 122:179-188.

Ibrahim I.K., Shareef A.M., Al-Joubory K.M.T. **2000**. Ameliorative effects of sodium bentonite on phagocytosis and Newcastle disease antibody formation in broiler chickens during aflatoxicosis. *Res. Vet. Sci.* 69:119-122.

Igarashi K., Kimura Y., Takenaka A. **2000**. Preventive effects of dietary cabbage acylated anthocyanins on paraquat-induced oxidative stress in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64:1600-1607.

Igarashi K., Suzuki O., Hara Y., Yoshiki Y., Okubo K. **1998**. Comparison of the protective effects of epigallocatechin gallate and epigallocatechin on paraquat-induced oxidative stress in rats. *Food Sci. Technol. Int. Tokyo* 4:149-154.

Ito E., Kondo F., Harada K.-I. **1997**. Hepatic necrosis in aged mice by oral administration of microcystin-LR. *Toxicon* 35:231-239.

Ivanović S., Borozan S., Jezdimirović M., Aleksić N., Milovanović M., Tomašević-Čanović M., Đurđević S. **2007**. The application of adsorbent bentonite in oxidative stress induced by paraquat. *Acta Vet. (Beograd)* 57:329-340.

Jablonovská K., Štyriaková I. **2006**. Sorpcia zinku a olova na ílové minerály. *Acta Montanistica Slovaca* 11:304-308.

James R., Sampath K. **1999**. Effects of zeolite on the reduction of cadmium toxicity in water and freshwater fish, *Oreochromis mossambicus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 62:222-229.

Janaczyk B., Pliszczyk-Król A., Graczyk S., Houszka M., Rouibah K. **2006**. Morphological and functional evaluation of chicken blood leukocytes in chronic ochratoxicosis. *Int. J. Poult. Sci.* 5:191-194.

Jansen van Rensburg C., Van Rensburg C.E.J., Van Ryssen J.B.J., Casey N.H., Rottinghaus G.E. **2006**. *In vitro* and *in vivo* assessment of humic acid as an aflatoxin binder in broiler chickens. *Poult. Sci.* 85:1576-1583.

Jarczyk A., Bancewicz E., Jędryczko R. **2008**. An attempt at inactivation of ochratoxin A in pigs' feed with two feed-added adsorbents. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 26:269-276.

Jayaraj R., Anand T., Lakshmana Rao P.V. **2006**. Activity and gene expression profile of certain antioxidant enzymes to microcystin-LR induced oxidative stress in mice. *Toxicology* 220:136-146.

Jiang S., Yang Z., Yang W., Gao J., Liu F., Chen C.-c., Chi F. **2010**. Physiopathological effects of zearalenone in post-weaning female piglets with or without montmorillonite clay adsorbent. *Livest. Sci.* 131:130-136.

Jodynys-Liebert J., Maławska I., Byłka W., Murias M. **2006**. Protective effect of *Aquilegia vulgaris* L. on aflatoxin B₁-induced hepatic damage in rats. *Environment. Toxicol. Pharmacol.* 22:58-63.

Jos Á., Pichardo S., Prieto A.I., Repetto G., Vázquez C.M., Moreno I., Cameán A.M. **2005**. Toxic cyanobacterial cells containing microcystins induce oxidative stress in exposed tilapia fish (*Oreochromis* sp.) under laboratory conditions. *Aquat. Toxicol.* 72:261-271.

Juan-juan L., De-cheng S., Xiao-ou S. **2010**. Binding capacity for aflatoxin B₁ by different adsorbents. *Agric. Sci. China* 9:449-456.

Kamp H.G., Eisenbrand G., Janzowski C., Kiossev J., Latendresse J.R., Schlatter J., Turesky R.J. **2005**. Ochratoxin A induces oxidative DNA damage in liver and kidney after oral dosing to rats. *Mol. Nutr. Food Res.* 49:1160-1167.

Kaplan M.M., Righetti A. **1970**. Induction of rat liver alkaline phosphatase: the mechanism of the serum elevation in bile duct obstruction. *J. Clin. Invest.* 49:508-516.

Kasperczyk S., Birkner E., Kasperczyk A., Kasperczyk J. **2005**. Lipids, lipid peroxidation and 7-katocholesterol in workers exposed to lead. *Hum. Exp. Toxicol.* 24:287-295.

Kastori R. **1993**. Izvori zagađenja agroekosistema. U: R. Kastori (urednik) Teški metali i pesticidi u zemljištu-Teški metali i pesticidi u zemljištima Vojvodine. Poljoprivredni fakultet, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, s: 17-29.

Katsoulos P.D., Panousis N., Roubies N., Christaki E., Karatyias H. **2005**. Effects on blood concentrations of certain serum fat-soluble vitamins of long-term feeding of diary cows on a diet supplemented with clinoptilolite. *J. Vet. Med.* 52:157-161.

Kayabali K., Kezer H. **1998**. Testing the ability of bentonite-amended natural zeolite (clinoptilolite) to remove heavy metals from liquid waste. *Environ. Geol.* 34:95-102.

Keçeci T., Oğuz H., Kurtoğlu V., Demet Ö. **1998**. Effects of polyvinylpyrrolidone, synthetic zeolite and bentonite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *Brit. Poult. Sci.* 39:542-458.

Kelly H.M., Deasy P.B., Ziaka E., Claffey N. **2004**. Formulation and preliminary *in vivo* dog studies of a novel drug delivery system for the treatments of periodontitis. *Int. J. Pharmaceut.* 274:167-183.

Kim S.J., Gil H.W., Yang J.O., Lee E.Y., Hong S.Y. **2009**. The clinical features of acute kidney injury in patients with acute paraquat intoxication. *Nephrol. Dial. Transplant.* 24:1226-1232.

Kori-Siakpere O., Adamu K.M., Salubi O. **2007**. The effect of sublethal concentrations of paraquat on the tissue aminotransferases of the african catfish: *Clarias gariepinus*. Res. J. Environ. Toxicol. 1:98-101.

Kovčín S. **1993**. Ishrana svinja. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.

Kramer J.W. **1989**. Clinical enzymology. U: J.J. Kaneko (urednik) Clinical biochemistry of domestic animals, 4th Edition. Academic Press, San Diego, s: 338-363.

Kubena L.F., Harvey R.B., Phillips T.D., Corrier D.E., Huff W.E. **1990**. Diminution of aflatoxicosis in growing chickens by the dietary addition of a hydrated, sodium calcium aluminosilicate. Poult. Sci. 69:727-735.

Lakshmana Rao P.V., Nidhi Gupta, Jayaraj R., Bhaskar A.S.B., Jatav P.C. **2005**. Age-dependent effects on biochemical variables and toxicity induced by cyclic peptide toxin microcystin-LR in mice. Comp. Biochem. Physiol. C 140:11-19.

Leach Jr. R.M., Heinrichs B.S., Burdette J. **1990**. Diminution of aflatoxicosis by the dietary addition of a hydrated, sodium calcium aluminosilicate. Poult. Sci. 69:727-735.

Ledoux D.R., Rottinghaus G.E., Bermudez A.J., Alonso-Debolt M. **1999**. Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks. Poult. Sci. 78:204-210.

Leeming T.K., Donaldson W.E. **1984**. Effect of dietary methionine and lysine on the toxicity of ingested lead acetate in the chick. J. Nutr. 114:2155-2159

Li X-Y., Chung I.K., Kim J-I., Lee J.A. **2004**. Subchronic oral toxicity of microcystin in common carp (*Cyprinus carpio* L.) exposed to *Microcystis* Under laboratory conditions. Toxicon 44:821-827.

Li X-Y., Chung I.K., Kim J-I., Lee J.A. **2005**. Oral exposure to *Microcystis* increases activity-augmented antioxidant enzymes in the liver of loach (*Misgurnus*

mizolepis) and has no effect on lipid peroxidation. *Comp. Biochem. Physiol. C* 141:292-296.

Li X., Liu Y., Song L., Liu J. **2003**. Responses of antioxidant systems in the hepatocytes of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to the toxicity of microcystin-LR. *Toxicon* 42:85-89.

Li L., Xie P., Chen J. **2007**. Biochemical and ultrastructural changes of the liver and kidney of the phytoplanktivorous silver carp feeding naturally on toxic *Microcystis* blooms in Taihu Lake, China. *Toxicon* 49:1042-4053.

Lindemann M.D., Blodgett D.J., Kornegay E.T., Schurig G.G. **1993**. Potential ameliorators of aflatoxicosis in weanling/growing swine. *J. Anim. Sci.* 71:171-178.

Ly J., Grageola F., Lemus C., Castro M. **2007**. Ileal and rectal digestibility of nutrients in diets based on leucaena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) for pigs. Influence of the inclusion of zeolite. *J. Anim. Vet. Adv.* 6:1371-1376.

Madhusudhanan N., KevithaLakshmi S.N., Radha Shanmugasundaram K., Shanmugasundaram E.R.B. **2004**. Oxidative damage to lipids and proteins induced by aflatoxin B₁ in fish (*Labeo rohita*)-protective role of Amrita Bindu. *Environment. Toxicol. Pharmacol.* 17:73-77.

Mahrous K.F., Khalil W.K.B., Mahmoud M.A. **2006**. Assessment of toxicity and clastogenicity of sterigmatocystin in Egyptian Nile tilapia. *Afr. J. Biotechnol.* 5:1180-1189.

Malagutti L., Zannotti M., Sciaraffia F. **2002**. Use of clinoptilolite in piglets diets as a substitute for Colistine. *Ital. J. Anim. Sci.* 1:275-280.

Malbrouck C., Trausch G., Devos P., Kestemont P. **2003**. Hepatic accumulation and effects of microcystin-LR on juvenile goldfish *Carassius auratus* L. *Comp. Biochem. Physiol. C* 135:39-48.

Malekinejad H., Farshid A.A., Mirzakhani N. **2011**. Liquorice plant extract reduces ochratoxin A-induced nephrotoxicity in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* 63:125-130.

Malekinejad H., Rahmani F., Hassanpour F. **2010**. Influences of sub-acute exposure to paraquat on cytochrome P450 3A2 expression in rat liver and lungs. *Pest. Biochem. Physiol.* 96:149-154.

Markovska Lj.T., Meshko V.D., Marinkovski M.S. **2006**. Modeling of the adsorption kinetics of zinc onto granular activated carbon and natural zeolite. *J. Serb. Chem. Soc.* 71:957-967.

Marquardt R.R. **1996**. Effects of molds and their toxins on livestock performance: a western Canadian perspective. *Anim. Feed Sci. Technol.* 58:77-89.

Martin-Kleiner I., Flegar-Meštrić Z., Zadro R., Breljak D., Stanović Janda S., Stojković R., Marušić M., Radačić M., Boranić M. **2001**. The effect of the zeolite clinoptilolite on serum chemistry and hematopoiesis in mice. *Food Chem. Toxicol.* 39:717-727.

Masoero F., Gallo A., Diaz D., Piva G., Moschini M. **2009**. Effects of the procedure of inclusion of a sequestering agent in the total mixed ration on proportional aflatoxin M₁ excretion into milk of lactating dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 150:34-45.

Matijašević S., Daković A., Tomašević-Čanović M., Stojanović M., Ileš D. **2006**. Uranium(VI) adsorption on surfactant modified heulandite/clinoptilolite rich tuff. *J. Serb. Chem. Soc.* 71:1323-1331.

Matek M., Václavíková M., Hredzák S., Lovás M., Jakabský Š. **2004**. Možnosti modifikácie zeolite oxidmi železa a jeho využitia pri odstraňovaní Pb(II) z vodných roztokov. *Acta Montanistica Slovaca* 9:418-422.

Matthews J.O., Southern L.L., Bidner T.D. **1999**. Effect of a hydrated sodium calcium aluminosilicate on growth performance and carcass traits of pigs. *Professional Anim. Scientist* 15:196-200.

McMurry S.T., Lochmiller R.L., Chandra S.A.M., Qualls Jr. C.W. **1995**. Sensitivity of selected immunological, hematological, and reproductive parameters in the cotton rat (*Sigmodon hispidus*) to subchronic lead exposure. *J. Wildlife Dis.* 31:193-204.

Meki A-R.M.A., Hussein A.A.A. **2001**. Melatonin reduces oxidative stress induced by ochratoxin A in rat liver and kidney. *Comp. Biochem. Physiol. C* 130: 305-313.

Melchiorri D., Reiter R., Attia A.M., Hara M., Burgos A., Nistico G. **1994**. Potent protective effect of melatonin on *in vivo* pararuat-induced oxidative damage in rats. *Life Sci.* 56:83-89.

Miazzo R., Peralta M.F., Magnoli C., Salvano M., Ferrero S., Chiacchiera S.M., Carvalho E.C.Q., Rosa C.A.R., Dalcerro A. **2005**. Efficacy of sodium bentonite as detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin and fumonisin. *Poult. Sci.* 84:1-8.

Miazzo R., Rosa C.A.R., De Queiroz Carvalho E.C., Magnoli C., Chiacchiera S.M., Palacio G., Saenz M., Kikot A., Basaldella E., Delcerro A. **2000**. Efficacy of synthetic zeolite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. *Poult. Sci.* 79:1-6.

Misra H.P., Fridovics I. **1972**. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple measurement for superoxid dismutase. *J. Biol. Chem.* 247:3170-3175.

Modirsanei M., Mansoori B., Khosravi A.R., Kiaei M.M., Khazraeinia P., Farkoy M., Masoumi Z. **2008**. Effect of diatomaceous earth on the performance and

blood variable of broiler chicks during experimental aflatoxicosis. *J. Sci. Food Agric.* 88:626-632.

Mohammadi-Bardbori A., Ghazi-Khansari M. 2007. Nonthiol ACE inhibitors, enalapril and lisinopril are unable to protect mitochondrial toxicity due to paraquat. *Pest. Biochem. Physiol.* 89:163-167.

Mohammadi-Karakani A., Ghazi-Khansari M., Sotoudeh M. 2006. Lisinopril ameliorates paraquat-induced fibrosis. *Clin. Chim. Acta* 367:170-174.

Mollace V., Iannone M., Muscoli C., Palma E., Granato T., Rispoli V., Nisticò R., Rotiroti D., Salvemini D. 2003. The role of oxidative stress in paraquat-induced neurotoxicity in rats: protection by non peptidyl superoxide dismutase mimetic. *Neurosci. Lett.* 335:163-166.

Morris C.M., Li Y.C., Ledoux D.R., Bermudez A.J., Rottinghaus G.E. 1999. The individual and combined effects of feeding moniliformin, supplied by *Fusarium fujikuroi* culture material, and deoxynivalenol in young turkey poults. *Poult. Sci.* 78:1110-1115.

Moss D.W., Handerson A.R., Kachmar J.F. 1997. *Enzimi. U: N.W. Tietz (urednik) Osnovi kliničke hemije. Velarta, Beograd, s: 360-444.*

Mousa H.M., Al-Qarawi A.A., Ali B.H., Abdel Rahman H.A., ElMougy S.A. 2002. Effect of lead exposure on the erythrocytic antioxidant levels in goats. *J. Vet. Med. A* 49:531-534.

Mumpton F.A. 1984. *Flammae et fumus proximi sunt: the role of natural zeolites in agriculture and aquaculture. U: W.G. Pond i F.A. Mumpton (urednici) Zeo-agriculture, Int. Comm. Natural Zeolites, Brockport, New York, s: 3-28.*

Mumpton F.A. 1999. *La roca magica: uses of natural zeolites in agriculture and industry. Proc. Antl. Acad. Sci. USA* 96:3463-3470.

Muruganandan S., Gupta S., Kataria M., Lal J., Gupta P.K. **2002**. Mangiferin protects the streptozotocin-induced oxidative damage to cardiac and renal tissues in rats. *Toxicol.* 176:165-173.

Mustafa A., Gado A.M., Al-Shabanah O.A., Al-Bekairi A.M. **2002**. Protective effect of aminoguanidine against paraquat-induced oxidative stress in the lung of mice. *Comp. Biochem. Physiol. C* 132:391-397.

Mykkänen H.M., Wasserman R.H. **1981**. Gastrointestinal absorption of lead (²⁰³Pb) in chicks: Influence of lead, calcium, and age. *J. Nutr.* 111:1757-1765.

Naaz F., Javed S., Abdin M.Y. **2007**. Hepatoprotective effect of ethanolic extract of *Phyllanthus amarus* Schum. et Thonn. on aflatoxin B₁-induced liver damage in mice. *J. Ethnopharmacol.* 113:503-509.

Nagano N., Yagi M., Nishikori K. **1992**. Protective effects of antioxidants on paraquat-induced acute renal failure in mice. *Japan. J. Pharmacol.* 59:481-483.

Nakagawa I., Suzuki M., Imura N., Naganuma A. **1998**. Involvement of oxidative stress in paraquat-induced metallothionein synthesis under glutathione depletion. *Free Rad. Biol. Med.* 24:1390-1395.

National Research Council **1994**. Nutrient requirements of poultry, ninth revised edition. National Academy Press, Washington, D.C.

Nelson C.E. **1993**. Strategies of mold control in diary feeds. *J. Dairy Sci.* 76:898-902.

Nešić V., Aleksić Z., Dimitrijević S., Knežević M., Ilić T., Resanović R. **2003**. The influence of a diet of mixed feed containing zeolite on the course of cecal coccidiosis in broilers. *Acta Veterinaria (Beograd)* 53:377-383.

Nidhi Gupta, Pant S.C., Vijayaraghavan R., Lakshmana Rao P.V. **2003**. Comparative toxicity evaluation of cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin variants (LR, RR, YR) in mice. *Toxicology* 188:285-296.

Nordberg J., Arnér E.S.J. **2001**. Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thiredoxin system. *Free Radic. Biol. Med.* 31:1287-1312.

Noriega G.O., Gonzales S., Tomaro M.L., Batlle A.M. del C. **2002**. Paraquat-generated oxidative stress in rat liver induces heme oxygenase-1 and aminolevulinic acid synthase. *Free Rad. Res.* 36:633-639.

Nuntharatanapong N., Suramana T., Chaemthavorn S., Zapuang K., Ritta E., Semathong S., Chuamorn S., Niyomwan V., Dusitsin N., Lohinavy O., Sinhaseni P. **2001**. Increase in tumor necrosis factor- α and a change in the lactate dehydrogenase isoenzyme pattern in plasma of workers exposed to aflatoxin-contaminated feeds. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 52:291-298.

Nur H., Manan A.F.N.A., Wei L.K., Muhid M.N.M., Hamdan H. **2005**. Simultaneous adsorption of a mixture of paraquat and dye by NaY zeolite covered with alkylsilane. *J. Hazard. Mat. B* 117:35-40.

Obasi S.C., Njoku O.U., Obidoa O., Ononogbu I.C. **1996**. Effects of single oral doses of scopoletin and aflatoxin B₁ on the bleeding time, serum cholesterol and phospholipid levels of guinea pigs. *Nutr. Res.* 16:667-672.

Oğuz H., Keçeci T., Birdane Y.O., Önder F., Kurtoğlu V. **2000**. Effect of clinoptilolite on serum biochemical and haematological characters of broiler chickens during aflatoxicosis. *Res. Vet. Sci.* 69:89-93.

Oğuz H., Kurtoğlu F., Kurtoğlu V., Birdane Y.O. **2002**. Evaluation of biochemical characters of broiler chickens during dietary aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. *Res. Vet. Sci.* 73:101-103.

Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. **1979**. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95:351-358.

Okutan H., Aydin G., Ozcelik N. **2004**. Protective role of melatonin in ochratoxin A toxicity in rat heart and lung. *J. Appl. Toxicol.* 24:505-512.

Ortatatli M., Oğuz H. **2001**. Ameliorative effects of dietary clinoptilolite on pathological changes in broiler chickens during aflatoxicosis. *Res. Vet. Sci.* 71:59-66.

Ortatatli M., Oğuz H., Hatipoğlu F., Karaman M. **2005**. Evaluation of pathological changes in broilers during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. *Res. Vet. Sci.* 78:61-68.

Othman A.I., Al Sharawy S., El-Missiry M.A. **2004**. Role of melatonin in ameliorating lead induced haematotoxicity. *Pharmacol. Res.* 50:301-307.

Özçelik N., Soyöz M., Kiliç I. **2004**. Effects of ochratoxin A on oxidative damage in rat kidneys: Protective role of melatonin. *J. Appl. Toxicol.* 24:211-215.

Özen H., Karaman M., Çiğremiş Y., Tuzcu M., Özcan K., Erdağ D. **2009**. Effectiveness of melatonin on aflatoxicosis in chicks. *Res. Vet. Sci.* 86:485-489.

Öztürk E., Erener G., Sarica M. **1998**. Influence of natural zeolite on performance of laying hens and egg quality. *Turk. J. Agric. For.* 22:623-628.

Pajović S.B., Pejić S., Stojiljković V., Gavrilović L., Dronjak S., Kanazir D.T. **2006**. Alterations in hippocampal antioxidant enzyme activities and sympatho-adrenomedullary system of rats in response to different stress models. *Physiol. Res.* 55:453-460.

Papaioannou D., Katsoulos P.D., Panousis N., Karatzias H. **2005**. The role of natural and synthetic zeolites as feed additives on the prevention and/or the treatment of certain farm animal diseases: A review. *Micropor. Mesopor. Mat.* 84:161-170.

Papaioannou D.S., Kyriakis C.S., Alexopoulos C., Tzika E.D., Polizopoulou Z.S., Kyriakis S.C. **2004**. A field study on the effect of the dietary use of a clinoptilolite-rich tuff, alone or in combination with certain antimicrobials, on the health status and performance of weaned, growing and finishing pigs. *Res. Vet. Sci.* 76:19-29.

Pappas A.C., Zoidis E., Theophilou N., Zervas G., Fegeros K. **2010**. Effects of palygorskite on broiler performance, feed technological characteristics and litter quality. *Appl. Clay Sci.* 49:276-280.

Parlat S.S., Yildiz A.Ö., Oğuz H. **1999**. Effects of clinoptilolite on performance of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) during experimental aflatoxicosis. *Brit. Poult. Sci.* 40:495-500.

Parvez S., Raisuddin S. **2006**. Effects of paraquat on the freshwater fish *Channa punctata* (Bloch): Non-enzymatic antioxidants as biomarkers of exposure. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50:392-397.

Pašková V., Adamovský O., Pikula J., Skočovská B., Band'ouchová H., Horáková J., Babica P., Maršálek B., Hilscherová K. **2008**. Detoxification and oxidative stress responses along with microcystins accumulation in Japanese quail exposed to cyanobacterial biomass. *Sci. Total Environ.* 398:34-47.

Patra R.C., Swarup D. **2004**. Effect of antioxidant ascorbic acid, l-methionine or α -tocopherol alone or along with chelator on cardiac tissue of lead-treated rats. *Vet. Arhiv* 74:235-244.

Patra R.C., Swarup D., Dwivedi S.K. **2001**. Antioxidant effects of α tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. *Toxicol.* 162:81-88.

Peixoto F., Vicente J., Madeira V.M.C. **2004**. A comparative study of plant and animal mitochondria exposed to paraquat reveals that hydrogen peroxide is not related to the observed toxicity. *Toxicol. in Vitro* 18:733-739.

Petzinger K., Ziegler K. **2000**. Ochratoxin A from a toxicological perspective. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 23:91-98.

Phillips T.D. **1999**. Dietary clay in the chemoprevention of aflatoxin-induced disease. *Toxicol. Sci.* 52(Suppl.):118-126.

Pier A.C. **1992**. Major biological consequences of aflatoxicosis in animal production. *J. Anim. Sci.* 70:3964-3967.

Pimpukdee K., Kubena L.F., Bailey C.A., Huebner H.J., Afriyie-Gyawu E., Phillips T.D. **2004**. Aflatoxin-induced toxicity and depletion of hepatic vitamin A in yong broiler chicks: Protection of chicks in the presence of low levels of NovaSil PLUS in the diet. *Poult. Sci.* 83:737-744.

Pinho G.L.L., Moura da Rosa C., Yunes J.S., Luquet C.M., Bianchini A., Monserrat J.M. **2003**. Toxic effects of microcystins in the hepatopancreas of the estuarine crab *Chasmagnathus granulatus* (Decapoda, Grapsidae). *Comp. Biochem. Physiol. C* 135:459-468.

Piotrowski W.J., Pietras T., Kurmanowska Z., Nowak D., Marczak J., Marks-Kończalik J., Mazerant P. **1996**. effect of paraquat intoxication and ambroxol treatment on hydrogen peroxide production and lipid peroxidation in selected organs of rat. *J. Appl. Toxicol.* 16:501-507.

Polovinski M., Jurić V., Glamočić D. **2008**. Sadržaj aflatoksina M₁ u mleku na području Srbije. *Savremena Poljoprivreda* 57:195-200.

Pond W.G. **1995**. Zeolites in animal nutrition and health: a review. U: D.W. Ming i F.A. Mumpton (urednici) *Natural Zeolites '93*. Int. Comm. Natural Zeolites, Brockport, New York, s: 449-457.

Pond W.G., Lee J.T. **1984**. Physiological effects of clinoptilolite and synthetic zeolite A in animals. U: W.G. Pond i F.A. Mumpton (urednici) *Zeo-agriculture*, Int. Comm. Natural Zeolites, Brockport, New York, s: 129-145.

Pond W.G., Yen J-T. **1983**. Protection by clinoptilolite or zeolite NaA against cadmium-induced anemia in growing swine. *Proceed. Soc. Exp. Biol. Med.* 173:332-337.

Portejoie S., Martinez J., Guiyiou F., Coste C.M. **2003**. Effects of covering pig slurry stores on the ammonia emission processes. *Biores. Technol.* 87:199-207.

Preetha S.P., Kanniappan M., Selvakumar E., Nagaraj M., Varalakshmi P. **2006.** Lupeol ameliorates aflatoxin B₁-induced peroxidative hepatic damage in rats. *Comp. Biochem. Physiol. C* 143:333-339.

Prvulović D., Jovanović-Galović A., Stanić B., Popović M., Grubor-Lajšić G. **2007.** Effects of a clinoptilolite supplement in pig diets on performance and serum parameters. *Czech J. Anim. Sci.* 52:159-164.

Prvulović D., Košarčić S., Popović M., Grubor-Lajšić G. **2009.** Effects of dietary aluminosilicates on growth performance and blood parameters of pigs. *Cuban J. Agric. Sci.* 43:59-63.

Pulsipher G.D., Galyean M.L., Hallford D.M., Smith G.S., Kiehl D.E. **1994.** Effects of graded levels of bentonite on serum clinical profiles, metabolic hormones and serum swainsonine concentrations in lamb fed locoweed (*Oxytropis sericea*). *J. Anim. Sci.* 72:1561-1569.

Puzyr' A.P., Burov A.E., Bondar' V.S., Trusov Yu.N. **2010.** Neutralization of aflatoxin B₁ by ozone treatment and adsorption by nanodiamonds. *Nanotechnologies in Russia* 5:137-141.

Qiu T., Xie P., Guo L., Zhang D. **2009.** Plasma biochemical responses of the planktivorous filter-feeding silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead carp (*Aristichthys nobilis*) to prolonged toxic cyanobacterial blooms in natural waters. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 27:350-356.

Quezada T., Cuéllar H., Jaramillo-Juárez F., Valdivia A.G., Reyes J.L. **2000.** Effects of aflatoxin B₁ on the liver and kidney of broiler chickens during development. *Comp. Biochem. Physiol. C* 125:265-272.

Raja M., al-Fatah A., Ali M., Afzal M., Hassan R.A., Menon M., Dhama M.S. **1992.** Modification of liver and serum enzymes by paraquat treatment in rabbits. *Drug Metabol. Drug. Interact.* 10:279-291.

Ramos J.J., Fernández A., Saez T., Sanz M.C., Marca M.C. **1996**. Effect of aflatoxicosis on blood mineral constituents of growing lambs. *Small Ruminant Res.* 21:233-238.

Rastogi R., Srivastava A.K., Rastogi A.K. **2001**. Long term effect of aflatoxin B₁ on lipid peroxidation in rat liver and kidney: Effect of picroliv and silymarin. *Phytotherapy Res.* 15:307-310.

Rawal S., Kim J.E., Coulombe Jr. R. **2010**. Aflatoxin B₁ in poultry: Toxicology, metabolism and prevention. *Res. Vet. Sci.* 89:325-331.

Ray S., Sengupta A., Ray A. **2007**. Effects of paraquat on anti-oxidant system in rats. *Ind. J. Exp. Biol.* 45:432-438.

Reháková M., Čuvanová S., Dzivák M., Rimár J., Gaval'ová Z. **2004**. Agricultural and agrochemical uses of natural zeolite of the clinoptilolite type. *Curr. Opin. Solid State Mat. Sci.* 8:397-404.

Ristic M., Freudenreich P., Werner R., Schüssler G., Köstner U., Ehrhardt S. **2007**. Hemijski sastav mesa brojlera u zavisnosti od porekla i godine proizvodnje. *Thenologija Mesa* 48:203-207.

Rock R.C., Walker W.G., Jannings C.D. **1997**. Metaboliti azota i renalna funkcija. U: N.W. Tietz (urednik) *Osnovi kliničke hemije*. Velarta, Beograd, s: 707-746.

Rosa C.A.R., Miazzi R., Magnoli C., Salvano M., Chiacchiera S.M., Ferrero S., Seanz M., Carvalho E.C.Q., Dalcerio A. **2001**. Evaluation of the efficacy of bentonite from the south of Argentina to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broilers. *Poult. Sci.* 80:139-144.

Rose M.S., Crabtree H.C., Fletcher K., Wyatt I. **1974**. biochemical effects of diquat and paraquat. *Biochem. J.* 138:437-443.

Rytwo G., Tropp D., Serban C. **2002**. Adsorption of diquat, paraquat and methyl green on sepiolite: experimental results and model calculations. *Appl. Clay Sci.* 20:273-282.

Saibara T., Toda K., Wakatsuki A., Ogawa Y., Ono M., Onishi S. **2003**. Protective effect of 3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one, a free radical scavenger, on acute toxicity of paraquat in mice. *Toxicol. Lett.* 143:51-54.

Sakhare P.S., Harne S.D., Kolorey D.R., Warke S.R., Bhandarkar A.G., Kurkure N.V. **2007**. Effect of Toxiroak® polyherbal feed supplement during induced aflatoxicosis, ochratoxicosis and combined mycotoxicoses in broilers. *Vet. Arhiv* 77:129-146.

Sandhu J.S., Dhiman A., Mahajan R., Sandhu P. **2003**. Outcome of paraquat poisoning-a five year study. *Indian J. Nephrol.* 13:64-68.

Samai M., Hague T., Naughton D.P., Gard P.R., Chatterjee P.K. **2008**. Reduction of paraquat-induced renal cytotoxicity by manganese and copper complexes of EGTA and EHPG. *Free Rad. Biol. Med.* 44:711-721.

Sandhu B.S., Singh B., Brar R.S. **1998**. haematological and biochemical studies in broiler chicks fed ochratoxin and inoculated with inclusion body hepatitis virus, singly and in concurrence. *Vet. Res. Comm.* 22:335-346.

Santin E., Maiorka A., Krabbe E.L., Paulillo A.C., Alessi A.C. **2002**. Effect of hydrated sodium calcium aluminosilicate on the prevention of the toxic effects of ochratoxin. *J. Appl. Poult. Res.* 11:22-28.

Savković T., Džinić N., Tojagić S. **2008**. Začinsko bilje kao dodatak u ishrani brojlera i senzorni kvalitet mesa. *Tehnologija Mesa* 49:75-81.

Sawale G.K., Gosh R.C., Ravikanth K., Maini S., Rekhe D.S. **2009**. Experimental mycotoxicosis in layer induced by ochratoxin A and its amelioration with herbomineral toxin binder 'Toxiroak'. *Int. J. Poult. Sci.* 8:798-803.

Schell T.C., Lindemann M.D., Kornegay E.T., Blodgett D.J. **1993a**. Effects of feeding aflatoxin-contaminated diets with and without clay to weanling and growing pigs on performance, liver function, and mineral metabolism. *J. Anim. Sci.* 71:1209-1218.

Schell T.C., Lindemann M.D., Kornegay E.T., Blodgett D.J., Doerr J.A. **1993b**. Effectiveness of different types of clay for reducing the detrimental effects of aflatoxin-contaminated diets on performance and serum profiles of weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 71:1226-1231.

Sedan D., Andrinolo D., Telese L., Giannuzzi L., de Alaniz M.J.T., Marra C.A. **2010**. Alteration and recovery of the antioxidant system induced by sub-chronic exposure to microcystin-LR in mice: its relation to liver lipid composition. *Toxicon* 55:333-342.

Seth V., Banerjee B.D., Chakravorty A.K. **2001**. Lipid peroxidation, free radical scavenging enzymes, and glutathione redox system in blood of rats exposed to propoxur. *Pest. Biochem. Physiol.* 71:133-139.

Shakoor A., Gupta P.K., Singh Y.P., Kataria M. **2000**. Beneficial effects of aluminium on the progression of lead-induced nephropathy in rats. *Pharmacol. Toxicol.* 87:258-260.

Shalan M.G., Mostafa M.S., Hassouna M.M., Hassab El-Nabi S.E., El-Refaie A. **2005**. Amelioration of lead toxicity on rat liver with vitamin C and silymarin supplements. *Toxicol.* 206:1-15.

Sharmila Banu G., Kumar G., Murugesan A.G. **2009**. Ethanolic leaves extract of *Trianthema portulacastrum* L. ameliorates aflatoxin B₁ induced hepatic damage in rats. *Ind. J. Clin. Biochem.* 24:250-256.

Shi Y.H., Xu Z.R., Feng J.L., Wang C.Z. **2006**. Efficacy of modified montmorillonite nanocomposite to reduce the toxicity of aflatoxin in broiler chicks. *Anim. Feed Sci. Technol.* 129:138-148.

Shopova V.L., Dancheva V.Y., Salkovsky P.T., Stoyanova A.M., Lukanov T.H. **2007.** Protective effect of U-74389G on paraquat induced pneumotoxicity in rats. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 24:167-173.

Simeunović J. **2009.** Ekofiziološke karakteristike potencijalne toksičnosti i toksičnosti vodenih sojeva cijanobakterija na području Vojvodine. Doktorska disertacija, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.

Sivanesan D., Hazeena Begum V. **2007.** Preventive role of *Gynandropsis gynandra* L., against aflatoxin B₁ induced lipid peroxidation and antioxidant defense mechanism in rat. *Ind. J. Exp. Biol.* 45:299-303.

Sivaprasad R., Nagaraj M., Varalakshmi P. **2003.** Combined efficacies of lipoic acid and meso-2,3-dimercaptosuccinic acid on lead-induced erythrocyte membrane lipid peroxidation and antioxidant status in rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 22:183-192.

Skocovska B., Hilscherova K., Babica P., Adamovsky O., Bandouchova H., Horakova J., Knotkova Z., Marsalek B., Paskova V., Pikula J. **2007.** Effects of cyanobacterial biomass on the Japanese quail. *Toxicon* 49:793-803.

Škrinjar M., Ač M., Krajinović M., Popović-Vranješ A. **2008.** Zdravstveni i ekonomski značaj prisustva toksigenih plesni i mikotoksina u stočnoj hrani. *Savremena Poljoprivreda* 57:26-34.

Smela M.E., Currier S.S., Bailey E.A., Essigmann J.M. **2001.** The chemistry and biology of aflatoxin B₁: from mutational spectrometry to carcinogenesis. *Carcinogenesis* 22:535-545.

Smith E.E., Phillips T.D., Ellis J.A., Harvey R.B., Kubena L.F., Thompson J., Newton G. **1994.** Dietary hydrated sodium calcium aluminosilicate reduction of aflatoxin M₁ residue in dairy goat milk and effects on milk production and components. *J. Anim. Sci.* 72:677-682.

Soar C.J., Karotam J., Preston C., Powles S.B. **2003**. Reduced paraquat translocation in paraquat resistant *Arctotheca calendula* (L.) Levyns is a consequence of the primary resistance mechanism, not the cause. *Pest. Biochem. Physiol.* 76:91-98.

Soltaninejad K., Kebriaeezadeh A., Minaiee B., Ostad S.N., Hosseini R., Azizi E., Abdollahi M. **2003**. Biochemical and ultrastructural evidences for toxicity of lead through free radicals in rat brain. *Hum. Exp. Toxicol.* 22:417-423.

Solti L., Pécsi T., Barna-Vetró I., Szász Jr. F., Biró K., Szabó E. **1999**. Analysis of serum and seminal plasma after feeding ochratoxin A with breeding boars. *Anim. Reprod. Sci.* 56:123-132.

Somayajulu-Niṭu M., Sandhu J.K., Cohen J., Sikorska M., Sridhar T.S., Matei A., Borowy-Borowski H., Pandey S. **2009**. Paraquat induces oxidative stress, neuronal loss in substantia nigra region and Parkinsonism in adult rats: Neuroprotection and amelioration of symptoms by water-soluble formulation of Coenzyme Q₁₀. *BMC Neurosci.* 10:88-99.

Stoev S.D., Djuvinov D., Mirtcheva T., Pavlov D., Mantle P. **2002**. Studies on some feed additives giving partial protection against ochratoxin A toxicity in chicks. *Toxicol. Lett.* 135:33-50.

Stoev S.D., Vitanov S., Anguelov G., Petkova-Bocharova T., Creppy E.E. **2001**. Experimental mycotoxic nephropaty in pigs provoked by a diet containing ochratoxin A and penicillic acid. *Vet. Res. Comm.* 25:205-223.

Suntres Z.E. **2002**. Role of antioxidants in paraquat toxicity. *Toxicol.* 180:65-77.

Sousa C., Pontes H., Carmo H., Dinis-Oliveira R.J., Valentão P., Andrade P.B., Remião F., Bastos M.L., Carvalho F. **2009**. Water extracts of *Brassica oleracea* var. *constata* potentiate paraquat toxicity to rat hepatocytes *in vitro*. *Toxicol. in Vitro* 23:1131-1138.

Soyöz M., Özçelik N., Kiliç I., Altuntaş I. **2004.** The effects of ochratoxin A on lipid peroxidation and antioxidant enzymes: a protective role of melatonin. *Cell. Biol. Technol.* 20:213-219.

Spotti M., Fracchiolla M.L., Arioli F., Caloni F., Pompa G. **2005.** Aflatoxin B₁ binding to sorbents in bovine ruminal fluid.

Stein E.A. **1997.** Lipidi, lipoproteini i apolipoproteini. U: N.W. Tietz (urednik) *Osnovi kliničke hemije*. Velarta, Beograd, s: 471-503.

Stanley V.G., Winsman M., Dunkley C., Ogunleye T., Daley M., Krueger W.F., Sefton A.E., Hinton Jr. A. **2004.** The impact of yeast culture residue on the suppression of dietary aflatoxin on the performance of broiler breeder hens. *J. Appl. Poult. Res.* 13:533-539.

Sun C.Z., Lee C.C., Lin H.C., Wu M.S. **2006.** Prognostic predictor of acute paraquat intoxication who survived the initial injury. *Acta Nephrol.* 20:98-104.

Suntres. Z.E. **2002.** Role of antioxidants in paraquat toxicity. *Toxicology* 180:65-77.

Swenson M.J. **1975.** Fiziološke osobine, ćelijski i hemijski sastavni dijelovi krvi. U: M.J. Swenson (urednik) *Djuksova fiziologija domaćih životinja*. Svjetlost, Sarajevo, s: 21-63.

Takizawa M., Komori K., Tampo Y., Yonaha M. **2007.** Paraquat-induced oxidative stress and dysfunction of cellular redox system including antioxidative defense enzymes glutathione peroxidase and thioredoxin reductase. *Toxicol. in Vitro* 21:355-363.

Tejada-Castañeda Z.I., Ávila-Gonyales E., Casaubon-Huguenin M.T., Cervantes-Olivares R.A., Vásquez-Peláez C., Hernández-Baumgarten E.M., Moreno-Martínez E. **2008.** Biodetoxification of aflatoxin-contaminated chick feed. *Poult. Sci.* 87:1569-1576.

Theumer M.G., Cánepa M.C., López A.G., Mary V.S., Dambolena J.S., Rubinstein H.R. **2010**. Subchronic mycotoxicoses in Wistar rats: Assessment of the *in vivo* and *in vitro* genotoxicity induced by fumonisins and aflatoxin B₁, and oxidative stress biomarkers status. *Toxicol.* 268:104-110.

Tieppo M., Porawski M., Salvador M., Moreira A.J., Collado P.S., González-Gallego J., Marroni N.P. **2006**. *Croton cajucara* Benth. leaf extract scavenges the stable free radical DPPH and protects against oxidative stress induced by paraquat. *Biol. Pharm. Bull.* 29:161-165.

Tietz N.W., Siggard-Andersen O. **1997**. Acido-bazna ravnoteža i poremećaji acido-bazne ravnoteže. U: N.W. Tietz (urednik) *Osnovi kliničke hemije*. Velarta, Beograd, s: 682-707.

Tomita M., Okuyama T. **1994**. Effect of paraquat on the malondialdehyde level in rat microsomes (*in vitro*). *Arch. Toxicol.* 68:187-192.

Toplan S., Özcelik D., Gulyasar T., Akyolcu M.C. **2004**. Changes in hemorheological parameters due to lead exposure in female rats. *J. Trace Elements Med. Biol.* 18:179-182.

Trckova M., Vondruskova H., Zraly Z., Alexa P., Hamrik J., Kummer V., Maskova J., Mrlik V., Krizova K., Slana I., Leva L., Pavlik I. **2009**. The effect of kaolin feeding on efficiency, health status and course of diarrhoeal infections caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. *Veterinarni Medicina* 54:47-63.

Tsai W.T., Lai C.W. **2006**. Adsorption of herbicide paraquat by clay mineral regenerated from spent bleaching earth. *J. Hazard. Mat. B* 34:144-148.

Tsuchiya T., Suzuki O., Igarashi K. **1996**. Protective effects of chlorogenic acid on paraquat-induced oxidative stress in rats. *Biosci. Biotech. Biochem.* 60:765-768.

Turcsányi E., Darkó E., Borbely G., Lehocyki E. **1998.** The activity of oxyradical-detoxifying enzymes is not correlated with paraquat resistance in *Conyza canadensis* (L.) Cronq. *Pest. Biochem. Physiol.* 60:1-11.

Turkez H., Geyikoglu F. **2010.** Boric acid: a potential chemoprotective agent against aflatoxin B₁ toxicity in hman blood. *Cytotechnol.* 62:157-165.

Türkez H., Şişman T. **2007.** Anti-genotoxic effect of hydrated sodium calcium aluminosilicate on genotoxicity to human lymphocytes induced by aflatoxin B₁. *Toxicol. Ind. Health* 23:83-89.

Ubavić M., Dozet D., Bogdanović D. **1993.** Teški metali u zemljištu. U: R. Kastori (urednik) Teški metali i pesticidi u zemljištu-Teški metali i pesticidi u zemljištima Vojvodine. Poljoprivredni fakultet, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, s: 31-46.

Upasani C.D., Balaraman R. **2003.** protective effect of *Spirulina* on lead induced deleterious changes in the lipid peroxidation and endogenous antioxidants in rats. *Phytother. Res.* 17:330-334.

Valdivia A.G., Martínez A., Damián F.J., Quezada T., Ortiz R., Martínez C., Llamas J., Rodríguez M.L., Yamamoto L., Jaramillo F., Loarca-Piña M.G., Reyes J.L. **2001.** Efficacy of N-acetylcysteine to reduce the effects of aflatoxin B₁ intoxication in broiler chickens. *Poult. Sci.* 80:727-734.

Valverde M., Fortoul T.I., Díaz-barriga F., Mejía J., Rojas del Castillo E. **2002.** Genotoxicity induced in CD-1 mice by inhaled lead: differential organ response. *Mutagenesis* 17:55-61.

Vićentijević M., Mitrović R., Vitorović G. **2006.** Efikasnost klinoptilolita posle višekratne alimentarne kontaminacije fazana ¹³⁷Cs. *Biotechnol. Anim. Husb.* 22:105-114.

Villeda-Hernández J., Barroso-Moguel R., Méndez-Armenta M., Nava-Ruíz C., Huerta-Romero R., Ríos C. **2001**. Enhanced brain regional lipid peroxidation in developing rats exposed to low level lead acetate. *Brain Res. Bull.* 55:247-251.

Vogiatzis A.K., Loumbourdis N.S. **1999**. Exposure of *Rana ridibunda* to lead I. Study of lead accumulation in various tissues and hepatic δ -aminolevulinic acid dehydratase activity. *J. Appl. Toxicol.* 19:25-29.

Vrzgula L., Bartko P. **1984**. Effects of clinoptilolite on weight gain and some physiological parameters in swine. U: W.G. Pond I F.A. Mumpton (urednici) Zeo-agriculture. *Int. Comm. Natural Zeolites, Brockport, New York*, s: 161-166.

Vujaković A., Daković A., Lemić J., Radosavljević-Mihajlović A., Tomašević-Čanović M. **2003**. Adsorption of inorganic contaminants on surfactant modified minerals. *J. Serb. Chem. Soc.* 68:833-841.

Vuković I.K. **1998**. *Osnove tehnologije mesa*. AM, Beograd.

Vukša M., Nešković N., Vitorović S., Karan V. **1983**. Subacute toxicology of paraquat in rats-biochemical effects. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 7:475-473.

Walcarius A., Mouchotte R. **2004**. Efficient *in vitro* paraquat removal via irreversible immobilization into zeolite particles. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46:135-140.

Wang J., Wu J., Zhang Z. **2006**. Oxidative stress in mouse brain exposed to lead. *Ann. Occup. Hyg.* 50:405-409.

Wapnir R.A., Moak S.A., Lifshitz F. **1980**. Reduction of lead toxicity on the kidney and the small intestinal mucosa by kaolin and pectin in the diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 33:2303-2310.

Ward T.L., Watkins K.L., Southern L.L., Hoyt P.G., French D.D. **1991**. Interactive effects of sodium zeolite-A and copper in growing swine: growth, and bone and tissue mineral concentrations. *J. Anim. Sci.* 69:726-733.

Watkins K.L., Southern L.L. **1991**. Effects of dietary sodium zeolite A and graded levels of calcium on growth, plasma and tibia characteristics of chicks. *Poult. Sci.* 70:2295-2303.

Wershana K.Z. **2001**. The influence of vitamin C or selenium on paraquat-induced toxicity in guinea pigs. *Pak. J. Biol. Sci.* 4:81-88.

Wintrobe M.M. **1965**. *Clinical haematology*. Lea & Febiger, Philadelphia, SAD.

Wright L.S., Kornguth S.E., Oberley T.D., Siegel F.L. **1998**. Effects of lead on glutathione S-transferase expression in rat kidney: A dose-response study. *Toxicol. Sci.* 46:254-259.

Xia M.S., Hu C.H., Xu Z.R. **2004**. Effects of copper-bearing montmorillonite on growth performance, digestive enzyme activities, and intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poult. Sci.* 83:1868-1875.

Yakubu M.T., Adebayo O.J., Egwim E.C., Owoyele V.B. **2005**. Increased liver alkaline phosphatase and aminotransferase activities following administration of ethanolic extract of *Khaya senegalensis* stem bark to rats. *Biokemistri* 17:27-32.

Yalcin S., Bilgili S.F., McDaniel G.R. **1995**. Sodium zeolite A: Influence on broiler carcass yields and tibia characteristics. *J. Appl. Poult. Res.* 4:61-68.

Yang W.L., Sun A.Y. **1998**. paraquat-induced free radical reaction in mouse brain microsomes. *Neurochem. Res.* 23:47-53.

Yarru L.P., Settivari R.S., Antoniou E., Ledoux D.R., Rottinghaus G.E. **2009**. Toxicological and gene expression analysis of the impact of aflatoxin B₁ on hepatic function of male broiler chicks. *Poult. Sci.* 88:360-361.

Yener Z., Celik I., Ilhan F., Bal R. **2009**. Effects of *Urtica dioica* L. seed on lipid peroxidation, antioxidants and liver pathology in aflatoxin-induced tissue injury in rats. *Food Chem. Toxicol.* 47:418-424.

Yorio M.A., Sembaj A., Sanz E., Carriazo C., Barral J.M. **2000**. Alkaline phosphatase isoenzymes for the diagnosis of metastatic tumors and lymphomas of liver and bone. *Medicina (Buenos Aires)* 60:311-315.

Zahoor-ul-Hassan, Khan M.Z., Khan A., Javed I. **2010**. Pathological responses of white leghorn breeder hens kept on ochratoxin A contaminated feed. *Pak. Vet. J.* 30:118-123.

Zain M.E. **2011**. Impact of mycotoxins on humans and animals. *J. Saudi Chem. Soc.* 15:129-144.

Zhang X., Xie P., Li D., Shi Z. **2007**. Hematological and plasma biochemical responses of crucian carp (*Carassius auratus*) to intraperitoneal injection of extracted microcystins with the possible mechanisms of anemia. *Toxicon* 49:1150-1157.

Zhao J., Shirley R.B., Dibner J.D., Uraizee F., Officer M., Kitchell M., Vazquez-Anon M., Knight C.D. **2010**. Comparison of hydrated sodium aluminosilicate and yeast cell wall on counteracting aflatoxicosis in broiler chicks. *Poult. Sci.* 89:2147-2156.

Zhi Q., Sun H., Qian X., Yang L. **2011**. Edaravone, a novel antidote against lung injury and pulmonary fibrosis induced by paraquat. *Int. Immunopharmacol.* 11:96-102.

Biografija

Dejan Prvulović je rođen 24. septembra 1972. godine u Novom Sadu. Osnovnu školu je završio u Melencima, a Srednju medicinsku školu u Zrenjaninu. Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu, smer: profesor biologije i hemije, je upisao je školske 1991/92. godine. Nakon odsluženja vojnog roka završava Planom i Programom predviđene obaveze i diplomira 1998. godine (naslov diplomskog rada: Adsorpcija organskih materija iz podzemnih voda severnog Banata na aktivnom uglju). Magistarske studije je upisao na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu (Hemija/Biohemija) 1998. godine, a magistarsku tezu pod naslovom „Biohemijska procena primene antitoksičnog nutrijenta u ishrani životinja“ je odbranio u julu 2004. godine.



Zaposlen je od 1998. godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu, prvo kao saradnik nastavnom procesu, zatim kao asistent-pripravnik, a od 2005. godine kao asistent za užu naučnu oblast hemija i biohemija.

U okviru biohemije kao naučne oblasti u svom radu se bavi proučavanjem ishrane životinjai biljaka, oksidativnog stresa i sekundarnog metabolizma.

Autor i koautor je 8 naučnih radova objavljenih u časopisima sa SCI liste, jednog rada u časopisu nacionalnog značaja i većeg broja saopštenja štampanih u celini ili izvodu na naučnim skupovima u zemlji i inostranstvu.

Učesnik je u realizaciji većeg broja projekata finansiranih od strane Ministarstva za Nauku Republike Srbije i Pokrajinskog Sekretarijata za Nauku i Tehnološki Razvoj.

Na stručnom usavršavanju je bio na Fakultetu za Farmaciju Univerziteta Ilinoj u Čikagu, SAD (1 mesec) i Fakultetu Veterinarske medicine Univerziteta u Bolonji, Italija (3 meseca).

Član je Srpskog hemijskog društva i Društva za biohemiju i molekularnu biologiju Vojvodine.

Oženjen je i otac dvoje dece.

Tečno čita i govori engleski jezik, a služi se i italijanskim.

Novi Sad, novembar 2011. godine

Dejan Prvulović

UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj:

RDB

Identifikacioni broj:

IBR

Tip dokumentacije: Monografska dokumentacija

TD

Tip zapisa: Tekstualni štampani materijal

TZ

Vrsta rada: Doktorska disertacija

VR

Autor: Mr Dejan Prvulović

AU

Mentor: Prof. dr Gordana Grubor-Lajšić

MN

Naslov rada: Aluminosilikati u ishrani pilića: biohemijski parametri i antitoksični efekti

NR

Jezik (i pismo) publikacije: Srpski (latinica)

JP

Jezik izvoda: Srpski/Engleski

JI

Zemlja publikovanja: Republika Srbija

ZP

Uže geografsko područje: Vojvodina

UGP

Godina: 2011

GO

Izdavač: Autorski reprint

IZ

Mesto i adresa: Novi Sad, Departman za hemiju, PMF, Trg Dositeja
Obradovića 3

MA

Fizički opis rada: poglavlja (8); stranica (182); tabela (41); slika (7);
literaturnih navoda (360)

FO

Naučna oblast: Hemija
NO

Naučna disciplina: Biohemija
ND

Ključne reči: Aflatoksin B₁, aluminosilikati, gline, ishrana, jetra, klinoptilolit, krvni serum, mikrocistini, ohratoksin A, oksidativni stres, olovo, parakvat, pilići,

KR

Univerzalna decimalna klasifikacija: UDK

Čuva se: Biblioteka Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu, 21000 Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3

ČU

Važna napomena: Nema

VN

Izvod: U ovom radu je ispitivan uticaj Antitoksičnog nutritiva (ATN), preparata na bazi prirodnih aluminosilikata, na biohemijske, fiziološke, tehnološke i proizvodne parametre uzgoja pilića. ATN je smeša zeolita klinoptilolita, gline monmorilonita i male količine aktivnog uglja. Dodatak ovog preparata u hranivo za piliće u količini od 5 g/kg nije izazvao promene u normalnoj biohemijskoj i fiziološkoj homeostazi životinja. Hematološki parametri, koncentracija metabolita, elektrolita i aktivnost enzima seruma i jetre je bila u granicama referentnih vrednosti. ATN ne utiče na prirast životinja, ni na konverziju hrane, ali dovodi do povećanja relativnih masa pojedinih organa digestivnog trakta.

Uočava se da dodatkom ATN-a u hranivo dolazi do smanjenja količine masti a povećanja količine proteina u belom mesu. ATN takođe povećava i sadržaj pepela u belom i crvenom mesu.

Akutni ili hronični tronedeljni oralni unos pojedinih toksikanata (mikotoksina aflatoksina B₁ i ohratoksina A, herbicida parakvata, jona olova ili toksina cijanobakterija-mikrocistisa) dovodi do poremećaja normalne biohemijske i fiziološke homeostaze pojedinih organa i tkiva pilića, što je utvrđeno na osnovu rezultata hematoloških i biohemijskih analiza, određivanja enzima antioksidativne zaštite i lipidne

peroksidacije, kao i odredjivanja parametara uzgoja i težine organa. ATN, dodat u hranu u količini od 5 g/kg, mogao da bude dobar protektivni agens za delovanje aflatoksina, parakvata, jona teških metala i mikrocistisa, ali ne i ohratoksina.

IZ

Datum prihvatanja teme od strane NN veća: 15.09.2011.

DP

Datum odrane:

DO

Članovi komisije:

KO

- Predsednik: dr Mira Popović, redovni profesor
Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu,
Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne
sredine
- Mentor: dr Gordana Grubor-Lajšić, redovni profesor
Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu,
Departman za biologiju i ekologiju
- Član: dr Milan Popović, redovni profesor
Poljoprivredni fakultet,
Departman za ratarstvo i povrtarstvo
- Član: dr Svetlana Trivić, redovni profesor
Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu,
Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne
sredine
- Član: dr Niko Milošević, redovni profesor
Poljoprivredni fakultet,
Departman za stočarstvo

UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF SCIENCES
KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Document type: Monograph type

DT

Type of record: Printed text

TR

Contents code: Doctoral Thesis

CC

Author: Dejan Prvulović, MSc

AU

Mentors: dr Gordana Grubor-Lajšić

MN

Title: Aluminosilicate in Chicken Nutrition: Biochemical
Parameters and Antitoxic Effects

TL

Language of text: Serbian

LT

Language of abstract: Serbian/English

LA

Country of publication: Serbia

CP

Locality of publication: Vojvodina

LP

Publication year: 2011

PY

Publisher: Author's reprint

PU

Publication place: Novi Sad, Department of Chemistry, Faculty of Science,
trg Dositeja Obradovića 2

PP

Physical description: chapters (8), pages (182), references (360), figures (7),
tables (41)

PD

Scientific field: Chemistry
SF
Scientific discipline: Biochemistry
SD
Key words: Aflatoxin B₁, aluminosilicates, blood serum, clay, clinoptilolite, lead, liver, microcystine, nutrition, ochratoxin A, oxidative stress, paraquat

KW
Universal decimal classification:
UDC
Holding data: Faculty of Sciences Library, University of Novi Sad, trg Dositeja Obradovića 3, 21000 Novi Sad, Serbia

HD
Note: No
N
Abstract: This study investigated the effects of dietary supplementation with hydrated aluminosilicate (Antitoxic Nutrient-ATN), based on zeolitic ore (clinoptilolite), clay bentonite (montmorillonite), and small amounts of activated charcoal, on performance, hematological, serum, and liver biochemical parameters, as well as organ weights and meat quality in broiler chickens. The dietary addition of ATN has no adverse effects on serum and liver biochemical parameters and does not affect the normal physiological homeostasis of animals. However, the results of this study demonstrate that supplementation with 5 g/kg of ATN influenced organ weights, and chemical composition of broiler chicken meat. This study also evaluated the effectiveness of ATN to protect broilers from adverse effects of five different toxic substances (mycotoxins aflatoxin B₁, and ochratoxin A, herbicide paraquat, heavy metal ions supplied as lead-acetate, and microcystis, toxin of cyanobacteria). Toxic substances induced oxidative stress and disturb normal biochemical and physiological homeostasis of different tissues and organs in poultry. The results from this study demonstrate that the biochemical variables of serum, liver, kidney, lung and other organs were negatively affected by all five toxic substances. The addition of 5

g/kg of ATN was protective against aflatoxin B₁, lead-acetate, paraquat and microcystis, but not against ochratoxin A.

AB

Accepted by the Scientific Board on: 15.09.2011.

ASB

Defended:

DE

Thesis defended board:

DB

- President: dr Mira Popović, Full Professor
Faculty of Science, University of Novi Sad,
Department of Chemistry, Biochemistry and
Environmental Protection
- Menthor: dr Gordana Grubor-Lajšić, Full Professor
Faculty of Science, University of Novi Sad,
Department of Biology and Ecology
- Member: dr Milan Popović, Full Professor
Faculty of Agriculture, University of Novi Sad
Department of Field and Vegetable Crops
- Member: dr Svetlana trivić, Full Professor
Faculty of Science, University of Novi Sad,
Department of Chemistry, Biochemistry and
Environmental Protection
- Member: dr Niko Milošević, Full professor
Faculty of Agriculture, University of Novi Sad
Department of Livestock Breeding