

Porovnanie účinkov kadmia a niklu na semenník myši po perorálnom podávaní v potrave

Comparison of effects of cadmium and nickel on mouse testis after peroral administration in food

Toman, R., Massányi, P., Hluchý, S., Lukáč, N., Bábiková, L., Šiška, B.

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Robert.Toman@uniag.sk

Abstract

The aim of this study was to observe the changes in testis of mice after a long-term administration of nickel and cadmium in food in separate experiments and to compare these changes using the light microscopy methods. ICR mice aged 4 weeks were used in the experiment. Twenty males were treated with CdCl_2 at a daily dose $1 \text{ mgCd}^{2+} \cdot \text{kg}^{-1}$ b.w. in a standard pellet diet. The same number of males was given nickel (NiCl_2) in a daily dose of $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ body weight. Cadmium and nickel were applied directly onto the pellets as an aqueous solution. Males were sacrificed after 3, 6, 9 and 12 weeks of Cd and Ni intake. Twenty males served as an untreated control and were killed in the number of five males at the same periods like the cadmium and nickel-treated animals. Histological observations of the changes in the testes were realized.

Histopathological examination of the testis structures revealed degeneration of the seminiferous epithelium after 9 and 12 weeks of Cd administration. The vacuolization of the epithelium and degeneration of the spermatogonia after 9 weeks of Cd daily intake were apparent. Pyknosis and necrosis of the evacuated germinative cells takes place in the testes. These changes were more evident after 12 weeks of Cd administration. Similar changes were observed in nickel-treated mice. However, on the contrary of the cadmium-treated males, the seminiferous epithelium was damaged on the periphery of the testes already after 3 weeks of nickel intake in food. Germ cells were evacuated from the epithelium. The increase in the number of interstitial cells at the periphery of testis was observed. The more visible changes were observed after 6 weeks of Ni exposure. The epithelium was very low. Some tubules were filled with the mass of cells. Normal tubules with spermatogenesis in the centre of the testis were observed. After 9 weeks of the experiment, the germinal epithelium with disintegrated cells was completely detached from the basal membrane. Mass of dead cells in the lumen of some tubules was also observed. After 12 weeks of nickel administration, the changes in testes were similar to those in the previous periods. However, we observed the higher amount of blood capillaries in the interstitium subjectively.

The results of this study indicate that low doses of cadmium and nickel cause similar changes in the testes after peroral intake with some differences in the range of the changes and time of appearing of the first signs of spermatogenesis damage.

Úvod

Kadmium a nikel je častým elementom priemyselného znečistenia. Nikel sa považuje za jeden z najvýznamnejších kontaminantov prostredia a EPA (Environmental Protection Agency) ho zaraďuje medzi 14 najškodlivejších ťažkých kovov. Kadmium pôsobí

toxicky a karcinogénne na ľudí aj zvieratá. Kadmium prejavuje selektívny toxický účinok na krvné cievy semenníkov a hlavy prisemenníkov (Aoki a Hoffer, 1978). Hemoragia a edém semenníka po podaní kadmia sú práve dôsledkom zvýšenej priepustnosti ciev v gonádach už po 12 hodinách. Semenníky majú jedinečný charakter cievneho zásobovania krvou, ktoré robí tento orgán obzvlášť zraniteľný účinkom chemikálií. Tieto charakteristiky zahŕňajú: relatívne nízky prítok krvi v porovnaní s príjmom kyslíka, obmedzenosť zásobovania intersticiálneho tkaniva semenníka krvou a obmedzenú lymfatickú podporu, avaskularitu semenotvorných kanálikov, ktoré tvoria približne 80 % tkaniva semenníka, jedinečnú vaskulárnu architektúru, ktorá je vytvorená z intersticiálnej kapilárnej siete, stočenú semenníkovú tepnu a taktiež stočenú sieť žíl. Poškodenie týchto štruktúr vedie k hemoragiám a nekrózám semenotvorných kanálikov (Bonda et al., 2004).

Toxicita niklu sa zisťuje v rôznych orgánoch a systémoch. Významné sú účinky na pohlavný systém samcov i samíc. Pandley et al. (1999) zistili okrem poškodenia semenníkov aj histopatologické zmeny v prisemenníkoch a mechúrikovitej žľaze. Perorálne podávanie sulfátu niklu spôsobilo aj poškodenie morfológie spermíí. V semenníkoch dochádza po perorálnom podávaní Ni k zmenšeniu semenotvorných kanálikov a znížil sa počet spermatogónií (Kakela et al., 1999). Aplikáciou NiCl_2 samcom potkanov došlo k zmenám niektorých testikulárnych enzýmov, ktoré sa podieľajú na metabolizme xenobiotík. 16 hodín po jednorazovej intraperitoneálnej dávke $59,5 \text{ mg NiCl}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ sa však nezistili žiadne patologické zmeny na úrovni mikroskopických štruktúr semenníka (Iscan et al., 2002). Nikel vplýva negatívne na produkciu testosterónu (Forgacs et al., 2001; Das a Dasgupta, 2002)

Negatívne pôsobenie Cd a Ni na samčí pohlavný systém sú najmä v prípade kadmia dobre známe a popísané. Menej prác však študovalo ich účinky v prirodzenej potrave pokusných zvierat. Cieľom práce bolo zistiť prípadné histopatologické zmeny tkanív semenníkov myši v priebehu dlhodobého podávania Cd a Ni v potrave v samostatných experimentoch a porovnať rozsah zmien na úrovni svetelnej mikroskopie.

Materiál a metodika

V experimente sa použili samci myši ICR vo veku 4 týždne po 5 ks v každej skupine. Pokusným skupinám na zistenie účinkov kadmia sa podával roztok CdCl_2 v dennej dávke $1 \text{ mg Cd}^{2+} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž.h. aplikovaný na granule krmiva počas 3, 6, 9 a 12 týždňov. Nikel sa podával ďalším 4 pokusným skupinám vo forme NiCl_2 v dennej dávke $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž.h. Roztok NiCl_2 sa rovnako aplikoval priamo na krmne granule počas 3, 6, 9 a 12 týždňov. Po uplynutí príslušného obdobia podávania kovu sa samci bezbolestne usmrtili a odobrali sa vzorky semenníkov na histologické spracovanie. Svetelným mikroskopom Nikon sa skúmali histologické zmeny v semenníkoch samcov po podávaní niklu a kadmia, ktoré sa porovnávali navzájom, ako aj s mikroskopickým obrazom kontrolných zvierat.

Výsledky a diskusia

Po 9 týždňoch podávania Cd semenotvorný epitel vykazoval známky vakuolizácie. Zárodočné bunky odumierali a uvoľňovali sa od Sertolihových buniek, ktoré lemovali kanáliky. Po 12 týždňoch boli zmeny v semenníku rozsiahlejšie. V lúmene semenotvorných kanálikov sa nachádzali značné množstvá degenerovaných spermíí

a zárodočných buniek, ktoré pochádzali z odlúpnutého semenotvorného epitelu. Haffor a Abou-Tarboush (2004) pozorovali podobné zmeny v semenníkoch myši na úrovni elektrónovej mikroskopie po podaní rovnakej dávky ako v našom pokuse už po 4 týždňoch. V našich predchádzajúcich experimentoch s králikmi sme pozorovali poškodenie semenotvorného epitelu po 5 mesiacoch podávania kadmia (Toman et al., 2002).

Viditeľné zmeny v semenníku po podaní niklu však nastali podstatne skôr. Už po 3 týždňoch podávania Ni v potrave sme zistili poškodenie semenotvorného epitelu na periférii semenníka. Zárodočné bunky degenerovali a vypadávali zo zárodočného epitelu. V periférnej časti semenníka sme pozorovali zmnoženie väzivových buniek v intersticiu. Po 6 týždňoch boli zmeny výraznejšie. Zárodočné bunky sa odlupovali od bazálnej membrány kanálikov a nekrotizovali. Epitel bol veľmi nízky. Niektoré kanáliky boli vyplnené masou buniek. V centre semenníka boli kanáliky normálne s prebiehajúcou spermatogenezou. Kakela et al. (1999) zistili scvrknutie kanálikov v centre semenníka po 28 dňoch podávania Ni v dávke 30 mg.l^{-1} . V kanálikoch pozorovali poškodenie bazálnych spermatogónií, čo je v zhode s našimi výsledkami. Na rozdiel od našich výsledkov, nepozorovali poškodenie periférnych kanálikov. Po 9 týždňoch pokusu sme pozorovali úplne oddelený zárodočný epitel od bazálnej membrány s rozpadajúcimi sa bunkami. V niektorých kanálikoch sa v lúmene nachádzala masa rozpadnutých buniek. Po 12 týždňoch boli zmeny podobné ako v predchádzajúcom období. Subjektívne sme však pozorovali vyššie množstvo krvných kapilár v intersticiu. Iscan et al. (2002) po podaní niklu v jednorazovej dávke nezistili žiadne zmeny v semenníku. Zistili však, že kombinácia Cd a Ni nemá synergistický účinok, ale Ni znižuje účinky kadmia v semenníkoch. Výsledky našich experimentov ukázali, že účinok Cd a Ni po perorálnom podávaní relatívne nízkych dávok má podobné účinky na štruktúru semenníka. Je však potrebné preskúmať mechanizmus pôsobenia niklu v semenníku.

Súhrn

Cieľom práce bolo sledovať zmeny v semenníku myši po dlhodobom podávaní niklu a kadmia v potrave v samostatných experimentoch a porovnať tieto zmeny na úrovni svetelnej mikroskopie. V pokuse sa použili myši ICR vo veku 4 týždne. 20 samcov prijímalo CdCl_2 v dennej dávke $1 \text{ mgCd}^{2+} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž.h. a rovnaký počet samcov prijímal NiCl_2 v dennej dávke 10 mg.kg^{-1} ž.h. Cd a Ni sa aplikovalo vo vodnom roztoku na granule zmesi pre hlodavce. Po 3, 6, 9 a 12 týždňoch sa samci utratili. 20 samcov slúžilo ako kontrola a boli utatení po 5 ks v rovnakom období ako pokusné zvieratá. Po odobratí vzoriek sa vykonala histologická analýza semenníkov pokusných a kontrolných samcov.

Histopatologická analýza semenníkov ukázala degeneráciu semenotvorného epitelu po 9 a 12 týždňoch podávania Cd. V semenníkoch nastala vakuolizácia semenotvorného epitelu a degenerácia spermatogónií po 9 týždňoch. V semenníkoch došlo k pyknóze a nekróze evakuovaných zárodočných buniek. Tieto zmeny boli výraznejšie po 12 týždňoch podávania Cd. Podobné zmeny sme pozorovali po podávaní niklu. Na rozdiel od skupiny s podávaním Cd, semenotvorný epitel bol poškodený na periférii semenníkov už po 3 týždňoch podávania Ni. Zárodočné bunky boli evakuované z epitelu. Na periférii semenníka sme pozorovali väčší počet intersticiálnych buniek. Viditeľnejšie zmeny sme pozorovali po 6 týždňoch podávania Ni. Epitel bo veľmi

nízky. Niektoré kanáliky boli vyplnené masou buniek. V centre semenníka sa vyskytovali normálne kanáliky s prebiehajúcou spermatogenezou. Po 9 týždňoch pokusu sa zárodočný epitel s rozpadnutými bunkami úplne oddelil od bazálnej membrány kanálikov. V lúmene niektorých kanálikov sme pozorovali masu odumretých buniek. Po 12 týždňoch podávania Ni boli zmeny v semenníku podobné ako v predchádzajúcich obdobiach. Pozorovali sme však vyšší počet krvných kapilár v interstíciu v porovnaní s predchádzajúcimi obdobiami.

Výsledky práce ukazujú, že nízke dávky kadmia a niklu spôsobujú podobné zmeny v semenníkoch po perorálnom prijímaní s určitými odlišnosťami v rozsahu a čase objavenia sa prvých znakov poškodenia spermatogenézy.

Literatúra

- AOKI, A., HOFFER, A.P., (1978): *Biol. Reprod.*, 18, 579-591.
BONDA, E., WLOSTOWSKI, T., KRASOWSKA, A., (2004): *Biometals*, 17, 615-624.
DAS, K.K., DASGUPTA, S., (2002): *Environ. Health Perspect.*, 110, 923-926.
FORGACS, Z., NEMETHY, Z., REVESZ, C., (2001): *J. Toxicol. Environ. Health A*, 62, 349-358.
HAFFOR, A.S., ABOU-TARBOUSH, F.M., (2004): *J. Environ. Biol.*, 25, 251-258.
ISCAN, M., ADA, A.O., COBAN, T. et al., (2002): *Biol. Trace Elem. Res.*, 89, 177-190.
KAKELA, R., KAKELA, A., HYVARINEN, H., (1999): *Comp. Biochem. Physiol. C*, 123, 27-37.
PANDLEY, R., KUMAR, R., SINGH, S.P. et al., (1999): *Biometals*, 12, 339-346.
TOMAN, R., MASSÁNYI, P., UHRÍN, V. (2002): *Trace Elem. Electroly.*, 19, 114-117.

Práca bola podporená projektom VEGA 1/0592/03 a 1/2417/05.