

FARELERDE DENEYSEL OLARAK OLUŞTURULAN KADMIYUM TOKSİKASYONUNUN PATOLOJİK YÖNDEN İNCELENMESİ

Fethi YILMAZ¹ Gülçin ÖZTÜRK² Harun ÖZER³

¹Fırat Üniversitesi Sivrice Meslek Yüksekokulu, Elazığ-TÜRKİYE

²Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Elazığ- TÜRKİYE

³Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ- TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 22.07.1997

Pathological Examination of Experimentally-Induced Cadmium Toxication in Mice

SUMMARY

In this study, white mice, allocated to two experimental groups and one control group. Cadmium (Cd) were given daily with drinking water during 6 weeks at the doses of 2.5 mg/kg and 5 mg/kg for each experimental group. Four mice from each of experimental group and two mice from control group were necropsied at the beginning of second week and tissue samples were taken for macroscopic and microscopic examinations. In macroscopy, there were enlargement, congestion and necrotic foci in the liver in experimental groups. In addition, congestion and hemorrhage were observed in kidney. In the microscopic examination, sinusoidal dilatation, degeneration and necrose were seen in the liver. There were degeneration of convoluted tube epithelium in the kidneys and neuronal degeneration in the brain. These changes were observed to occur earlier and to be more severe in the group which was given Cd at dose of 5mg/kg.

Key words: Cadmium, Mouse, Experimental Toxication, Histopathology.

ÖZET

Bu çalışmada, beyaz fareler iki deneme ve bir kontrol olmak üzere üç gruba ayrıldı. Farelere, 2,5 mg/kg ve 5 mg/kg dozda iki farklı grup halinde 6 hafta boyunca içme suları ile kadmiyum (Cd) verildi. İkinci haftadan itibaren deneme gruplarından dörder, kontrol grubundan ikişer fare alınarak nekropsileri yapıldı ve doku örnekleri alındı. Makroskobik ve mikroskobik değişimler incelendi. Makroskobik olarak deneme gruplarındaki farelerde karaciğerde hafif büyüme ve hiperemi ile kapsülada küçük nekrotik odaklar, böbreklerde ise hafif hiperemi, korteksde yer yer hemoraji dikkati çekti. Mikroskobik olarak karaciğerde sinuzoidal dilatasyon, hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz, böbreklerin proksimal konvolüt tüp epitellerinde dejenerasyon, nekroz ve beyinde nöronal dejenerasyon görüldü. Söz konusu bu değişikliklerin 5 mg/kg dozda Cd verilen grupta daha erken başladığı ve daha şiddetli olduğu dikkati çekti.

Anahtar Kelimeler: Kadmiyum, Fare, Deneysel Toksikasyon, Histopatoloji.

GİRİŞ

Gerek su, gerekse yiyeceklerle alınan kadmiyum (Cd) öncelikle karaciğerde birikmekte ve düşük moleküler ağırlığa sahip metal bağlayan bir protein olan metalothionein (MT) sentezine yol açarak hepatotoksik, ayrıca Cd-MT bileşiğinin kan dolaşımına katılmasıyla da nefrotoksik etki gösterir (2, 16). Karaciğer ve böbrek hasarı akut ya da kronik Cd uygu-

lamasını takiben şekillenebilir. Kadmiyumun karaciğerde hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz ile birlikte nekrotik bölgelerde nötrofil ve makrofaj infiltrasyonlarına (7), böbreklerde proksimal tubulus epitellerinde nekroza yol açtığı (2) bildirilmektedir.

Sülfhidril gruplarına ilgi gösteren Cd metalinin bir çok enzimin inhibisyonuna yol açtığı, demir ile olan

kompetitif reaksiyon sonucu demir eksikliğine bağlı anemiye ve düşük miktarlarda alındığında damarlarda vazokonstriktif, yüksek miktarlarda alındığında ise vazodilatator etkiye neden olduğu, bu nedenle hipertansiyona yol açtığı bildirilmektedir. Ayrıca Cd'un pankreasın beta hücrelerinin sekresyonunu azaltması sonucu hiperglisemiye ve özellikle yeni doğanlarda beyin hasarına sebep olduğu, nükleik asitlere karşı affinitesi sonucu da kanserojen bir etkiye sahip olduğu kaydedilmektedir (5, 6, 7, 16). Kadmiyumun birçok bileşiminin yanı sıra özellikle kadmiyum oksit ve kadmiyum kloridin daha toksik olduğu bilinmekte olup, genellikle yapılan deneysel çalışmalarda kadmiyum kloridin kullanıldığı görülmektedir (1,2,5,7,16).

Tavşanlarda, Cd' un akut ve kronik toksikasyonu üzerine yapılan bir çalışmada (10), en yüksek Cd konsantrasyonuna 1,5mg/kg i.p. uygulamadan 48 saat sonra karaciğerde, 1mg/kg' lık 5 ay süreli oral uygulama sonunda ise böbreklerde rastlanmıştır. Tavşanlarda Cd'un doku dağılımı üzerine yapılan bir başka çalışmada (13), akut toksikasyonda karaciğer Cd yoğunluğunun yüksek, böbrek yoğunluğunun ise düşük olduğu kaydedilmiştir. Fareler üzerine yapılan bir çalışmada (11) ise 50 ve 100 mg/ml dozda içme suyu ile verilen Cd' un daha ziyade böbreklerde akümüle olduğu, ayrıca farelerde düşük dozlarda immunosupresif etkiye de sahip olduğu bildirilmektedir (1). Ratlarda 10mg/lt (10 ppm) dozda içme suyu ile verilen Cd' un böbreklerde yüksek düzeyde bulunduğu, karaciğer, böbrek ve testis hasarına yol açtığı ifade edilmektedir (12).

Gelişen sanayi ve teknoloji ile birlikte günlük hayatımıza nikel kadmiyum alaşımı halinde alkali piller, galvanoplasti, amalgam ve kadmiyum kaplamalı mutfak malzemeleri gibi pek çok şekillerde girebilen Cd metalinin, su ve yiyeceklerle kolaylıkla alınabileceği kaçınılmazdır. Bu itibarla farklı kirlenmeler dikkate alınarak farklı dozlarda Cd' un içme suyu ile farelere verilmesiyle dokularda oluşacak toksik etkilerin neler olabileceği amacıyla yönelik olarak bu çalışmanın yapılması planlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Fareler Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edildi. Çalışma iki deneme ve bir kontrol olmak üzere üç grup üzerinde gerçekleştirildi. Deneme gruplarında 20'şer adet, kontrol grubunda ise 10 adet olmak üzere toplam 50 fare kullanıldı. Gruplar yaklaşık olarak her biri 18-20 gram ağırlığında ve 30 günlük beyaz farelerden oluşturuldu. Fareler deney hayvanları ünitesinin ayrı bir bölmesinde ve her grup ayrı kafesler içerisinde normal bakım ve beslenme koşullarında tutuldu.

Cd kaynağı olarak Kadmiyum klorid ($CdCl_2 + 2H_2O$ (Merck)) kullanıldı

Farelerin günlük su tüketimlerinin 8-10 ml / fare olduğu saptanarak, deneme grubu farelere 6 hafta boyunca içme suları ile 1.gruba (Grup A) 2.5 mg / kg / gün hesabı ile 5 mg/lt, 2.gruba (Grup B) 5 mg / kg / gün hesabı ile 10 mg/lt dozda Cd verildi. Farelerin 18-20 g ağırlığında oldukları dikkate alınarak, 1.gruptaki her farenin toplam 0.05 mg / gün, 2.gruptaki her farenin ise 0.1 mg / gün dozda Cd alması sağlandı. Kontrol grubu farelere ise bu süre zarfında aynı bakım ve besleme koşullarında normal içme suyu verildi.

Uygulamayı takiben 14.günden itibaren her üç günde bir (14., 17., 21., 24., 27., 30., 33., 36., 39. ve 42. günlerde) deneme gruplarından 2'şer, kontrol grubundan ise 1'er adet olmak üzere yaklaşık 5 hafta boyunca toplam 50 fare eter ile ötanazi yapılarak nekropsiyeye alındı.

Usulüne uygun olarak nekropsileri yapılan farelerin başta karaciğer ve böbrek olmak üzere, beyin, dalak, kalp ve bağırsaklarından doku örnekleri alınarak % 10'luk tamponlu nötral formalinde tespit edildi. Parafin bloklar ve dondurma kesitleri hazırlandı, parafin bloklar 5µm'ye ayarlı mikrotomda kesilerek Hematoxylin-Eosin (H.E.), dondurma kesitleri ise cryostat mikrotomda 15-20 µm kalınlığında kesilerek Oil Red O ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi (9).

BULGULAR

Makroskopik Bulgular

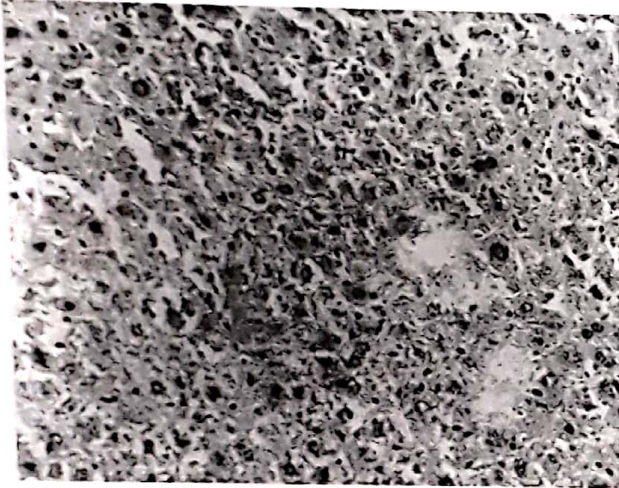
Grup A: İkinci haftada kontrol grubu ile bu gruptaki farelerin organlarının makroskopik görünümünde herhangi bir farklılığın olmadığı, 5. ve daha sonraki haftalarda patolojik değişimlerin oluşmaya başladığı, özellikle karaciğerde ve böbreklerde makroskopik değişimlerin şekillendiği gözlemlendi. Bu değişimlerin karaciğerde hafif büyüme ve hiperemi, böbreklerde ise korteksde hiperemi şeklinde olduğu saptandı. Diğer organlarda dikkati çekici bir bulguya rastlanmadı.

Grup B: Bu deneme grubunda ise makroskopik değişimlerin 4. haftadan itibaren şekillenmeye başladığı görüldü. Karaciğerde Grup A'daki bulgulara ilaveten 5.haftadan itibaren karaciğer kapsülüsünde grimsi beyaz, toplu iğne başı büyüklüğünde nekrotik odakların belirmeye başladığı, böbreklerde ise korteksde açık renkli odaklar ve yer yer hemoraji gözlemlendi. Diğer organlarda dikkati çekici makroskopik bir bulgu saptanmadı.

Kontrol grubu farelerde dikkati çekici herhangi bir makroskopik bulguya rastlanmadı.

Mikroskopik Bulgular

Grup A: İkinci haftadan itibaren mikroskopik değişimlerin oluşmaya başladığı görüldü. Karaciğerde hafif bir sinüzoidal dilatasyon ve hemoraji ile başlayan mikroskopik değişimlere 3.haftadan itibaren karaciğerde sentrilobuler dejenerasyon ve nekrozun (Şekil-1), 5.haftadan sonra ise hepatositlerde hafif bir megalositozis ile kupffer hücre aktivasyonlarının varlığı dikkati çekti.

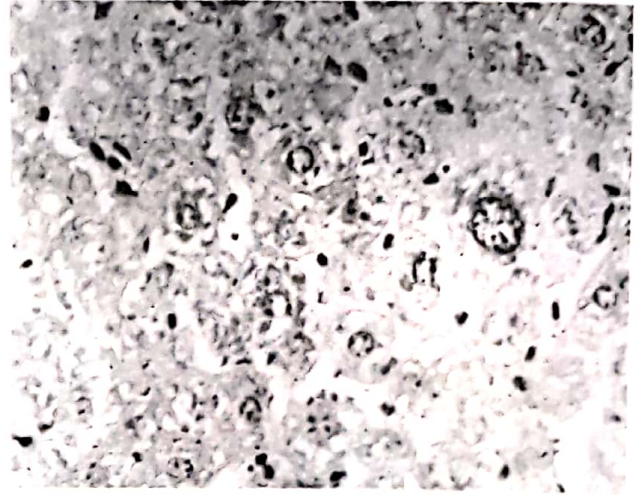


Şekil 1. Grup A (1.deneme grubu). Karaciğerde sinüzoidal dilatasyon, hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz, H. E. X 66.

Böbreklerde; hiperemi ve intersitisyel hemorajinin 5. haftadan sonra şekillenmeye başladığı ve yine son haftalara doğru bunlara ilaveten proksimal tubulus epitellerinde hafif dejenerasyon ve nekrozlar gözlemlendi.

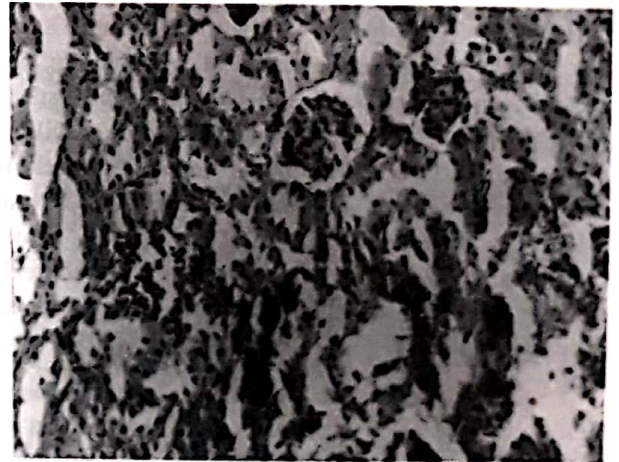
Beyinde Substansiya grizeada 6.haftada hafif bir nöron dejenerasyonu görüldü.

Grup B: Bu deneme grubunda mikroskopik değişikliklerin 2.haftadan itibaren şekillenmeye başladığı görüldü. Karaciğerde sinüzoidal dilatasyon, hemoraji ve bunlara ilaveten ilerleyen haftalarda sentrilobüler bölgedeki hepatositlerde gittikçe yaygınlaşan dejenerasyon ve nekroz, 4.haftadan itibaren de kupffer hücre aktivasyonu ile daha belirgin bir megalositozisin varlığı (Şekil-2) dikkati çekti.



Şekil 2. Grup B (2.deneme grubu). Karaciğerde kupffer hücre aktivasyonu ve hepatositlerde megalositozis. H. E. X 132.

Böbreklerde; 2.haftada başlayan mikroskopik değişimlerin yine giderek şiddetlendiği, hiperemi ve intersitisyel hemorajilerin 4. haftadan itibaren geliştiği, proksimal tubulus epitellerinde dejenerasyon, nekroz ve deskuamasyon (Şekil-3) şekillendiği gözlemlendi.



Şekil 3. Grup B (2.deneme grubu). Böbreklerin tubulus epitellerinde dejenerasyon, nekroz, deskuamasyon ve intersitisyel hemoraji. H. E. X 66.

Beyinde; yine bu grupta da son haftalara doğru Substansiya grizeada nöron dejenerasyonu ve nekroz (Şekil-4) saptandı. İncelenmeye alınan diğer organlarda her iki grupta da mikroskopik olarak herhangi bir bulguya rastlanılmadı.



Şekil 4. Grup B (2.deneme grubu). Beyinde nöronal dejenerasyon ve nekroz. H. E. X 66.

Kontrol grubundaki farelerin incelenen dokularında herhangi bir mikroskobik bulgu saptanmadı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yüksek derecede birikme özelliği gösteren Cd, emilimi takiben karaciğer, böbrek ve dalakta depolanır (16). Yapılan bir çalışmada (7) 4 gün boyunca parenteral yolla 2 mg/kg Cd verilen farelerin karaciğer Cd yoğunluğunun yaklaşık 71 µg/g olduğu, buna karşılık kontrol grubunda ise bu oranın yaklaşık 0.1 µg/g gibi oldukça düşük bir düzeyde olduğu bildirilmektedir. Cd'un toksik dozlarının bileşik şekline, verilme yoluna ve hayvan türlerine göre farklılık gösterdiği ifade edilmektedir (2,5,7,16). Yapılan çalışmalar Cd'un özellikle karaciğer ve böbrekler üzerine toksik etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır (3,4,8,14,17).

Kadmiyumun toksik etkilerinin araştırılmasıyla ilgili olarak yapılan çalışmalarda dikkati çekici bir makroskobik bulgudan bahsedilmemektedir. Ancak ratlarda yapılan bir çalışmada (6), karaciğerde fibrozis ve böbreklerin yüzeyinde fokal bağ doku odaklarının uzun süre (13 hafta) 2 mg/kg Cd verilen grupta şekillendiğinden söz edilmektedir. Bu çalışmada ise, özellikle yüksek dozda (5 mg/kg) Cd verilen grupta son haftalara doğru (4. ve 5. haftalar) karaciğerde nekrotik odaklar ve böbreklerde açık renkli alanlar makroskobik bulgular olarak saptandı. Bu durum, alınan Cd miktarı ve süreye bağlı olarak toksik etkinin devamlılığının sağlanmasıyla oluştuğu kanaatini uyandırmaktadır. Nitekim kadmiyum toksikasyonuna maruz bırakılan ratların karaciğerlerinin transplante

edildiği alıcı ratlarda karaciğer Cd yoğunluğunun giderek azalma gösterdiği bildirilmiştir (2).

Kadmiyumun hepatotoksik etkilerinin araştırılması amacıyla ratlarda yapılan bir çalışmada (5), 3 mg/kg i.v. yolla Cd verilen grupta 3.günde hepatositlerde nekroz şekillendiği, ilerleyen günlerde ise 2 mg/kg Cd verilen grupta da aynı bulguların oluştuğu saptanmıştır. Başka bir çalışmada (7) ise 1-2-4 mg/kg Cd'un s.c. veya i.v. enjeksiyonu ile fare ve ratlarda benzer bulguların şekillendiği, farelerde 4 gün boyunca 2 mg/kg ve yukarı dozlarda Cd verilen gruplarda ayrıca yangı hücresi infiltrasyonlarının görüldüğü bildirilmektedir. Ovariectomi yapılan ratlara 13 hafta boyunca haftada 5 kez 1-2 mg/kg Cd'un i.v. olarak verilmesiyle yapılan bir çalışmada (6) özellikle 2 mg/kg dozda Cd verilen grupta hepatositlerde nekroz yanında periportal hepatitisin şekillendiği tespit edilmiştir.

Bu çalışmada Cd'un oral yolla verilmesi dikkate alınarak doz parenteral uygulamalara oranla daha yüksek tutularak, bulguların doza bağlı olarak incelenebilmesi için 2.5 mg/kg ve 5 mg/kg dozda Cd verilen iki grup oluşturuldu. Genel olarak karaciğerdeki mikroskobik değişimlerin 2.haftadan itibaren şekillenmeye başladığı, dejenerasyon, nekroz ve kuppfer hücre aktivasyonunun yanısıra özellikle 5 mg/kg Cd verilen grupta daha belirgin bir megalositozis tablosunun varlığı dikkati çekti. Nitekim ratlara 3 mg/kg dozda Cd'un i.v. olarak verilmesiyle 3.günde (5), yine i.v. 2 mg/kg Cd verilen ratlarda 4. haftada (6) karaciğerde nekroz şekillendiği bildirilmektedir. Benzer bulguların oral yolla Cd verilmesiyle de oluştuğu, kuzulara silajla Cd verilerek yapılan bir çalışma ile ortaya konulmuştur (4).

Ratlara 13 hafta boyunca haftada 5 kez 2 mg/kg Cd verilmesiyle 13.haftada böbreklerin tubulus epitellerinde nekroz ve hipertrofi gözlenmiştir(6). İçme suları ile 10 mg/l Cd verilen ratlarda ise kortikal tubuluslarda kistik dilatasyon, epitellerinde vakuoler dejenerasyon ve glomeruluslarda atrofi saptanmıştır (12). Raşitizm dispozisyonu oluşturularak yapılan bir çalışmada (17) ise ağız yoluyla Cd verilen ratlarda osteosklerotik değişikliklerin yanısıra benzer böbrek lezyonlarının şekillendiği bildirilmiştir. Balıkların diyetlerine Cd katılarak yapılan çalışmalarda (3,15) distrofik değişimler bowman kapsülünde genişleme ve tubulus epitellerinde dejenerasyon ortaya konulmuştur. Söz konusu bulguların bu çalışmada 5 mg/kg Cd verilen grupta 2.haftadan itibaren 2.5 mg/kg dozda Cd verilen grupta ise 5.haftadan itibaren oluşmaya başladığı, ayrıca intersitisyel hemorajinin varlığı tespit edilmiştir.

Kadmiyumun pek çok doku ve organdaki toksik etkilerinin yanısıra beyin ve beyincikte de lezyon şekillendirdiği belirtilmektedir (16). Bu konu ile ilgili fazlaca bilgi elde edilmemekle beraber yapılan bu çalışmada her iki deneme grubunda çalışmanın sonlarına doğru beyinde korteksde hafif nöron dejenerasyonu ve nekrozun varlığı saptanmıştır.

Doğada kurşun ve çinko maden filizleri ile birleşmiş halde bulunan Cd, bu metalleri işleyen endüstri kuruluşlarının çevresinde sürekli bir kirlilik yaratmak-

tadır. Kadmiyum metalinin çeşitli endüstri dalları ve günlük hayatta artan tüketimi, insan ve evcil hayvanların çevresindeki Cd kirliliğinin de artmasına yol açmaktadır. Çalışmada oral yolla farklı dozlarda verilen Cd'un farelerde birtakım patolojik değişimler meydana getirdiği görülmüştür. Su sistemlerinin ortalama Cd yoğunluğunun 1 mg / lt olduğu ve günlük su tüketimi ile 1-25 mg Cd alınabileceği (16) düşünüldüğünde gerek insan ve gerekse hayvan sağlığı açısından konunun giderek artan bir öneme sahip olduğu anlaşılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Blakley BR. The Effect of Cadmium Chlorid on the Immun Response in Mice. *Can. J. Comp. Med.* 1985; 49: 104- 108.
2. Chan HM, Zhu LF, Zhong R et al. Nephrotoxicity in Rats Following Liver Transplantation from Cadmium- Exposed Rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1993; 123: 89-96.
3. Dzuviç A, Halsband E, Romestand B. Long-Term Effect of Cadmium and Calcium on the Blood Picture of Trout with Reference to Pathological Changes in Internal Organs. *Veterinarski Glasnik.* 1986; 40: 273-283.
4. Heffron CL, Reid JT, Elfving DC et al. Cadmium and Zinc in Growing Sheep Fed Silage Corn Grown on Municipal Sludge Amended Soil. *J. Agri. Food Chemist.* 1980; 28: 58- 61.
5. Katsuta O, Hiratsuka H, Matsumoto J et al. Ovariectomy Enhances Cadmium- Induced Nephrotoxicity and Hepatotoxicity in Rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1993; 119: 267- 274.
6. Katsuta O, Hiratsuka H, Matsumoto J et al. Cadmium Induced Osteomalacic and Osteopetrotic Lesions in Ovariectomized Rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1994; 126: 58- 68.
7. Kayama F, Yoshida T, Elwell MR et al. Role of Tumor Necrosis Factor - α in Cadmium Induced Hepatotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1995; 131: 224- 234.
8. Liu J, Liu Y, Klassen CB. The Effect of Chinese Hepatoprotective Medicines on Experimental Liver Injury in Mice. *J. Ethnopharmacol.* 1994; 42: 183-191.
9. Mc Manus JFA, Mowry RW. Staining Methods. *Histologic and Histochemical.* Poul B. Hoeber Inc. 1960.
10. Massanyi P, Toman R, Uhrin V et al. Distribution of Cadmium in Selected Organs of Rabbits After an Acute and Chronic Administration. *Italian J. Food Sci.* 1995; 7: 311- 316.
11. Ohta H, Seki Y , Imamiya S et al. Influence of Dietary Selenium (Se) on Chronic Cadmium (Cd) Toxicity in Mice. *TEMA-8 Proceeding of the Eight International Symposium on Trace Elements in Man and Animals.* 1993; 963-966.
12. Saygı Ş, Deniz G, Kutsal O et al. Chronic Effects of Cadmium on Kidney, Liver, Testis, and Fertility of Male Rats. *Biol. Trace Elements Res.* 1991; 31: 209- 214.
13. Servi K, Kara H. Tavşanlarda Kadmiyumun Doku Dağılımı Üzerine Bazı Şelat Yapıcı Maddelerin Etkisi. *F. Ü. Sağ. Bil. Derg.* 1996; 10: 325- 333.
14. Shiraishi N, Barter RA, Uno H et al. Effect of Progesteron Pretreatment on Cadmium Toxicity in the Male Fischer (F 344/NCr) Rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1993; 118: 113- 118.
15. Sovenyi J, Szakolczai J. Studies on the Toxic and Immunosuppressive Effects of Cadmium on the Common Carp. *Acta Vet. Hungarica.* 1993; 41: 415- 426.
16. Şanlı Y. Metaller ve Diğer İnorganik Maddeler. Kaya S, Şanlı Y, Piriñçi İ, Yavuz H, Baydan E, Demet Ö, Bilgili A, Editörler. *Veteriner Klinik Toksikoloji.* 2. Baskı. Ankara. Medisan Yayınevi. 1995; 87-90.
17. Yoshiki S, Yanagisawa T, Kimura M et al. Bone and Kidney Lesions in Experimental Cadmium Intoxication. *Archives Environmental Health.* 1975; 30: 559- 562.