

**INFEKCIJA OVACA SA *Strongyloides papillosus* – UTICAJ INTENZITETA PARAZITSKE INFEKCIJE I TERAPIJE ALBENDAZOLOM NA ODREĐENE BIOHEMIJSKE PARAMETRE U KRVI OVACA\*****INFECTION OF SHEEP WITH *Strongyloides papillosus* – THE EFFECT OF INTENSITY OF PARASITIC INFECTION AS WELL AS THERAPY WITH ALBENDAZOLE ON CERTAIN BIOCHEMICAL PARAMETERS IN THE BLOOD OF SHEEP**

Dimitrijević B., Jović S., Jezdimirović Milanka, Bacić D.,  
Savić Mila, Jezdimirović N., Vegar M.\*

Cilj ovog rada je da se ispita uticaj određenih biohemijskih parametara u krvi ovaca u uslovima različitog intenziteta parazitske infekcije sa *Strongyloides papillosus*, kao i nakon terapije albendazolom. Istraživanje je izvedeno na ovcama vitemberg rase ( $n = 30$ ) kod kojih je utvrđen niski, srednji i visoki intenzitet parazitske infekcije sa *S. papillosus*. Kontrolnu grupu ( $n = 10$ ) činile su ovce negativne na prisustvo parazitske infekcije. Stepen i vrsta promene praćeni su određivanjem koncentracije glukoze, ukupnih proteina, albumina, Albumin/Globulin odnosa, AST, uree, koncentracije bilirubina, kalcijuma, fosfora, ukupne aktivnosti laktat dehidrogenaze (LDH) i izoenzijske distribucije LDH<sub>1-5</sub>.

Nakon dobijenih rezultata utvrdili smo, preko izoenzijske distribucije laktat dehidrogenaze, da u toku parazitske infekcije sa *S. papillosus* dolazi do oštećenja ćelija jetre, srčanog mišića i pluća, dok je nakon terapije albendazolom jetra najoštećeniji organ. Koncentracija glukoze, ukupnih proteina i albumina linearno je opadala sa rastom intenziteta parazitske infekcije ( $p < 0,05$ ), a nakon terapije albendazolom pad koncentracije ovih parametara bio je na statistički znatno većem nivou ( $p < 0,01$ ). Aktivnost AST, koncentracija uree i ukupnog bilirubina takođe su linearno rasle sa intenzitetom parazitske infekcije ( $p < 0,05$ ). Nakon terapije sa ABZ aktivnost AST i koncentracija

\* Rad primljen za štampu 08. 10. 2014. godine

\*\* Dr sc. vet. med. Blagoje Dimitrijević, docent, dr sc. vet. med. Slavoljub Jović, docent, dr sc. vet. med. Milanka Jezdimirović, redovni profesor, dr sc. vet. med. Dragan Bacić, docent, dr sc. vet. med. Mila Savić, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, Srbija; Nemanja Jezdimirović, dr vet, Naučni institut za veterinarstvo, Beograd, Srbija; dr sc. vet. med. Mensur Vegara, Life science University, Norway

ukupnog bilirubina bile su na statistički značajno većem nivou ( $p < 0,001$ ), dok je koncentracija uree zadržala iste nivoe kao u slučaju parazitske infekcije. Vrednosti koncentracija kalcijuma ( $p > 0,05$ ) i fosfora ( $p < 0,05$ ) takođe linearno opadaju sa rastom intenziteta parazitske infekcije. Trend pada koncentracije ovih makroelemenata, nastavlja se i nakon terapije albendazolom ( $p < 0,001$ ). Imajući u vidu naša prethodna istraživanja na polju oksidativnog stresa, fenomena koji se nalazi u osnovi promena utvrđenih u ovom radu, strogo preporučujemo da se u antiparazitske protokole, pored antihelmintika koriste i preparati sa antioksidativnim svojstvima.

**Ključne reči:** *Strongyloides papillosus*, albendazol, biohemijski parametri, jetra, ovce

#### Uvod / Introduction

Ovce su visokoprijemčive na parazitske infekcije, čak i uslova niske infekcije pašnjaka. Iz tog razloga, u kliničkoj patologiji ovaca, parazitske infekcije imaju veliki značaj, jer pored zdravstvenog predstavljaju i ekonomski problem (Chauvin i sar., 2001).

Uzročnik strongiloidoze ovaca je *Strongyloides papillosus*. Strongiloidoza je kliničko-patološki entitet, kome se u kliničkoj praksi obično ne pridaje veliki značaj. Razlog ovome je što su simptomi izazvani infekcijom sa *S. papillosus* često „zamaskirani“ simptomima infekcije sa drugim parazitskim vrstama, što je i najčešći slučaj u uslovima prirodne infekcije. Takođe, pri niskom intenzitetu ove parazitske infekcije organizam na način ne reaguje klinički vidljivim simptomima. Ekonomske štete koje nastaju na ovoj infekciji su posledica progresivnog mršavljenja životinja, smanjenja plodnosti, proizvodnje mleka i mesa. Procenjuje se da je 15% proizvodnje mleka i mesa u Srbiji izgubljeno usled infekcije ovaca sa *S. papillosus* (Dimitrijević i sar., 2012).

*Strongyloides spp.* pripadaju geohelmintima, što znači da u toku razvoja mogu da pored parazitskog oblika imaju i slobodno živeće forme koje deo razvojnog ciklusa provode u zemljištu. Ovo je razlog zbog čega infekcije sa *Strongyloides spp.* imaju jak enzootski karakter. Parazitski oblici *S. papillosus* predstavljaju partenogenetske ženke koje parazitiraju u tankom crevu ovaca (Kassai, 1999; Eberhardt i sar., 2008). Infekcija može nastati peroralnim unošenjem (preko kontaminirane hrane i vode) infektivnih larvica (stadijum L3) ili perkutanom probijanjem kroz međupapčane regije. U ovom drugom načinu infekcije (perkutanom), otvaraju se „ulazna vrata“ za uzročnike druge etiologije. Pri tome, posebnu opasnost predstavljaju anaerobni uzročnici zarazne šepavosti ovaca (Abbott i Lewis, 2005).

Albendazol (ABZ) je antihelmintik širokog spektra dejstva i lek izbora u terapiji strongiloidoze i drugih parazitskih infekcija (Kassai, 1999). Glavni mehanizam kojim ABZ ostvaruje svoj efekat je rezultat njegove interakcije sa eukariotskim ci-

toskeletnim proteinom, tubulinom, inhibirajući njegovu polimerizaciju u mikrotubule. Takođe, ABZ deluje i na biohemijske i enzimske procese u parazitima inhibirajući transport glukoze u parazitima i enzim fumarat reduktazu (Rufener i sar., 2005). Na taj način dolazi do osiromašenja energetske rezervi i uginuća parazita.

U našem prethodnom radu ustanovili smo da infekcija sa *S. papillosus* dovodi organizam domaćina u stanje pojačanog oksidativnog stresa (Dimitrijević i sar., 2012). Pri tom je utvrđeno da je nivo oksidativnog stresa pozitivno korelirao sa intenzitetom ove parazitske infekcije. Interesantno je i da terapija albendazolom, takođe uvodi organizam u stanje narušene redoks ravnoteže, intenzivnije u odnosu na posmatranu parazitsku infekciju i u dužem vremenskom periodu (neobjavljeni rezultati autora).

Imajući u vidu naša prethodna istraživanja u oblasti oksidativnog stresa kod parazitskih infekcija, cilj ovog istraživanja je da se bliže ispituju promene vrednosti pojedinih biohemijskih parametara (glukoze, ukupni protein, albumina, A/G odnos, aspartat-amino transaminaze (AST), uree, ukupni bilirubin, kalcijuma, fosfora, aktivnosti enzima laktat dehidrogenaze (LDH), kao i njegovih izoenzimskih oblika LDH<sub>1-5</sub>) u krvi ovaca, izazvanih različitim intenzitetom parazitske infekcije sa *S. papillosus*, kao i nakon tretmana sa ABZ.

#### Materijal i metode / *Material and Methods*

Istraživanje je izvedeno u okolini grada Čabranja (selo Kupinince, geografske koordinate: 42°29'46.98" N, 21°30'50.1" E), na ovacima (n = 40) rase virtemberg, starosti 2–3 godine, kod kojih je parazitološkim ispitivanjem dokazana infekcija sa *S. papillosus*. U zavisnosti od intenziteta infekcije životinje su podeljene u tri grupe (A<sub>1</sub> – nizak; A<sub>2</sub> – srednji i A<sub>3</sub> – visok intenzitet infekcije sa *S. papillosus*). Ovce su zatim tretirane jednokratno, peroralnom aplikacijom ABZ, u dozi od 5 mg/kg telesne mase i prikazane u rezultatima kao B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>3</sub> grupa. Kontrolnu grupu C<sub>1</sub> činile su ovce (n = 10), negativne na prisustvo ovog parazita, i nakon tretmana sa ABZ, prikazane u rezultatima kao C<sub>2</sub> grupa.

Sve postupci sa životinjama izvedeni su u skladu sa principima Evropske konvencije za zaštitu životinja kičmenjaka korišćenih u eksperimentalne i druge svrhe (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experiments and Other; Official Daily N. L 358/1–358/6, 18, December 1986).

#### Uzorkovanje fecesa i krvi / *Sampling of faeces and blood*

*Uzorkovanje fecesa za parazitološki pregled /  
Sampling of faeces for parasitological examination*

Uzorci fecesa uzimani su pojedinačno od svake ovce, direktno iz ampule rektuma, jednom dnevno u toku tri dana, pakovani u zasebne, obeležene plastične kese i transportovani u ručnom frižideru do parazitološke laboratorije.

U otkrivanju i determinaciji parazita i njihovih razvojnih oblika primenjeni su standardni ključevi za identifikaciju parazita i njihovih razvojnih oblika koji se baziraju na morfološkim i morfometrijskim karakteristikama jaja, larvica i/ili adultnih oblika.

Koprološka dijagnostika je vršena metodama sedimentacije i flotacije (Kasai, 1999). Pregled preparata vršen je pri uvećanju 7 x 10 i 7 x 40 na mikroskopu Reichert, Nemačka. Intenzitet infekcije određen je brojanjem jaja helminata po gramu fecesa metodom po Mc Masteru (Euzeby, 1982; Reinecke i Fonesca, 1992).

#### **Uzorkovanje krvi / Sampling of blood**

Uzorci krvi ovaca za predviđena ispitivanja uzeti su punkcijom vjugularis (uz fiksiranje životinja), pre dehelmintizacije i 21. dana od dehelmintizacije, a ABZ. Deo krvi uzorkovan je bez antikoagulansa u cilju odvajanja krvnog seruma, a deo sa heparinom kao antikoagulansom u cilju odvajanja krvne plazme. Serumi su odvajani posle spontane koagulacije krvi centrifugiranjem u trajanju od 10 minuta na 3000 rpm, a krvna plazma centrifugiranjem pune krvi. Ovako dobijeni uzorci krvne plazme i krvnog seruma su čuvani na  $-20^{\circ}\text{C}$ , do analize.

#### **Biohemijske analize / Biochemical analyses**

Koncentracija glukoze u krvi određena je korišćenjem Precision-Xtra plus test traka. Aktivnost enzima AST određena je kinetičkim metodom u reakciji transaminacije amino grupe koju katalizuje ovaj enzim. Koncentracija uree je takođe određena enzimskim kinetičkim metodom sa ureazom. Koncentracija ukupnih proteina određena je biuretском metodom, dok je koncentracija albumina određena reakcijom sa bromkrezol zelenim. Koncentracija ukupnog bilirubina (suma konjugovanog i nekonjugovanog bilirubina) je određena u reakciji sa diazonijum jonom sulfanilne kiseline. Koncentracija kalcijuma određena je u reakciji sa o-krezolnataleinom, dok je koncentracija fosfora određena u reakciji sa amonijum molibdatom. Svi parametri određeni su korišćenjem komercijalnih test paketa, prema uputstvu proizvođača (*Bayer Diagnostics, Germany*). Spektrofotometrijska merenja izvedena su na aparatu Cecil CE 2021 UV/VIS.

Ukupna aktivnost LDH i izoenzimski oblici laktat dehidrogenaze ( $\text{LDH}_1$ ,  $\text{LDH}_2$ ,  $\text{LDH}_3$ ,  $\text{LDH}_4$  i  $\text{LDH}_5$ ) određeni su vertikalnom elektroforezom na 7.5% PAGE (HOEFFER MINI VE, Amersham, LKB, 2117, Bromma, Uppsala, Sweden), uz primenu TRIS-glicinskog pufera i Na-laktata kao supstrata u prisustvu tetrazolijumskog plavog po metodi Yoshida i Takakuwa (1997). Intenzitet traka određen je denzitometrijski, korišćenjem kompjuterskog programskog paketa Scion Image Beta 4.02 (Scion Corp., 2007). Relativna aktivnost pojedinih izoenzima izražena je procentualno u odnosu na ukupnu aktivnost LDH.

## Statistička analiza / Statistical analyses

Statistička obrada rezultata izvršena je korišćenjem kompjuterskog programskog paketa GraphPad Prism 5.00 (San Diego, CA, USA). Statistička značajnost razlika svih ispitivanih parametara određena je pomoću ANOVA testa, korišćenjem Tukey-ovog testa. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost  $\pm$  standardna greška (SE). Kao statistički značajne uzete su razlike na nivou  $p \leq 0,05$ .

## Rezultati / Results

Rezultati parazitološkog pregleda fecesa ovaca / The results of parasitological examination of faeces of sheep

Rezultati ispitivanja intenziteta parazitske infekcije sa *S. papillosus* pre i nakon dehelmintizacije sa ABZ prikazani su u tabeli 1.

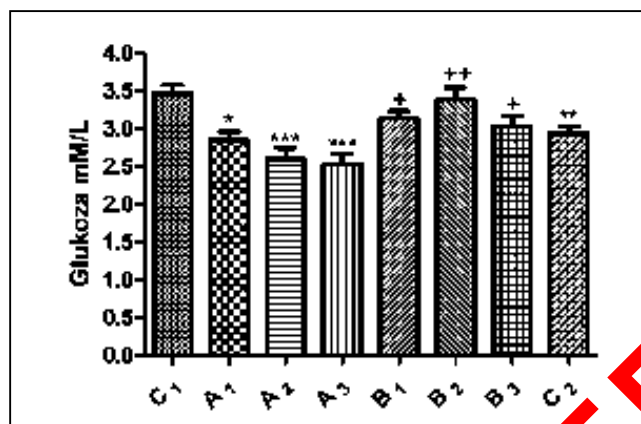
Tabela 1. Intenzitet parazitske infekcije sa *S. papillosus* (srednja vrednost  $\pm$  standardna greška) pre i nakon dehelmintizacije sa ABZ

Table 1. Intensity of parasitic infection with *S. papillosus* (average value  $\pm$  standard error) before and after dehelmintization with ABZ

	Intenzitet infekcije sa <i>S. papillosus</i> (br. jaja/g fecesa) / Intensity of infection with <i>S. papillosus</i> (number of eggs/g of faeces)					
	Pre dehelmintizacije sa ABZ / Before dehelmintization with ABZ			Posle dehelmintizacije sa ABZ / After dehelmintization with ABZ		
Grupe ovaca / Groups of sheep	A <sub>1</sub> (n=10)	A <sub>2</sub> (n=10)	A <sub>3</sub> (n=10)	B <sub>1</sub> (n=10)	B <sub>2</sub> (n=10)	B <sub>3</sub> (n=10)
	832 $\pm$ 34,7	1120 $\pm$ 50,1	1448 $\pm$ 146,5	0	0	0

## Rezultati biohemijskih ispitivanja krvi / The results of biochemical blood tests

Upoređujući vrednosti koncentracije glukoze u krvi pre dehelmintizacije utvrđene su statistički značajno niže vrednosti i to kod grupe sa niskim intenzitetom infekcije  $0,85 \pm 0,10$  mM/L ( $p < 0,05$ ), kod grupe sa srednjim intenzitetom  $2,60 \pm 0,14$  mM/L i kod grupe sa visokim intenzitetom infekcije  $2,53 \pm 0,14$  mM/L ( $p < 0,01$ ), u odnosu na kontrolnu C<sub>1</sub> grupu. Nakon tretmana sa ABZ, koncentracija glukoze kod svih ispitivanih grupa je bila bez statističke značajnosti u odnosu na C<sub>1</sub> grupu ( $p > 0,05$ ). Međutim, međusobnim poređenjem grupa (pre i posle dehelmintizacije) utvrđeno je da su koncentracije glukoze bile više nakon dehelmintizacije, i to kod grupa sa blagim i visokim intenzitetom parazitske infekcije na nivou statističke značajnosti  $p < 0,05$ , a kod grupe sa srednjim intenzitetom infekcije na nivou  $p < 0,01$ , u odnosu na grupe sa ispitivanom parazitskom infekcijom. Interesantno je da su koncentracije glukoze kod kontrolne C<sub>2</sub> grupe bile statistički značajno niže ( $p < 0,01$ ) u odnosu na kontrolnu C<sub>1</sub> grupu (grafikon 1).



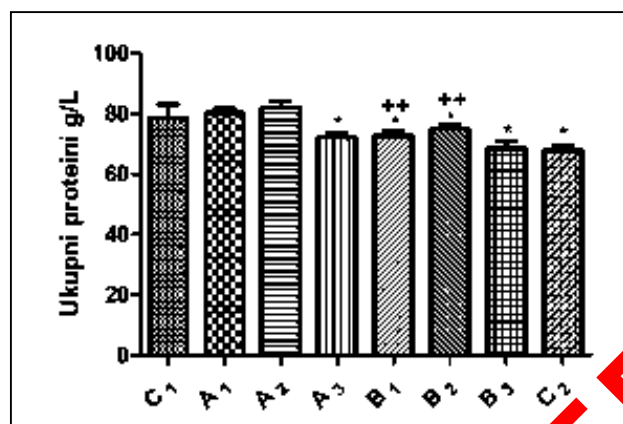
Grafikon 1. Koncentracija glukoze u krvi ovaca pre (A) i posle (B) dehelmintizacije: grupa sa niskim intenzitetom infekcije (A1 – pre i B1 – nakon dehelmintizacije), grupa sa srednjim intenzitetom infekcije (A2 – pre i B2 – nakon dehelmintizacije), grupa sa visokim intenzitetom infekcije (A3 – pre i B3 – nakon dehelmintizacije); C1 – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita; C2 – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita i tretirana sa ABZ; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  u odnosu na kontrolnu grupu C1; + $p < 0,05$ ; ++ $p < 0,01$  poređenje između grupa pre i nakon dehelmintizacije (A1 vs. B1, A2 vs. B2, A3 vs. B3).

Graph 1. Concentration of glucose in the blood of sheep before (A) and after (B) dehelmintization: the group with low intensity of infection (A1 before and B1 after dehelmintization), the group with medium intensity of infection (A2 before and B2 after dehelmintization), the group with high intensity of infection (A3 before and B3 after dehelmintization); C1-control group of sheep negative for parasites; C2-control group of sheep negative for parasites and treated with ABZ; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  regarding to control group C1; + $p < 0,05$ ; ++ $p < 0,01$  comparison between groups before and after dehelmintization (A1 vs. B1, A2 vs. B2, A3 vs. B3).

Rezultati analize ukupnih proteina prikazani su na grafikonu 2.

Poređenjem srednjih vrednosti koncentracije ukupnih proteina svih ispitivanih grupa (pre i posle dehelmintizacije) sa koncentracijom proteina kontrolne grupe dokazano je smanjenje koncentracije proteina u grupi sa visokim intenzitetom infekcije i svih grupa tretiranih albendazolom ( $p < 0,05$ ). Analizom dobijenih rezultata unutar grupa pre dehelmintizacije dokazana je značajna statistička razlika u koncentraciji ukupnih proteina ovaca sa niskim i srednjim intenzitetom infekcije u odnosu na ovce sa visokim stepenom parazitske infekcije ( $p < 0,01$ ).

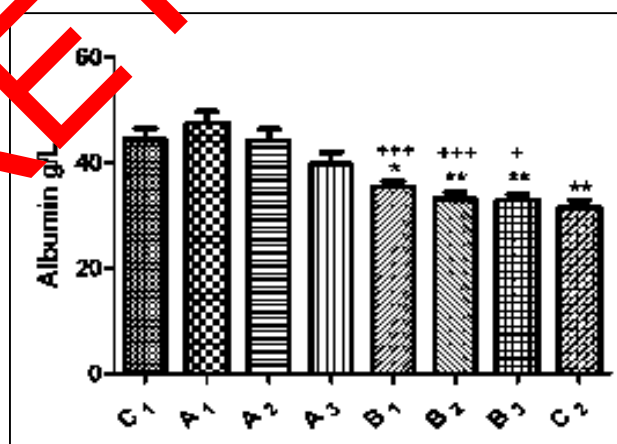
Nakon dehelmintizacije, međusobnim poređenjem unutar grupa nije utvrđena statistički značajna razlika u sadržaju ukupnih proteina ( $p > 0,05$ ). Međutim, ustanovljena je razlika u koncentraciji ukupnih proteina kod grupe ovaca sa niskim i srednjim intenzitetom infekcije pre ( $80,18 \pm 1,50$  i  $82,07 \pm 2,07$  g/L) i posle dehelmintizacije albendazolom ( $72,77 \pm 1,40$  i  $74,95 \pm 1,31$  g/L) na nivou statističke značajnosti  $p < 0,01$ .



Grafikon 2. Koncentracija ukupnih proteina u krvnom serumu ovaca pre (A) i posle (B) dehelmintizacije: grupa sa niskim intenzitetom infekcije ( $A_1$  – pre i  $B_1$  – nakon dehelmintizacije), grupa sa srednjim intenzitetom infekcije ( $A_2$  – pre i  $B_2$  – nakon dehelmintizacije), grupa sa visokim intenzitetom infekcije ( $A_3$  – pre i  $B_3$  – nakon dehelmintizacije);  $C_1$  – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita;  $C_2$  – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita i tretirana sa ABZ; \* $p < 0,05$  u odnosu na kontrolnu grupu  $C_1$ ; ++ $p < 0,01$  poređenje između grupa pre i nakon dehelmintizacije ( $A_1$  vs.  $B_1$ ,  $A_2$  vs.  $B_2$ ,  $A_3$  vs.  $B_3$ ).

Graph 2. Concentration of total protein in the blood serum of sheep before (A) and after (B) dehelmintization: the group with low intensity of infection ( $A_1$  before and  $B_1$  after dehelmintization), the group with medium intensity of infection ( $A_2$  before and  $B_2$  after dehelmintization), the group with high intensity of infection ( $A_3$  before and  $B_3$  after dehelmintization);  $C_1$  – control group of sheep negative for parasites;  $C_2$  – control group of sheep negative for parasites and treated with ABZ; \* $p < 0,05$  in regard to control group  $C_1$ ; ++ $p < 0,01$  comparison between groups before and after dehelmintization ( $A_1$  vs.  $B_1$ ,  $A_2$  vs.  $B_2$ ,  $A_3$  vs.  $B_3$ ).

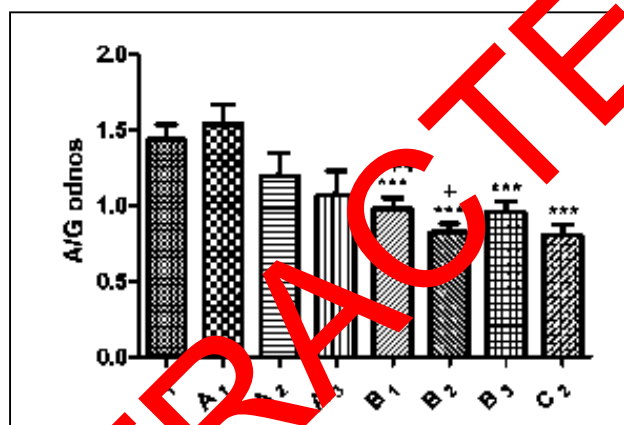
Koncentracija dominantnih proteinske frakcije, albumina, kao i albuminsko/globulinski odnos (A/G), prikazani su na grafikonima 3 i 4.





Grafikon 3. Koncentracija albumina u krvnom serumu ovaca pre (A) i posle (B) dehelmintizacije: grupa sa niskim intenzitetom infekcije ( $A_1$  – pre i  $B_1$  – nakon dehelmintizacije), grupa sa srednjim intenzitetom infekcije ( $A_2$  – pre i  $B_2$  – nakon dehelmintizacije), grupa sa visokim intenzitetom infekcije ( $A_3$  – pre i  $B_3$  – nakon dehelmintizacije);  $C_1$  – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita;  $C_2$  – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita i tretirana sa ABZ; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  u odnosu na kontrolnu grupu  $C_1$ ; + $p < 0,05$ ; +++ $p < 0,001$  poređenje između grupa pre i nakon dehelmintizacije ( $A_1$  vs.  $B_1$ ,  $A_2$  vs.  $B_2$ ,  $A_3$  vs.  $B_3$ ).

Graph 3. Concentration of albumin in the blood serum of sheep before (A) and after (B) dehelmintization: the group with low intensity of infection ( $A_1$ -before and  $B_1$ -after dehelmintization), the group with medium intensity of infection ( $A_2$ -before and  $B_2$ -after dehelmintization), the group with high intensity of infection ( $A_3$ -before and  $B_3$ -after dehelmintization);  $C_1$ -control group of sheep negative for parasites;  $C_2$ -control group of sheep negative for parasites and treated with ABZ; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  in regard to control group  $C_1$ ; + $p < 0,05$ ; +++ $p < 0,001$  comparison between groups before and after dehelmintization ( $A_1$  vs.  $B_1$ ,  $A_2$  vs.  $B_2$ ,  $A_3$  vs.  $B_3$ ).



Grafikon 4. A/G odnos u krvnom serumu ovaca pre (A) i posle (B) dehelmintizacije: grupa sa niskim intenzitetom infekcije ( $A_1$  – pre i  $B_1$  – nakon dehelmintizacije), grupa sa srednjim intenzitetom infekcije ( $A_2$  – pre i  $B_2$  – nakon dehelmintizacije), grupa sa visokim intenzitetom infekcije ( $A_3$  – pre i  $B_3$  – nakon dehelmintizacije);  $C_1$  – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita;  $C_2$  – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita i tretirana sa ABZ; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  u odnosu na kontrolnu grupu  $C_1$ ; + $p < 0,05$ ; +++ $p < 0,001$  poređenje između grupa pre i nakon dehelmintizacije ( $A_1$  vs.  $B_1$ ,  $A_2$  vs.  $B_2$ ,  $A_3$  vs.  $B_3$ ).

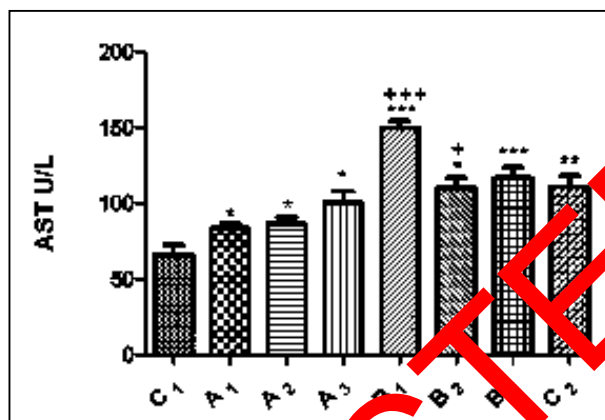
Graph 4. A/G ratio in the blood serum of sheep before (A) and after (B) dehelmintization: the group with low intensity of infection ( $A_1$ -before and  $B_1$ -after dehelmintization), the group with medium intensity of infection ( $A_2$ -before and  $B_2$ -after dehelmintization), the group with high intensity of infection ( $A_3$ -before and  $B_3$ -after dehelmintization);  $C_1$ -control group of sheep negative for parasites;  $C_2$ -control group of sheep negative for parasites and treated with ABZ; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  in regard to control group  $C_1$ ; + $p < 0,05$ ; +++ $p < 0,001$  comparison between groups before and after dehelmintization ( $A_1$  vs.  $B_1$ ,  $A_2$  vs.  $B_2$ ,  $A_3$  vs.  $B_3$ ).

Primena antihelmintika snižava koncentraciju albumina u grupi ovaca sa blagim za 25,40 %, srednjim za 25,00 % i visokim intenzitetom infekcije za 17,04%.



Uočava se da A/G količnik ima tendenciju pada kako u grupi pre tako i u grupi ovaca posle dehelmintizacije albendazolom i dostiže minimalnu vrednost u grupi ovaca sa srednjim intenzitetom infekcije od  $0,82 \pm 0,06$  u odnosu na kontrolnu grupu ( $1,44 \pm 0,10$ ).

Rezultati određivanja enzimske aktivnosti AST prikazani su na grafikonu 5.



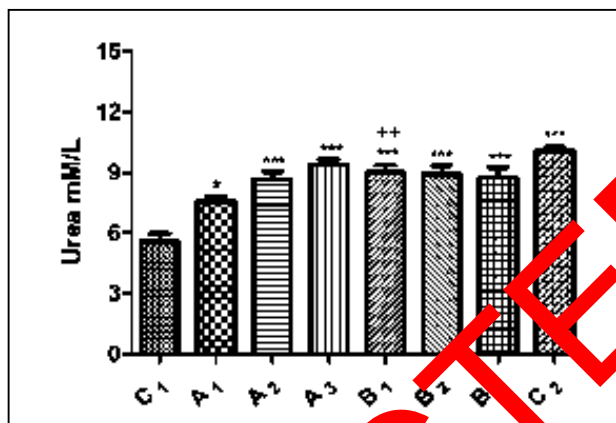
Grafikon 5. Aktivnost AST u krvnom serumu ovaca pre (A) i posle (B) dehelmintizacije: grupa sa niskim intenzitetom infekcije ( $A_1$  – pre i  $B_1$  – nakon dehelmintizacije), grupa sa srednjim intenzitetom infekcije ( $A_2$  – pre i  $B_2$  – nakon dehelmintizacije), grupa sa visokim intenzitetom infekcije ( $A_3$  – pre i  $B_3$  – nakon dehelmintizacije);  $C_1$  – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita;  $C_2$  – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita i tretirana sa ABZ; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  u odnosu na kontrolnu grupu  $C_1$ ; + $p < 0,05$ ; +++ $p < 0,001$  poređenje između grupa pre i nakon dehelmintizacije ( $A_1$  vs.  $B_1$ ,  $A_2$  vs.  $B_2$ ,  $A_3$  vs.  $B_3$ ).

Graph 5. AST activity in blood serum of sheep before (A) and after (B) dehelmintization: the group with low intensity of infection ( $A_1$ -before and  $B_1$ -after dehelmintization), the group with medium intensity of infection ( $A_2$ -before and  $B_2$ -after dehelmintization), the group with high intensity of infection ( $A_3$ -before and  $B_3$ -after dehelmintization);  $C_1$ -control group of sheep negative for parasites;  $C_2$ -control group of sheep negative for parasites and treated with ABZ; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  in regard to control group  $C_1$ ; + $p < 0,05$ ; +++ $p < 0,001$  comparison between groups before and after dehelmintization ( $A_1$  vs.  $B_1$ ,  $A_2$  vs.  $B_2$ ,  $A_3$  vs.  $B_3$ ).

Poređenjem vrednosti aktivnosti AST svih grupa sa kontrolnom grupom dokazan je statistički značajan rast aktivnosti AST u grupama pre dehelmintizacije ( $p < 0,05$ ). Nakon dehelmintizacije u grupi sa blagim intenzitetom infekcije AST dostiže maksimalnu vrednost i iznosi  $149,9 \pm 4,88$  U/L, u odnosu na aktivnost ovog enzima kontrolne grupe ( $66,50 \pm 6,50$  U/L).

Rezultati analize koncentracije uree u serumu ovaca, pre i posle dehelmintizacije, prikazani su na grafikonu 6.

Uočava se porast koncentracije uree u zavisnosti od intenziteta infekcije, kod grupe sa blagim intenzitetom infekcije povećanje iznosi 36%, sa srednjim intenzitetom infekcije za 57% dok u grupi sa visokim stepenom parazitske infekcije ovo povećanje iznosi 68%. Posle dehelmintizacije, koncentracija uree zadržava povećanu vrednost i iznosi 57 – 61% od vrednosti kontrolne grupe.

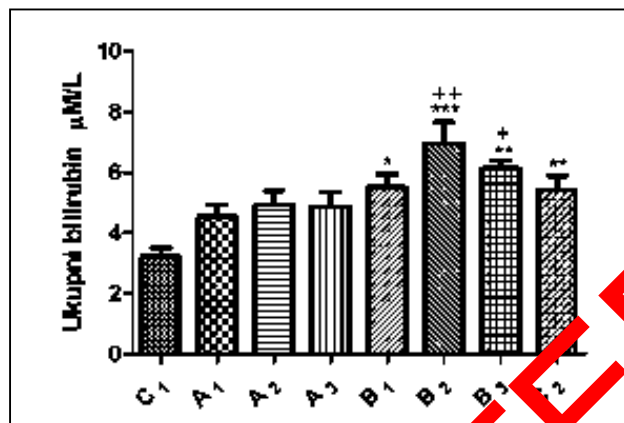


Grafikon 6. Koncentracija uree u krvnom serumu ovaca pre (A) i posle (B) dehelmintizacije: grupa sa niskim intenzitetom infekcije (A<sub>1</sub> – pre i B<sub>1</sub> – nakon dehelmintizacije), grupa sa srednjim intenzitetom infekcije (A<sub>2</sub> – pre i B<sub>2</sub> – nakon dehelmintizacije), grupa sa visokim intenzitetom infekcije (A<sub>3</sub> – pre i B<sub>3</sub> – nakon dehelmintizacije); C<sub>1</sub> – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita; C<sub>2</sub> – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita i tretirana sa ABZ; \*p < 0,05; \*\*\*p < 0,001 u odnosu na kontrolnu grupu C<sub>1</sub>; ++p < 0,01 poređenje između grupa pre i nakon dehelmintizacije (A<sub>1</sub> vs. B<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> vs. B<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> vs. B<sub>3</sub>).

Graph 6. Concentration of urea in the blood serum of sheep before (A) and after (B) dehelmintization: the group with low intensity of infection (A<sub>1</sub>-before and B<sub>1</sub>-after dehelmintization), the group with medium intensity of infection (A<sub>2</sub>-before and B<sub>2</sub>-after dehelmintization), the group with high intensity of infection (A<sub>3</sub>-before and B<sub>3</sub>-after dehelmintization); C<sub>1</sub>-control group of sheep negative for parasites; C<sub>2</sub>-control group of sheep negative for parasites and treated with ABZ; \*p < 0,05; \*\*\*p < 0,001 in regard to control group C<sub>1</sub>; ++p < 0,01 comparison between groups before and after dehelmintization (A<sub>1</sub> vs. B<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> vs. B<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> vs. B<sub>3</sub>).

Analizom koncentracije ukupnog bilirubina (grafikon 7) pre dehelmintizacije, utvrđen je porast u zavisnosti od intenziteta infekcije, ali bez statističke značajnosti u odnosu na kontrolnu C<sub>1</sub> grupu (3,23±0,27 µM/L; p > 0,05). Nakon dehelmintizacije, utvrđen je porast koncentracije ukupnog bilirubina kod grupe koja je imala blagi intenzitet infekcije na nivou statističke značajnosti p < 0,05 (5,51±0,43 µM/L), kod grupe sa srednjim intenzitetom infekcije na nivou p < 0,001 (6,95±0,71 µM/L), i kod grupe koja je imala visoki intenzitet parazitske infekcije na nivou p < 0,01 (6,13±0,25 µM/L), u poređenju sa kontrolnom C<sub>1</sub> grupom. Interesantno je primetiti da je kod kontrolne C<sub>2</sub> grupe utvrđen porast koncentracije ukupnog

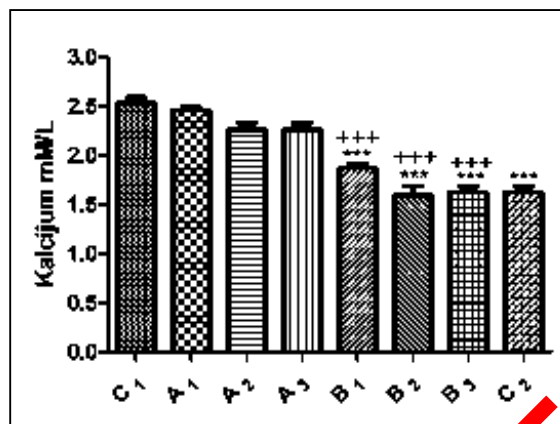
bilirubina ( $5,42 \pm 0,48 \mu\text{M/L}$ ) na nivou statističke značajnosti  $p < 0,01$ , u odnosu na  $C_1$  grupu.



Grafikon 7. Koncentracija ukupnog bilirubina u krvnom serumu ovaca pre (A) i posle (B) dehelmintizacije: grupa sa niskim intenzitetom infekcije ( $A_1$  – pre i  $B_1$  – nakon dehelmintizacije), grupa sa srednjim intenzitetom infekcije ( $A_2$  – pre i  $B_2$  – nakon dehelmintizacije), grupa sa visokim intenzitetom infekcije ( $A_3$  – pre i  $B_3$  – nakon dehelmintizacije);  $C_1$  – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita;  $C_2$  – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita i tretirana sa ABZ; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  u odnosu na kontrolnu grupu  $C_1$ ; + $p < 0,05$ ; ++ $p < 0,01$  poređenje između grupa pre i nakon dehelmintizacije ( $A_1$  vs.  $B_1$ ,  $A_2$  vs.  $B_2$ ,  $A_3$  vs.  $B_3$ ).

Graph 7. Concentration of total bilirubin in the blood serum of sheep before (A) and after (B) dehelmintization: the group with low intensity of infection ( $A_1$ -before and  $B_1$ -after dehelmintization), the group with medium intensity of infection ( $A_2$ -before and  $B_2$ -after dehelmintization), the group with high intensity of infection ( $A_3$ -before and  $B_3$ -after dehelmintization);  $C_1$ -control group of sheep negative for parasites;  $C_2$ -control group of sheep negative for parasites and treated with ABZ; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  in regard to control group  $C_1$ ; + $p < 0,05$ ; ++ $p < 0,01$  comparison between groups before and after dehelmintization ( $A_1$  vs.  $B_1$ ,  $A_2$  vs.  $B_2$ ,  $A_3$  vs.  $B_3$ ).

Analizom koncentracije kalcijuma unutar grupa pre dehelmintizacije (u prisustvu infekcije sa *S. papillosus*), utvrđeno je da dolazi do pada koncentracije kalcijuma u krvnom serumu ispitivanih ovaca sa porastom intenziteta parazitske infekcije. Nema statističke značajnosti u odnosu na kontrolnu  $C_1$  grupu ( $p > 0,05$ ). Nakon dehelmintizacije sa ABZ utvrđeno je da dolazi do pada koncentracije kalcijuma u krvnom serumu ispitivanih ovaca, kako međusobnim poređenjem grupa pre i posle dehelmintizacije ( $1,87 \pm 0,04$  vs  $2,46 \pm 0,03$ ;  $1,59 \pm 0,09$  vs  $2,26 \pm 0,06$ ;  $1,62 \pm 0,06$  vs  $2,26 \pm 0,06$  mM/L), tako i u odnosu na kontrolnu  $C_1$  grupu ( $2,54 \pm 0,05$  mM/L), na nivou statističke značajnosti  $p < 0,001$ . Takođe, i kod kontrolne  $C_2$  grupe utvrđen je pad koncentracije kalcijuma u odnosu na  $C_1$  grupu ( $p < 0,001$ ) (grafikon 8).

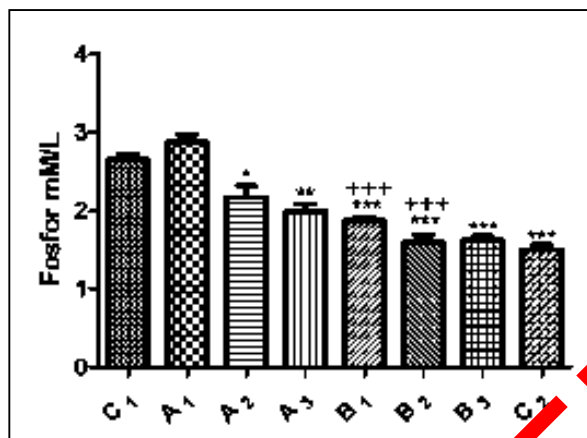


Grafikon 8. Koncentracija kalcijuma u krvnom serumu ovaca pre (A) i posle (B) dehelminthizacije: grupa sa niskim intenzitetom infekcije (A<sub>1</sub> pre i B<sub>1</sub> nakon dehelminthizacije), grupa sa srednjim intenzitetom infekcije (A<sub>2</sub> pre i B<sub>2</sub> nakon dehelminthizacije), grupa sa visokim intenzitetom infekcije (A<sub>3</sub> pre i B<sub>3</sub> nakon dehelminthizacije); C<sub>1</sub>-kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita; C<sub>2</sub>-kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita i tretirana sa ABZ; \*\*\*p < 0,001 u odnosu na kontrolnu grupu C<sub>1</sub>; +++p < 0,001 poređenje između grupa pre i nakon dehelminthizacije (A<sub>1</sub> vs. B<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> vs. B<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> vs. B<sub>3</sub>).

Graph 8. Concentration of calcium in the blood serum of sheep before (A) and after (B) dehelminthization: the group with low intensity of infection (A<sub>1</sub>-before and B<sub>1</sub>-after dehelminthization), the group with medium intensity of infection (A<sub>2</sub>-before and B<sub>2</sub>-after dehelminthization), the group with high intensity of infection (A<sub>3</sub>-before and B<sub>3</sub>-after dehelminthization); C<sub>1</sub>-control group of sheep negative for parasites; C<sub>2</sub>-control group of sheep negative for parasites and treated with ABZ; \*\*\*p < 0,001 in regard to control group C<sub>1</sub>; +++p < 0,001 comparison between groups before and after dehelminthization (A<sub>1</sub> vs. B<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> vs. B<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> vs. B<sub>3</sub>).

Koncentracija fosfora kod grupe sa blagim intenzitetom parazitske infekcije sa *S. papillosus* ( $2,87 \pm 0,03$  mM/L) nije se statistički razlikovala od C<sub>1</sub> grupe ( $2,66 \pm 0,07$  mM/L; p > 0,05). Međutim, može se videti (grafikon 9) da sa porastom intenziteta parazitske infekcije (kod srednjeg  $2,17 \pm 0,14$  mM/L; p < 0,05 i visokog intenziteta  $1,91 \pm 0,03$  mM/L; p < 0,01) dolazi do pada koncentracije fosfora, u odnosu na kontrolnu C<sub>1</sub> grupu.

Nakon terapije sa ABZ dolazi do pada koncentracije fosfora u svim grupama (niski –  $1,87 \pm 0,04$ ; srednji –  $1,59 \pm 0,09$ ; visoki –  $1,62 \pm 0,05$  mM/L), na nivou statističke značajnosti p < 0,001, u odnosu na kontrolnu C<sub>1</sub> grupu. Međusobnim poređenjem grupa pre i posle dehelminthizacije, može se videti (grafikon 9) da je pad koncentracije fosfora kod grupe sa blagim i srednjim intenzitetom parazitske infekcije bio na visokom nivou statističke značajnosti, p < 0,001. Takođe, utvrđeno je da su vrednosti koncentracije fosfora u krvnom serumu C<sub>2</sub> grupe bile statistički značajno niže u odnosu na C<sub>1</sub> grupu (p < 0,001).



Grafikon 9. Koncentracija fosfora u krvnom serumu ovaca pre (A) i posle (B) dehelminthizacije: grupa sa niskim intenzitetom infekcije (A<sub>1</sub> – pre i B<sub>1</sub> – nakon dehelminthizacije), grupa sa srednjim intenzitetom infekcije (A<sub>2</sub> – pre i B<sub>2</sub> – nakon dehelminthizacije), grupa sa visokim intenzitetom infekcije (A<sub>3</sub> – pre i B<sub>3</sub> – nakon dehelminthizacije); C<sub>1</sub> – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita; C<sub>2</sub> – kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita i tretirana sa ABZ; \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001 u odnosu na kontrolnu grupu C<sub>1</sub>; +++p < 0,001 poređenje između grupa pre i nakon dehelminthizacije (A<sub>1</sub> vs. B<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> vs. B<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> vs. B<sub>3</sub>).

Graph 9. Concentration of phosphorus in the blood serum of sheep before (A) and after (B) dehelminthization: the group with low intensity of infection (A<sub>1</sub>-before and B<sub>1</sub>-after dehelminthization), the group with medium intensity of infection (A<sub>2</sub>-before and B<sub>2</sub>-after dehelminthization), the group with high intensity of infection (A<sub>3</sub>-before and B<sub>3</sub>-after dehelminthization); C<sub>1</sub>-control group of sheep negative for parasites; C<sub>2</sub>-control group of sheep negative for parasites and treated with ABZ; \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001 in regard to control group C<sub>1</sub>; +++p < 0,001 comparison between groups before and after dehelminthization (A<sub>1</sub> vs. B<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> vs. B<sub>2</sub>, A<sub>3</sub> vs. B<sub>3</sub>).

Analizirajući enzimsku aktivnost ukupne LDH utvrđeno je povećanje njene aktivnosti sa porastom intenziteta parazitske infekcije; kod grupe sa blagim intenzitetom infekcije na nivou statističke značajnosti p < 0,01 (1447 ± 41,04 U/L), a kod grupa sa srednjim i visokim intenzitetom parazitske infekcije na nivou značajnosti p < 0,001 (1842 ± 72,90 i 2086 ± 150,50 U/L) u odnosu na kontrolnu C<sub>1</sub> grupu (841,00 ± 28,87 U/L). Nakon dehelminthizacije utvrđena je niža aktivnost ovog enzima kod grupe sa srednjim (1354 ± 139,40 U/L; p < 0,05) i visokim intenzitetom (1531 ± 102,80 U/L; p < 0,001) parazitske infekcije, u odnosu na kontrolnu C<sub>1</sub> grupu. Međusobnim poređenjem grupa, pre i posle dehelminthizacije utvrđene su statistički značajno niže vrednosti LDH nakon tretmana sa ABZ, na nivou statističke značajnosti p < 0,01. Poređenjem ukupne aktivnosti ovog enzima kod kontrolnih grupa (C<sub>1</sub> i C<sub>2</sub>), utvrđeno je da tretman sa ABZ dovodi do povećanja njegove aktivnosti kod kontrolne C<sub>2</sub> grupe (1164 ± 78,36 U/L) na nivou statističke značajnosti p < 0,01 (tabela 2).

Tabela 2. Aktivnost LDH i relativna izoenzimna distribucija LDH u krvnoj plazmi ovaca pre i posle dehelmintizacije  
Table 2. Activity of LDH and relative isoenzyme distribution of LDH in blood plasma of sheep before and after dehelminthization

	C <sub>1</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>
	$\bar{x} \pm SE$							
LDH (U/L)	849,0±28,8	1447±41,1*	1882±2,9**	2086±150,5***	901±50,1**	1354±139,4***	1531±102,8***	1164±78,4**
LDH <sub>1</sub> (%)	60,9±1,47	43,91±0,72***	42,77±1,43***	42,67±1,83***	53,33±0,82*	58,85±1,36	58,86±1,16	56,12±0,83
LDH <sub>2</sub> (%)	5,81±0,39	15,52±0,34***	11,82±0,29**	12,03±0,66***	5,42±0,39**	5,56±0,49**	5,44±0,46**	3,81±0,21*
LDH <sub>3</sub> (%)	20,71±0,76	34,94±0,65***	27,32±1,52**	28,58±0,44**	32,01±0,66***	18,21±0,54**	18,56±0,75**	23,58±0,11*
LDH <sub>4</sub> (%)	4,40±0,47	2,04±0,39	2,25±0,83	2,01±0,48	3,61±0,32	4,74±0,26*	5,98±0,58***	3,95±0,09
LDH <sub>5</sub> (%)	8,10±0,45	4,17±0,54***	14,64±2,07***	12,71±1,97**	5,43±1,53***	14,39±1,16***	10,57±1,47***	13,05±1,18***

Grupe: grupa sa niskim intenzitetom infekcije (A<sub>1</sub>-pre i B<sub>1</sub>-nakon dehelmintizacije); grupa sa srednjim intenzitetom infekcije (A<sub>2</sub>-pre i B<sub>2</sub>-nakon dehelmintizacije); grupa sa visokim intenzitetom infekcije (A<sub>3</sub>-pre i B<sub>3</sub>-nakon dehelmintizacije); C<sub>1</sub>-kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita; C<sub>2</sub>-kontrolna grupa ovaca negativna na prisustvo parazita i tretirana sa ABZ; \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001 u odnosu na kontrolnu grupu C<sub>1</sub>; +p < 0,05; ++p < 0,01; +++p < 0,001 posle terapije između grupa pre i nakon dehelmintizacije (A<sub>1</sub> vs. B<sub>1</sub>; A<sub>2</sub> vs. B<sub>2</sub>; A<sub>3</sub> vs. B<sub>3</sub>).

Groups: group with low intensity of infection (A1-before and B1-after dehelminthization); group with medium intensity of infection (A2-before and B2-after dehelminthization); group with high intensity of infection (A3-before and B3-after dehelminthization); C1-control group of sheep negative for parasites; C2-control group of sheep negative for parasites and treated with ABZ; \*p < 0,05; \*\*p < 0,01; \*\*\*p < 0,001 in regard to control group C1; +p < 0,05; ++p < 0,01; +++p < 0,001 comparison between groups before and after dehelminthization (A1 vs. B1, A2 vs. B2, A3 vs. B3).



Izoenzimski oblici LDH ( $LDH_1$ - $LDH_5$ ) pružaju informaciju o vrsti tkiva i organa koji su oštećeni tokom parazitske infekcije, kao i nakon terapije lekom. Rezultati izoenzimske distribucije LDH ( $LDH_1$ - $LDH_5$ ) prikazani su u tabeli 2. Analizom izoenzimske distribucije  $LDH_1$  utvrđeno je da u prisustvu parazitske infekcije dolazi do smanjenja ovog izoenzomskog oblika u poređenju sa kontrolnom  $C_1$  grupom, na nivou statističke značajnosti  $p < 0,001$ . Nakon primene ABZ, takođe su uočene niže vrednosti  $LDH_1$ , koje su se statistički razlikovale samo kod grupe sa blagim intenzitetom infekcije u odnosu na kontrolnu  $C_1$  grupu ( $p < 0,05$ ). Između kontrolne  $C_1$  i  $C_2$  grupe nije utvrđena statistički značajna razlika ( $p > 0,05$ ) u izoenzimskoj distribuciji  $LDH_1$ . Za razliku od  $LDH_1$ , kod svih grupa utvrđeno je povećanje aktivnosti  $LDH_2$ , u odnosu na kontrolnu  $C_1$  grupu, na nivou statističke značajnosti  $p < 0,001$ . Nakon primene ABZ kod svih ispitivanih grupa su utvrđene niže vrednosti  $LDH_2$  koje se nisu statistički razlikovale od  $C_1$  grupe ( $p > 0,05$ ). Međutim, međusobnim poređenjem grupa pre i posle dehelmintizacije, utvrđene su statistički značajno niže vrednosti nakon dehelmintizacije ( $p < 0,001$ ). Takođe, i kod kontrolne  $C_2$  grupe dolazi do smanjenja ovog oblika  $LDH_2$  u odnosu na  $C_1$ , na nivou  $p < 0,05$ . Analizom izoenzimske distribucije  $LDH_3$  utvrđeno je da u prisustvu parazitske infekcije dolazi do povećanja ovog oblika kod svih grupa na nivou  $p < 0,001$ , u odnosu na kontrolnu grupu  $C_1$ . Nakon terapije ABZ, statistički značajno povećanje utvrđeno je samo kod grupe sa blagim intenzitetom infekcije ( $p < 0,001$ ), u odnosu na  $C_1$  grupu, dok je kod grupa sa srednjim i visokim intenzitetom infekcije utvrđeno smanjenje  $LDH_3$ , na nivou  $p < 0,001$ . Kod kontrolne  $C_2$  grupe utvrđena je statistički veća vrednost  $LDH_3$  u poređenju sa  $C_1$  grupom ( $p < 0,05$ ). Interesantno je da aktivnost  $LDH_4$  nije kod grupa inficiranih sa *S. papillosus*, u odnosu na kontrolnu  $C_1$  grupu, ali bez statističke značajnosti ( $p > 0,05$ ). Nakon dehelmintizacije utvrđeno je povećanje aktivnosti ovog izoenzima LDH kod grupa sa srednjim ( $p < 0,05$ ) i visokim ( $p < 0,001$ ) intenzitetom infekcije. Nije utvrđena statistički značajna razlika između  $C_1$  i  $C_2$  grupe ( $p > 0,05$ ). Aktivnost  $LDH_5$  je bila smanjena kod grupe sa blagom, a povećana kod grupa sa srednjim i visokim intenzitetom parazitske infekcije u odnosu na kontrolnu  $C_1$  grupu, na nivou  $p < 0,001$ . Nakon dehelmintizacije utvrđen je gotovo identičan odnos kao u prethodnom slučaju (niže vrednosti kod grupe sa blagim i povećane kod grupe sa srednjim i visokim intenzitetom parazitske infekcije; na nivou  $p < 0,001$ ). Interesantno je da je primena ABZ dovela do povećanja aktivnosti izoenzima  $LDH_5$  kod kontrolne  $C_2$  grupe, na nivou  $p < 0,001$ , u odnosu na  $C_1$  grupu (tabela 2).

#### Diskusija / Discussion

Laktat dehidrogenaza je tetramerni enzim koji katalizuje poslednju reakciju anaerobne glikolize, interkonverziju piruvata u laktat. Normalno, u organizmu kičmenjaka postoji pet izoenzimskih oblika LDH ( $LDH_{1-5}$ ), sastavljenih od kombinacije M i H subjedinica (Jaffe i sar., 1996).

Analiza ukupne LDH ima ograničeni dijagnostički značaj i ukazuje na oštećenje ćelijske membrane usled čega dolazi do posledičnog „curenja” i povećanja aktivnosti ovog enzima u krvnom serumu/plazmi. U našem istraživanju utvrdili smo da sa porastom intenziteta parazitske infekcije raste i aktivnost LDH u krvnoj plazmi (tabela 2), što je potvrda oštećenja ćelijske membrane. Nakon terapije sa ABZ, aktivnost ovog enzima je statistički značajno niža u odnosu na stanje u prisustvu parazitske infekcije, mada i sam ABZ ( $C_2$  grupa) dovodi do oštećenja ćelijske membrane. Naime, ovi nalazi su u skladu sa našim prethodnim istraživanjem i osnovni mehanizam koji dovodi do oštećenja ćelijske membrane je oksidativno/nitrozativno stres koji se razvija u prisustvu ksenobiotika (Dimitrijević i sar., 2012). Takođe, kao što je navedeno, ovaj enzim ima pet izoenzimskih oblika (u zavisnosti od vrste i odnosa subjedinica) sa različitom distribucijom u tkivima i organima, pa se određivanje nivoa izoenzimskih oblika koristi u cilju procene stepena oštećenja, kao i vrste tkiva koje je oštećeno (Jaffe i sar., 1996; Yoshida i Takakuwa, 1997).

Prvu grupu čine tzv. „brzi izoenzimi“  $LDH_1$  (sastavljen od 4 H subjedinice) i  $LDH_2$  (sastavljen od 3 H i M subjedinice) koji su najzastupljeniji u srcu, bubrezima i eritrocitima. Drugu grupu čine tzv. „spori izoenzimi“  $LDH_4$  (sastavljen od H i 3 M subjedinice) i  $LDH_5$  (sastavljen od 4 M subjedinica) karakteristični za jetru i skeletne mišiće. Treću grupu čini tzv. „srednji izoenzim“  $LDH_3$  (sastavljen od 2 H i 2 M subjedinice) sa karakterističnom distribucijom u ćelijama pluća, tiroideje i nadbubrega (Gamieldeen i Maritz, 2008). Naši rezultati ukazuju da prisustvo parazita *S. papillosus* značajno povećava relativnu aktivnosti  $LDH_2$ ,  $LDH_3$  i  $LDH_5$ . S obzirom da larveni oblici *S. papillosus* u toku migracije krvotokom do tankih creva prolaze kroz jetru, miokard, pluća (Kassai, 1990), naši nalazi su u saglasnosti sa migracionim putem i oštećenjem pomenutih organa. Naši rezultati ukazuju da se nakon dehelmintizacije sa ABZ aktivnost  $LDH_5$  povećava u grupi sa srednjim i visokim intenzitetom parazitske infekcije i kontrolnoj  $C_2$  grupi, što ukazuje na oštećenje hepatocita. U prilog tvrdnji oštećenja jetre ukazuju i promene u proteinskim frakcijama krvnog seruma inficiranih i albendazolom tretiranih životinja. Kvantitativno najzastupljenija proteinska frakcija krvi, albumin, pored brojnih fizioloških funkcija (transport endogenih i egzogenih materija, modulacija kapilarne propustljivosti, adhezija i aktivacija neutrofila, i dr.) je i vrlo značajan extra-celularni antioksidans, zahvaljujući prisustvu slobodnih tiolnih grupa (Halliwell i Gutteridge, 1999; Ouellet i sar., 2008). S obzirom na to da je jetra jedino mesto u organizmu gde se sintetiše albumin, nivo albumina predstavlja vrlo važan biomarker funkcionalnog stanja jetre. Vrlo je verovatno da je pad koncentracije albumina i promenjen A/G odnos posledica mehaničkog oštećenja i posledične inflamacije izazvane migracijom parazita (grafikoni 2, 3 i 4). Trend pada koncentracije albumina, koji se može videti kod grupa ovaca nakon terapije sa ABZ, ukazuje na hepatotoksični potencijal ovog leka.

U prilog tvrdnji da je nastalo oštećenje hepatocita (kod inficiranih i tretiranih ovaca) ide i nalaz povećane aktivnosti AST, pri čemu je najveći porast detektovan

u grupi sa najvećim intenzitetom parazitske infekcije (grafikon 5), što je u saglasnosti sa nalazima Kozat i Denizhan (2010). Takođe, opet ističemo da i albendazol ima citotoksično dejstvo na jetru (Abd El-Rahman i sar., 1999), što se može videti na osnovu aktivnosti AST kod C<sub>2</sub> grupe.

Povećanje koncentracije uree u našem istraživanju, koje je u skoro linearnoj korelaciji sa intenzitetom parazitske infekcije (grafikon 6), može se objasniti povećanom produkcijom azotnih materija poreklom od sekretorno/ekskretornih produkata parazita s jedne strane, ali i mogućim narušavanjem morfološko-funkcionalnog integriteta bubrega.

Saleh (2008) navodi da u slučaju hronične fascioleze ovaca markeri oksidativnog stresa detektovani u krvi ukazuju da lokalizacija oštećenja izazvanog reaktivnim kiseoničnim i azotovim vrstama nije ograničena samo na jetru, mesto parazitiranja *F. hepatica*, već ima sistemski karakter, jer nastali slobodni radikali mogu cirkulacijom dospeti i do drugih organskih sistema. Marquis i sar. (2006) navode da pored jetre mogu biti oštećena i druga tkiva, npr. bubrezi, što je i potvrđeno kod infekcije vodenog bivola sa *Fasciola hepatica*. Takođe, Sang et al. (2007) navode uticaj fascioleze ritskog bivola na adrenalne i hipoidnu žlezdu, ističući time sistemski uticaj ovog parazita. U ovom istraživanju povećanje koncentracije uree takođe ukazuje da narušena oksidans/antioksidans ravnoteža, tj. oksidativni stres izazvan prisustvom *S. papillosus* i/ili njegovim sekretorno/ekskretornim produktima, ukazuje na moguća oštećenja bubrega (grafikon 6).

Nakon terapije sa ABZ, koncentracija uree je dalje povećana, u poređenju sa C<sub>2</sub> grupom, što opet navodi na zaključak da primenjeni antihelmintik preko indukcije povećanog stvaranja reaktivnih kiseoničnih i azotovih vrsta dovodi do oksidativnog stresa.

Jetra sintetše, koncentruje i izlučuje žučne kiseline i bilirubin. Interesantno je da su koncentracije ukupnog bilirubina bile veće nakon terapije sa ABZ (grafikon 7), što ukazuje na hepatotoksičnost ovog leka. Lekovima izazvana oštećenja hepatocita i žučnih puteva mogu dovesti doolestaze, sa posledičnom intrahepatičnom akumulacijom žučnih kiselina i drugih ekskrecionih produkata jetre, što dalje potpuno oštećuje hepatocite. Jetra ima ogroman regenerativni kapacitet, i upravo regeneracija hepatocita izgubljenih apoptozom ili nekrozom može maskirati detekciju oštećenja izazvanu lekovima (Jaeschke i sar., 2002).

U ovom eksperimentalnom modelu, takođe, utvrdili smo da sa porastom intenziteta parazitske infekcije sa *S. papillosus* dolazi do pada glikemije. Naši rezultati su u suprotnosti sa nalazima drugih autora, koji tvrde da ova vrsta parazitske infekcije nema takav efekat na organizam domaćina (Šibalić i Cvetković, 1996). Međutim, naši prethodni rezultati potvrđuju da je jetra pretrpela izvestan stepen oštećenja izazvanog parazitskom infekcijom sa *S. papillosus*, kako usled mehaničkog oštećenja u toku migracije ovog parazita, tako i usled posledičnog razvoja oksidativnog/nitrozativnog stresa, što neminovno dovodi do poremećaja glukoneogeneze u jetri. Nakon terapije sa ABZ, (kontrolna C<sub>2</sub> grupa) utvrđene su niže

vrednosti glikemije, što ukazuje da hepatociti u toku biotransformacije ABZ takođe trpe izvestan stepen opterećenja (grafikon 1).

S obzirom da su tanka creva mesto parazitiranja *S. papillosus* (Kassai, 1999), logično je očekivati pad koncentracije kalcijuma, što je i potvrđeno u ovom radu. Mada je nivo kalcemije linearno opadao sa rastom intenziteta parazitske infekcije (grafikon 8), treba istaći da je koncentracija kalcijuma bila u fiziološkim vrednostima i bez statističke značajnosti u odnosu na C<sub>1</sub> grupu. Međutim, nakon terapije sa ABZ koncentracije kalcijuma u krvnom serumu bile su statistički značajno niže ( $p < 0,001$ ), u odnosu na stanje pre terapije, kao i kod kontrolne C<sub>2</sub> grupe. Vrlo je verovatno da je narušen funkcionalni integritet jetre i posledični poremećaj u hidroksilaciji i stvaranju aktivne forme vitamina D (Braun i sar., 1986), koji je odgovoran za resorpciju kalcijuma u crevima, razlog za ovakav naš nalaz.

Koncentracija fosfora je takođe opadala sa rastom intenziteta parazitske infekcije, pri čemu su utvrđene vrednosti fosfora bile statistički značajno niže u odnosu na kontrolnu C<sub>1</sub> grupu. Nakon dehelmintizacije trend pada koncentracije fosfora se nastavio. Kod kontrolne C<sub>2</sub> grupe, takođe su uočene statistički značajno manje vrednosti u odnosu na C<sub>1</sub> grupu ( $p < 0,001$ ). Imajući u vidu da je pod uticajem ABZ došlo do pada koncentracije i kalcijuma i fosfora, uz evidentne dokaze o narušenom integritetu jetre, verovatni razlog za ovakav nalaz je deficit u proteinskim nosačima (koji se sintetišu u jetri) odgovornim za aktivni transport ovih makroelemenata (Braun i sar., 1986).

#### Zaključak / Conclusion

Naši rezultati pokazuju da parazitska infekcija sa *S. papillosus* dovodi do oštećenja jetre, i to ne samo mehanističkim putem u toku migracije larvi, već i kao posledice razvoja oksidativnog/nitrozativnog stresa posebno izraženog nakon terapije ABZ. Parazitske infekcije i terapija sa ABZ uzrokuje metaboličke poremećaje (energije i makroelemenata). Imajući u vidu naša prethodna istraživanja na polju oksidativnog stresa, fenomena koji se nalazi u osnovi ovih promena, strogo preporučujemo da se u antiparazitske protokole, pored antihelmintika, koriste i preparati sa oksidativnim osobinama.

#### ZAHVALNOSTI / ACKNOWLEDGEMENTS:

Zahvaljujemo se dr Sunčici Borožan i dr Sofiji Katić-Radivojević na bezrezervnoj pomoći u obradi materijala (određivanje intenziteta parazitske infekcije i izoenzimske distribucije LDH). Finansijska podrška obezbeđena je iz materijalnih sredstava projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije TR 31085 i HERD Project No: 09/1548, 332160 UA

Special thanks to dr Sunčica Borožan and dr Sofija Katić-Radivojević for help in processing of scientific material (determination of intensity of parasitic infection and isoenzyme distribution of LDH). Financial support was provided from the Ministry of Education, Science and Technological Development of Serbia, TR 31085 and HERD Project No: 09/1548, 332160 UA.

## Literatura / References

1. Abbott KA, Lewis CJ. Current approaches to the management of ovine footrot. Vet J 2005; 169: 28-41.
2. Abd El-Rahman MA, Andel-Nabi IM, Omran MAA, Mohamed MF. Cytotoxic effects of albendazole, antiparasitic drug, on the liver of the rat: subchronic study. Egypt J Biol 1999; 1: 16-29.
3. Braun JP, Bezille P, Rico AG. Biochemical semiology of the liver in ruminants. Reprod Nutr Dev 1986; 26: 227-43.
4. Chauvin A, Moreau E, Boulard C. Responses of *Fasciola hepatica* infected sheep to various infection levels. Vet Res 2001; 32: 87-92.
5. Dimitrijević B, Borozan S, Katić-Radivojević S, Stojanović S. Effects of infection intensity with *Strongyloides papillosus* and albendazole treatment on development of oxidative/nitrosative stress in sheep. Vet Parasitol 2012; 186: 364-375.
6. Eberhardt GA, Mayer WE, Bonfio B, Streit A. The *Strongyloides* (Nematoda) of sheep and the predominant *Strongyloides* of cattle at least two different, genetically isolated populations. Vet Parasitol 2008; 157: 89-99.
7. Euzeby J. Diagnostic experimental des helminthoses animales (animaux domestiques – animaux de laboratoire – primates). Travaux Pratiques d'Helminthologie vétérinaire. Informations Techniques des Services Vétérinaires, Ministère de l'Agriculture, 1992.
8. Gamielien K, Maritz GS. Influence of maternal nicotine exposure during gestation and lactation on lactate dehydrogenase isoenzyme profile and transcript levels in developing neonatal rat lung. Pathophysiology 2008; 15: 1-8.
9. Ganga G, Varshney JP, Sharma RL, Varshney VM, Kalicharan A. Effect of *Fasciola gigantica* infection on adrenal and thyroid glands of riverine buffaloes. Res Vet Sci 2007; 82: 61-7.
10. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, 3rd ed. Oxford University Press, 1999.
11. Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hesse CA, Messayre D, Lemasters JJ. Mechanisms of hepatotoxicity. Toxicol Sci 1992; 65: 166-76.
12. Jaffe AS, Landt Y, Parvin CA, Abendschein DR, Geltman EM, Ladenson JH. Comparative sensitivity of cardiac troponin I and lactate dehydrogenase isoenzymes for diagnosing acute myocardial infarction. Am J Chem 1996; 42: 1770-76.
13. Kassai T. Veterinary parasitology. Butterworth-Heinemann, Linacre House, Jordan Hill, Oxford OX28DP, ISBN 0 7506 3563 0. 1999.
14. Kozat S, Denizhan V. Glucose, lipid, and lipoprotein levels in sheep naturally infected with *Fasciola hepatica*. J Parasitol 2010; 96: 657-9.
15. Marques MT, Söferneker ML, Edelweiss MIA. Glomerulonephritis in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) naturally infected by *Fasciola hepatica*. Vet Parasitol 2004; 123: 83-91.
16. Oeda K, Stadlbauer M, Petter F, Greilberger J, Putz-Bankuti C, Hallstrom S, Lackner C, Stauber RE. Oxidative damage of albumin in advanced liver diseases. Biochim Biophys Acta 2000; 1782: 469-73.
17. Reinicke RK, Fonseca AH. First stage larvae per 25 ml (LI 15-1) calf faeces for the diagnosis of nematode parasites ante mortem. Pesquis. Agropecu. Bras Ser Vet 1992; 12: 43-4.
18. Rufener L, Kaminsky R, Maser P. In vitro selection of *Haemonchus contortus* for resistance reveals a mutation at amino acid 198 of  $\beta$ -tubulin. Mol Biochem Parasitol 2009; 168: 120-2.
19. Saleh MA. Circulating oxidative stress status in desert sheep naturally infected with *Fasciola hepatica*. Vet Parasitol 2008; 154: 262-9.
20. Scion Corp., 2007. Available from: <http://www.scioncorp.com>
21. Šibalić S, Cvetković Lj. Parazitske bolesti domaćih životinja, Fakultet veterinarske medicine, Beograd, 1996.

22. Yoshida M, Takakuwa Y. Method for the simultaneous assay of initial velocities of lactate dehydrogenase isoenzymes following gel electrophoresis. J Biochem Biophys Met 1997; 34: 167-75

ENGLISH

**INFECTION OF SHEEP WITH *Strongyloides papillosus* – THE EFFECT OF INTENSITY OF PARASITIC INFECTION AS WELL AS THERAPY WITH ALBENDAZOLE ON CERTAIN BIOCHEMICAL PARAMETERS IN THE BLOOD OF SHEEP**

**Dimitrijević B., Jović S., Jezdimirović Milanka, Bacić M., Savić Mila, Jezdimirović N., Vegara M.**

The objective of this work was to investigate certain biochemical parameters in the blood of sheep in conditions of different intensity of parasitic infection with *Strongyloides papillosus*, and also after the therapy with albendazole. The research was carried out on the sheep of Wurtemberg breed (n = 30) in which there was determined low, medium and high intensity of parasitic infection with *S. papillosus*. The control group (n = 10) consisted of the sheep that were negative to the presence of the parasitic infection. The degree and type of changes were monitored by determining the concentration of glucose, total protein, albumin, Albumin/Globulin ratio, AST, urea, total bilirubin, calcium, phosphorus, lactate dehydrogenase (LDH) total activity and isoenzyme distribution LDH1-5. On the basis of the obtained results it was concluded, through isoenzyme distribution of lactate dehydrogenase, that parasitic infection with *S. papillosus* can cause damage to the liver, heart muscle and lungs, while after the therapy with albendazole the most affected organ is the liver. The concentration of glucose, total protein and albumin linearly decreased with the increase of intensity of the parasitic infection ( $p < 0,05$ ), and after the therapy with albendazole, a drop in concentration of these parameters was at a statistically significantly higher level ( $p < 0,01$ ). AST activity as well as the concentration of urea and total bilirubin grew linearly along with the intensity of the parasitic infection ( $p < 0,05$ ). After the therapy with ABZ, AST activity and concentration of total bilirubin were at a statistically significantly higher level ( $p < 0,001$ ), while urea concentration kept the same level as in the case of the parasitic infection. The values of calcium concentration ( $p > 0,05$ ) as well as phosphorus ( $p < 0,05$ ) linearly decreased with the parasitic infection intensity growth. Trend towards the decline of the concentration of these macroelements continues even after the therapy with albendazole ( $p < 0,001$ ). Considering our previous research in the field of oxidative stress, a phenomenon that is fundamentally related to the changes determined in this work, we strongly recommend that besides antihelmintics, preparations with antioxidative properties should be used in antiparasitic protocols as well.

**Key words:** *Strongyloides papillosus*, albendazole, biochemical parameters, liver, sheep



**ЗАРАЖЕНИЕ ОВЕЦ *Strongyloides papillosus* – ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ПАРАЗИТАРНОГО ЗАРАЖЕНИЯ И ТЕРАПИИ АЛЬБЕНДАЗОЛОМ НА ОПРЕДЕЛЕННЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ КРОВИ ОВЕЦ**

**Б. Димитриевич, С. Йович, Миланка Йездимирович, Д. Баич, Мила Савич, Н. Йездимирович, М. Вегара**

Целью данной работы является изучение определенных биохимических параметров крови овец в условиях различной интенсивности заражения *Strongyloides papillosus*, а также после терапии альбендазолом. Исследование проводилось на овцах вюртембергской породы ( $n = 30$ ), у которых была отмечена низкая, средняя и высокая интенсивность паразитарного заражения *S. papillosus*. Контрольную группу ( $n = 10$ ) составляли овцы, у которых отсутствовало паразитарное заражение. Степень и вид изменений, связанных с показателями концентрации глюкозы, общего белка, альбумина, альбумино-глобулинового соотношения, АСТ, мочевины, общего билирубина, кальция, фосфора, общей активности лактатдегидрогеназы (LDH) и изотонического распределения LDH1-5.

На основе полученных результатов через изотоническое распределение лактатдегидрогеназы мы установили, что при развитии паразитарной инфекции *S. papillosus* происходит поражение клеток печени, сердечной мышцы и легких, а после терапии альбендазолом чаще всего отмечаются поражения печени. Концентрация глюкозы, общего белка и альбумина линейно сокращается по мере роста интенсивности паразитарной инфекции ( $p < 0,05$ ), а после терапии альбендазолом снижение концентрации по этим параметрам было на статистически значительно более высоком уровне ( $p < 0,001$ ). Активность АСТ, концентрация мочевины и общего билирубина также линейно увеличивались с ростом интенсивности паразитарной инфекции ( $p < 0,05$ ). После терапии АБЗ активность АСТ и концентрация общего билирубина были на статистически более высоком уровне, ( $p < 0,001$ ), а концентрация мочевины оставалась на том же уровне, что и в случае паразитарного заражения. Значения концентрации кальция ( $p > 0,05$ ) и фосфора ( $p < 0,05$ ) также линейно снижались с ростом интенсивности паразитарного заражения. Тенденция снижения концентрации этих микроэлементов продолжается и после терапии альбендазолом ( $p < 0,001$ ). Учитывая, что наши предыдущие исследования проводились на тему окислительного стресса, феномена, который лежит в основе изменений, установленных в рамках данного исследования, мы настоятельно рекомендуем, чтобы в рамках противопаразитарного лечения кроме глистогонных средств применялись препараты с антиоксидантными свойствами.

**Ключевые слова:** *Strongyloides papillosus*, альбендазол, биохимические параметры, печень, овцы