

TAVŞANLARDA DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN KADMIYUM TOKSİKASYONU ÜZERİNE PATOLOJİK İNCELEMELER

Gülçin ÖZTÜRK¹ Fethi YILMAZ² Harun ÖZER³

¹Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Elazığ-TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi, Sivrice Meslek Yüksek Okulu, Elazığ-TÜRKİYE

³Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 16.06.1998

Pathological Examination of Experimentally-Induced Cadmium Toxication in Rabbits

SUMMARY

Cadmium used for metal compounds, batteries and pigments has varied toxicological effects in organisms. It also causes cancer via the affinity to nucleic acids and inhibition of some enzymes. Therefore, we decided to examine of pathological effects of cadmium that is a toxicological and very important metal for public health. In this study, 24 rabbits were used, 18 of them were allocated to experimental group and subcutaneous, daily cadmium (Cd) 2 mg/kg administration was made during six weeks period. Four of the rabbits out of 18 died were necropsied and tissue samples collected. Periodically a total of 4 rabbits ,3 from experimental group, including the dead ones, and 1 from control group were sacrificed and necropsied at the end of each week. In macroscopy there were hepatic enlargement, necrotic foci and serous exudate in abdominal cavity notably in the last weeks. In the microscopic examination degeneration and necrose in hepatocytes, perivascular mononuclear cell infiltration and bile duct proliferation were observed in liver. Degeneration, necrose and desquamation in the epithelium of convoluted tubules were seen. In brain, neuronal degeneration and necrose were also recorded. In addition, sever hypereamia and haemorrhage in liver and kidneys, Ca deposition in degenerative tubulus in kidney were observed in dead rabbits.

Key words: Cadmium, Rabbit, Experimental Toxication, Pathology.

ÖZET

Metal alaşımları halinde pillerin, plastik maddelerin ve pigmentlerin yapısına giren kadmiyum (Cd) organizmada pek çok toksikolojik etkiye sahiptir. Enzim inhibisyonuna yol açan ve nükleik asitlere olan affinitelerinden dolayı kanser sebebi de olabilen Cd'un çevre sağlığı açısından önemi düşünülerek, patolojik etkileri deneysel çalışma oluşturularak incelendi. Çalışmada, 24 tavşan kullanıldı ve deneme grubunu oluşturan 18 tavşana, 6 hafta süresiyle her gün 2 mg/kg dozda subkutan yolla kadmiyum verildi. Çalışma süresince deneme grubundan 4 tavşanın öldüğü görüldü. Ölen tavşanların nekropsileri yapılarak doku örnekleri alındı. Periyodik olarak her haftanın sonunda, ölenler de dahil olmak üzere deneme grubundan 3 ve kontrol grubundan 1'er tavşanın, kesilerek nekropsileri yapıldı. Makroskobik olarak karaciğerde büyüme, nekrotik odaklar ve asites dikkati çekti. Mikroskobik muayenede ise karaciğerde hepatositlerde dejenerasyon, nekroz, perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu, safra kanal proliferasyonu gibi bulgular deneme süresince farklı zamanlarda gelişen bulgular olarak kaydedildi. Böbreklerde ise; tubulus epitellerinde dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyon, ilerleyen günlerde ölen tavşanlarda tubuluslarda kalsiyum birikimlerinin şekillendiği, beyinde nöron dejenerasyonu ve nekrozun geliştiği görüldü. Ölen tavşanlarda bu lezyonlara ilaveten karaciğer ve böbreklerde hiperemi ve hemorajinin, sağ kalanlara oranla daha şiddetli olduğu dikkati çekti.

Anahtar Kelimeler: Kadmiyum, Tavşan, Deneysel Toksikasyon, Patoloji.

GİRİŞ

Bugün için yaygın bir şekilde kullanılan metal alaşımları ve pigmentlerinin yapısına giren kadmiyum (Cd), toksikolojik yönden kurşun ve civa ile yakın ilişkisi olan bir metaldir. Ondokuzuncu yüzyıl başlarından itibaren varlığı bilinmesine rağmen, çevre, insan ve hayvan sağlığı açısından oluşturduğu zehirlenme sakıncaları, artan endüstrileşme ile birlikte son 10-15 yılda açıklığa kavuşturulmuştur (1,2,20). Özellikle nikel-kadmiyum alaşımı halinde alkali piller ve plastik madde üretiminde geniş bir kullanım alanı bulan Cd, ayrıca galvaniz sanayi, Cd kaplamalı mutfak malzemeleri, amalgam ve lehim üretiminde önemli miktarda kullanılmaktadır(20).

Yiyecek maddelerinin içerdiği Cd, bitkisel ve hayvansal kaynaklı olmasına ve üretildiği bölgelere göre değişiklik göstermektedir. Ağızdan alınan Cd metali ve bileşikleri değişik hayvan türlerinde, % 0,5-12 oranlarında sindirim kanalından emilmektedir (20). Alınan Cd karaciğer, böbrek, dalak, ovaryum, kas, uterus ve testislerde birikme eğilimi gösterir (6,7,8,13,14,20). Kadmiyumun vücutta farklı fizyolojik etkinliğe sahip çok sayıda enzimin inhibisyonuna ve nükleik asitlere olan affinitelerinden dolayı kanserojen bir etkiye sahip olduğu da belirlenmiştir (12,20). Ayrıca Cd' un immunosupresif etkisinin yanı sıra kan parametreleri üzerine de etkisi bildirilmektedir (3,11,19).

Yapılan çalışmalarda Cd' un, karaciğerde nekroz, fibrosis ve hücre infiltrasyonlarına, böbreklerde proksimal konvolüt tubulus epitellerinde dejenerasyon, nekroz (4,11) ve nefrokalsinozis sebebiyet verdiği (5) ortaya konulmuştur. Ayrıca kemiklerde osteomalasi, osteopetrozis ve osteosklerozis oluşumu (10,21), testislerde spermatogonia ve spermatositlerde nekroz, tubuluslarda atrofi, ödem ve hiperemi (16) şeklinde lezyonlar bildirilmektedir.

Gelişen teknoloji ile birlikte artan çevre kirliliği diğer metallerin yanı sıra Cd' un çevre sağlığı açısından önemini ortaya koymaktadır. Özellikle altyapısız bir sanayileşmenin hüküm sürdüğü ülkemizde bu konu daha da önem kazanmaktadır. Bu itibarla yapılan bu deneysel çalışma ile Cd' un sebep olduğu patolojik değişimler ortaya konulmak suretiyle bu alanda yapılacak sahaya yönelik araştırmalara ışık tutması ve altyapı oluşturması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada 18'i deneme, 6'sı kontrol olmak üzere 24 tavşan kullanıldı. Bu tavşanlar ortalama 2,5 kg ağırlığında ve 6-8 aylık yaşta olup, Elazığ Veteriner Kontrol

ve Araştırma Enstitüsü deney hayvanları ünitesinden temin edildi. Çalışmada cinsiyet ayırımı gözetilmedi.

Cd kaynağı olarak Kadmiyum klorid ($CdCl_2 \cdot 2H_2O$ (Merck)) kullanıldı.

Tavşanlara 6 hafta süreyle her gün subkutan (s.c.) yolla 2 mg/kg/gün hesabı ile her tavşana 5mg/ ml dozda Cd verildi. Kontrol grubu tavşanlara ise aynı yolla 1 ml/gün/tavşan olacak şekilde fizyolojik tuzlu su inokule edildi. Çalışma süresince deney grubundan ölen tavşanlar da dahil olmak üzere, her hafta deney grubundan 3. kontrol grubundan 1 adet tavşan kesilerek doku örnekleri alındı. Nekropsileri yapılan tavşanlardan başta karaciğer ve böbrek olmak üzere beyin, dalak, akciğer, kalp, bağırsak ve testis veya ovaryumlardan doku örnekleri alınarak tamponlu nötral formalinde tespit edildi. Parafin bloklar ve dondurma kesitler hazırlandı, parafin bloklar 5µm'a ayarlı mikrotomda kesilerek Hematoxylin-Eosin (H E) ile boyandı. Ayrıca böbrek kesitlerine Van Kossa boyası ve karaciğerden cryotomda 15-20 µm kalınlığında alınan dondurma kesitlerine ise Oil Red O boyası (15) uygulandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

BULGULAR

Makroskobik Bulgular: Deney süresi olan 6 haftalık periyod boyunca deneme grubuna ait toplam 4 adet tavşanda ölüm görüldü. Meydana gelen ölümler çalışmanın 6., 14., 24. ve 26. günlerindeydi.

Ölen ve haftalık periyotlarla kesilerek nekropsileri yapılan tavşanlarda ise 7. günde karaciğerin koyu kırmızı renkte kanlı bir görünüm aldığı görüldü. Çalışmanın 14.gününde karaciğerde büyüme ve asites tablosu dikkati çekti. Karaciğerde, 21. ve 28.günlerde yukarıdaki bulgulara ilaveten küçük nekrotik odaklar ve hafif yağlanma görüldü. Otuzbeşinci ve 42. günlerde yapılan nekropsilerde ise belirgin bir asites tablosu ile karaciğerin kesit yüzünde sertleşme belirlendi.

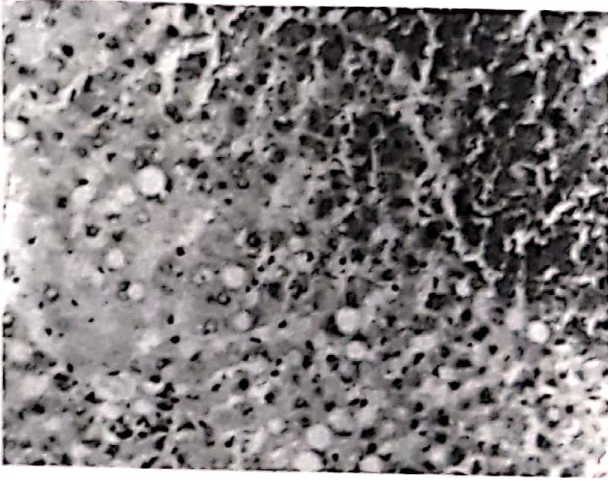
Mikroskobik Bulgular:

1. Hafta (7.gün): Ölen tavşanda karaciğerde sinüzoidal dilatasyon ve hemoraji, hepatositlerde hafif parankin ve yağ dejenerasyon saptandı. Kesilerek nekropsisi yapılan tavşanlarda ise karaciğerde benzer bulgulara ilaveten böbreklerde hiperemi, hemoraji ve tubulus epitellerinde dejenerasyon dikkati çekti.

2. Hafta (14.gün): Ölen tavşanda karaciğerde belirgin bir sinüzoidal dilatasyon ve hemoraji, hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz, böbreklerde hiperemi ve intersitisyel hemoraji gözlemlendi. Deneme

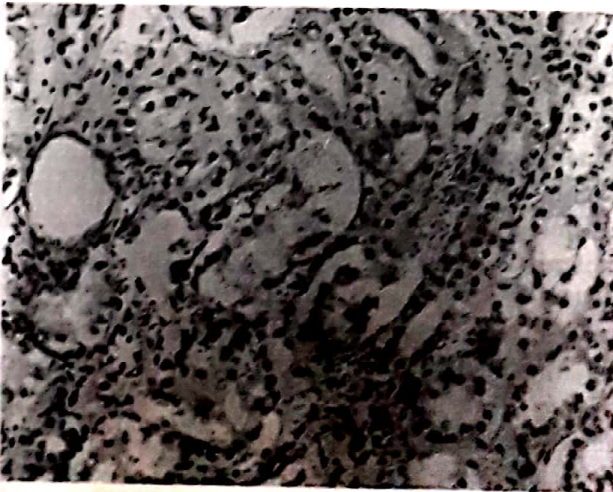
grubunun diğer tavşanlarında ise benzer bulguların daha hafif seyrettiği ancak karaciğerde perivasküler ve böbreklerde intersitisyel bölgelerde hücre infiltrasyonlarının varlığı saptandı.

3. Hafta (21.gün): Kesilerek nekropsileri yapılan deneme grubu tavşanlarda karaciğerde sözü edilen bulgulara ilaveten safra kanallarında proliferasyonun başladığı, hepatositlerdeki dejenerasyon ve nekrozun daha belirgin olduğu gözlemlendi (Şekil-1).



Şekil 1. Karaciğer. Hepatositlerde dejenerasyon, nekroz, sinuzoidal dilatasyon ve hemoraji. H.E.X 66 (Deneme grubu, 3. hafta)

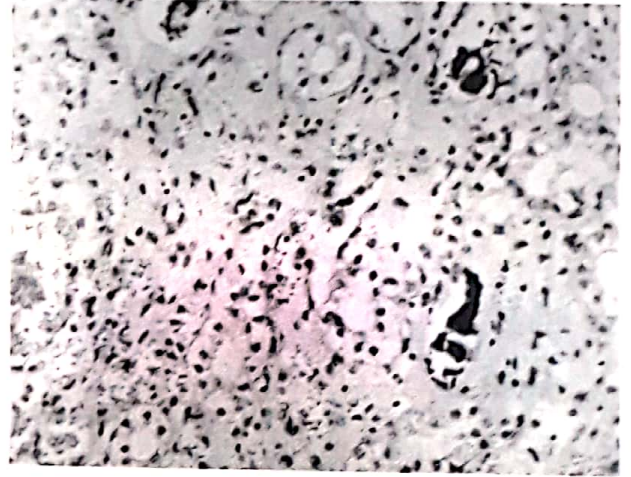
Böbreklerde tubulus epitelinde dejenerasyon, nekroz, deskumasyon ve intersitisyel hemoraji dikkati çekti (Şekil-2).



Şekil 2. Böbrek. Tubulus epitelinde dejenerasyon, nekroz, deskumasyon ve intersitisyel hemoraji. H.E.X 66 (Deneme grubu, 3. hafta)

4. Hafta (28.gün): Ölen 2 adet tavşanda saptanan mikroskopik bulguların benzerlik gösterdiği, bu

lezyonların karaciğerde dejenerasyon, nekroz, perivasküler hücre infiltrasyonları ve hafif bağ doku üremesi şeklinde geliştiği, böbreklerde ise tubulus epitelinde dejenerasyon ve nekroz yanında tubuluslar içerisinde amorf, mavimtrak bir kitle bulunduğu ve Van Kossa boyama ile bunun kalsiyum kristallerinden ibaret olduğu saptandı (Şekil-3).

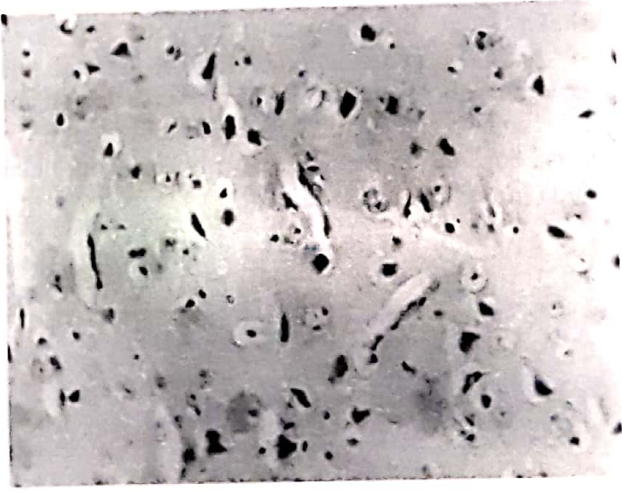


Şekil 3. Böbrek. Tubulus epitelinde dejenerasyon, nekroz ve tubulus lumeninde amorf kitle. H.E.X 66 (Deneme grubu, 4. hafta)

Kesilerek nekropsiyeye alınan tavşanda ise karaciğerde gözlenen bulgulara ilaveten belirgin bir safra kanal proliferasyonu ve bağ doku artışı ile birlikte hepatositlerde megalositozis ve kupffer hücre aktivasyonu tesbit edildi. Böbreklerde ilave bulgu olarak bağ doku artışının belirgin olduğu (Şekil-4), beynin korteksinde perivasküler ve perinöronal ödem yanında nöron dejenerasyonu ve nekrozun şekillenmeye başladığı ilk kez bu süre içerisinde gözlemlendi (Şekil-5).



Şekil 4. Böbrek. Korteksde şiddetli fibrozis. H.E.X 66 (Deneme grubu, 4. hafta)



Şekil 5. Beyin. Kortekste perivasküler ve perinöronal ödem, nöronal dejenerasyon ve nekroz. H.E.X 66 (Deneme grubu, 4. hafta)

5. ve 6. Haftalar (35. ve 42.günler): Yukarıda ifade edilen tüm mikroskobik bulguların daha belirgin olduğu görüldü.

İncelemeye alınan deneme grubu tavşanların diğer organlarında ve kontrol grubu tavşanlarda makroskobik ve mikroskobik olarak dikkati çekici herhangi bir bulgu görülmedi.

TARTIŞMA

Genel bir ifade ile kadmiyumun akut toksik dozunun 10 mg/kg'dan daha az olduğu bildirilmektedir. Farklı yoğunluklarda Cd ile kirlenmiş atmosfer, su ve besinlerin alınması sonucu bir insanın günlük ortalama 40-100 mg arasında Cd alabileceği düşünüldüğünde (20), Cd' un çevre sağlığı açısından ne kadar önemli olduğu ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple Cd' un değişik kaynaklardaki varlığı, miktarı ve canlılar üzerine olan etkileri birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir (1,2,6,7,8,11,17,19). Bu çalışmada söz konusu literatür bilgileri ışığında, bir insanın maruz kalabileceği Cd miktarına yakın doz olan 2 mg/kg/gün kullanılarak, dozun tamamının alınabilmesi için s.c. uygulama seçilmiştir. Bu sahada yapılan deneysel çalışmalar genellikle fare ve ratlar üzerine olup, tavşanlarda şekillenebilecek lezyonların incelenebilmesi amacıyla bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

Ratlarda yapılan bir çalışmada (18) 20 µMol/kg s.c. tek doz Cd uygulaması sonucu %53 oranında ölüm görüldüğü ifade edilmektedir. Bir başka çalışmada (10) ise, 2 mg/kg/gün i.v. Cd verilen ratların makroskobik muayenesinde 13.haftada karaciğerde fibrosis ve böb-

reklerde eskar odaklarının varlığı bildirilmiştir. Ovariectomi yapılarak 3 mg/kg/gün i.v. Cd verilen ratlarda ise 14.günde dalak, karaciğer ve böbreklerde belirgin büyümeden söz edilmektedir (11). Bu çalışmada ise uygulamanın 26. gününe kadar ölüm meydana geldiği, makroskobik bulguların söz konusu çalışmalarda da karşılaşıldığı şekilde karaciğer ve böbreklerde lokalize olduğu, karaciğerde 14. günden itibaren belirgin büyüklük farkının şekillendiği, ayrıca asitesin dikkati çekici bir boyuta ulaştığı gözlemlendi.

Fare ve ratlara 1,2 ve 4 mg/kg s.c. veya i.v. yolla Cd verilmesiyle oluşturulan toksikasyonda 2mg/kg verilen grupta son uygulamadan 24 saat sonra hepatositlerde dejenerasyon ve fokal lenfosit infiltrasyonu bildirilmiştir (12). Ovariectomi yapılan ratlara 2-3 mg/kg i.v. yolla 14 gün süre ile Cd uygulaması sonucu 3. günde 3 mg/kg Cd verilen grupta karaciğerde fokal dejenerasyon ve nekroz görülmüş olup uygulamanın sonunda tüm ratlarda aynı tablonun şekillendiği kaydedilmiştir (11). Balıklara 96 saat boyunca 5-35 mg/l Cd uygulaması sonucu hepatositlerde dejenerasyon (19), koyunlara yemle Cd verilmesi sonucu ise nekroz şekillendiği bildirilmiştir (9). Bu çalışmada ise: 1.haftadan itibaren karaciğerde saptanan hepatositlerdeki dejenerasyon ve nekrozun çalışmanın sonuna kadar seyrettiği, son haftalara doğru (4.hafta) bağ doku üremesi, perivasküler hücre infiltrasyonları ve safra kanal proliferasyonu geliştiği saptanmış olup bu bulguların 14 gün boyunca s.c. Cd uygulaması yapılan ratların karaciğerinde de görüldüğünden söz edilmektedir (4).

Yine ovariectomi yapılan ratların böbreklerinde de proksimal konvolüt tubulus epitellerinde atrofi ve vakuolizasyondan ibaret mikroskobik değişimlerin 14.günde şekillendiği (11), bir başka çalışmada (4) böbreklerin proksimal konvolüt tubulus epitellerinde dejenerasyon ve nekroz şekillendiği ifade edilmiştir. Ratlara 2 mg/kg Cd verilerek 13 hafta boyunca yapılan incelemeler sonucu proksimal konvolüt tubulus epitellerinde şekillenen vakuolizasyon ve nekrozun son haftalara doğru giderek şiddetlendiği vurgulanmıştır (10). Çalışmamızda böbreklerde mikroskobik değişimlerin 1.haftadan itibaren şekillenmeye başladığı, son haftalara doğru giderek şiddetlendiği ve bağ doku gelişiminin şekillendiği gözlemlendi. Ayrıca böbreklerde belirgin bir hiperemi ve hemoraji dikkati çekici bir bulgu olarak kaydedildi.

Kadmiyumun testisler üzerindeki kronik etkileri araştırılmış olup tubuluslarda atrofi, ödem ve intersitisyumda hiperemi, spermatogonia ve spermatisitlerde nekroz bildirilmiştir (16). Ayrıca kadmiyumun farklı doku ve organlarda şekillendirdiği

lezyonların yanı sıra beyin ve beyincik hasarına da yol açabildiğinden söz edilmektedir (20). Bu çalışmada ise; testislerde herhangi bir bulguya rastlanmazken beyinde 4.haftadan itibaren korteksde dejeneratif değişimlerin şekillenmeye başladığı dikkati çekmiştir.

Sonuç olarak Türkiye'de tavşanlarda ilk kez gerçekleştirilen bu deneysel çalışma ile Cd

toksikasyonunda oluşabilecek patolojik değişimler ortaya konulmuş olup bunlara ilaveten, yapılacak çalışmalarda Cd'un fizyolojik ve biyokimyasal kan parametreleri üzerine olan etkilerinin de araştırılmasının faydalı olacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Bires J and Vrzgula L. Wool as an indicator of sheep exposure to Cu, Fe, Zn, Mo, As, Pb, Cd and Se from the industrial emission source. *Ekologia-CSSR*. 1990; 9(4):419-428.
2. Bires J, Vrzgula L and Juhasova Z. Distributions of toxic chemical elements in the body of sheep after experimental administration of industrial emission. *Vet. Medicina*. 1991;36(6): 361-371.
3. Blakley BR. The effects of Cadmium Chloride on the immune response in mice. *Can.J. Comp. Med.* 1985; 49(1): 104-108.
4. Chan HM, Zhu LF, Zhong R, Grant D, Goyer RA and Cherian G. Nephrotoxicity in rats following liver transplantation from cadmium-exposed rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1993; 123 (1): 89-96.
5. Dzuvic A, Halsband E and Romestand B. Long-term effect of cadmium and calcium on the blood picture of trout with reference to pathological changes in internal organs. *Veternarski Glasnik*. 1986; 40 (4): 273-283.
6. Falandysz J and Lorenc-Biala H. Metals in muscles, liver and kidney of slaughter animals from Northern Poland in 1986. *Bromatologia i. Chemia Toksykologiczna*. 1989; 22(1): 19-22.
7. Falandysz J, Lorenc-Biala H and Centkowska D. Metals in muscles, livers and kidneys of slaughter animals from Northern Poland in 1985. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*. 1989;40(4-6): 279-283.
8. Falandysz J. Manganese, copper, zinc, iron, cadmium, mercury and lead in muscle meat, liver and kidneys of poultry, rabbit and sheep slaughtered in the Northern Part of Poland, 1987. *Food Additives and Contaminants*. 1991; 8(1): 71-83.
9. Heffron CL, Reid JT, Elfving D C, Stoewsand G S, Haschek WM, Telfrod JN, Furr AK, Parkinson TF, Bache CA, Gutenmann WH, Wszolek PC and Lisk DJ. Cadmium and zinc in growing sheep feed silage corn grown on municipal sludge amended soil. *J. Agri. Food Chem.* 1980; 28(1): 58-61.
10. Katsuta O, Hiratsuka H, Matsumoto J, Iwata H, Toyota N, Tsuchitani M, Umemura T and Marumo F. Cadmium-induced osteomalacic and osteopetrotic lesions in ovariectomized rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1991; 126(1): 58-68.
11. Katsuta O, Hiratsuka H, Matsumoto J, Tsuchitani M, Umemura T and Marumo F. Ovariectomy enhances cadmium-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1993; 119(2): 287-274.
12. Kayama F, Yoshida T, Elwell M R and Luster M I. Role of tumor necrosis factor - α in cadmium induced hepatotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1995; 131(2): 224-234.
13. Langgemach T, Deutrich V and Metz R. Search for heavy metals in wild animals from farmer sewage irrigation fields. *Tierarztliche-Umschau*. 1995; 50(7):480,485-490.
14. Massanyi P, Toman R, Uhrin V and Renon P. Distribution of Cd in selected organs of rabbits after an acute and chronic administration. *Italian J. Food Sci.* 1995; 7(3): 311-316.
15. Mc Manus JFA and Mowry RW. Staining Methods Histologic and Histochemical. Paul. B. Hoeber Inc. 1960.
16. Saygı Ş, Deniz G, Kutsal O and Vural N. Chronic effects of cadmium on kidney, liver, testis and fertility of male rats. *Biol. Trace. Element. Res.* 1991; 31: 209-214.
17. Servi K ve Kara H. Tavşanlarda kadmiyumun doku dağılımı üzerine bazı şelat yapıcı maddelerin etkisi. *F. Ü. Sağ. Bil. Derg.* 1996; 10 (2): 325-333.
18. Shiraishi N, Barter R A, Uno H and Waalkes MP. Effect of progesterone pretreatment on cadmium toxicity in the male fischer (F344/NCr) rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1993; 118: 113-118.

19. Sovenyi J and Szakolczai J. Studies on the toxic and immunosuppressive effects of cadmium on the Common carp. *Acta Vet. Hungarica*. 1993; 41(3-4): 415-426.
20. Şanlı Y. Metaller ve Diğer İnorganik Maddeler, Kaya S, Şanlı Y, Pirinççi İ, Yavuz H, Baydan E, Demet Ö, Bilgili A, Editörler, *Veteriner Klinik Toksikoloji*, 2.baskı , Medisan Yayınevi ,Ankara, 1995, 87-90.
21. Yoshiki S, Yanagisawa T, Kimura M, Otaki N, Susuki M and Suda T. Bone and kidney lesions in experimental cadmium intoxication. *Archives Environ. Health*. 1975; 30(11): 559-562.