Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

RADOVI XCI, knj. 30.

Rezaković, Džemal

2002

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/items/bd15ed37-b36d-4fde-9b5a-2482564851dc

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

ISSN 1512-8245



AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA XCI

Odjeljenje medicinskih nauka

Knjiga 30

Centar za medicinska istraživanja

Knjiga 1

Redakcioni odbor

Jela Grujić-Vasić, Faruk Konjhodžić, Slobodan Loga

Urednik

Džemal Rezaković
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

SARAJEVO 2002

Djelovanje zearalenona na timus štakora: svjetlosno-mikroskopske i imunohistohemijske promjene

Ivan Selak[1)], Mirsad Dorić [1)]

Uvod

Mikotoksin zearalenon (F-2), produkt je različitih vrsta gljivica roda Fusarija. On je nesteroidni mikotoksin sa estrogen-sličnim djelovanjem, koje je 80-160 puta slabije u poređenju s estrogenom, čija je tumor-promocijska aktivnost dokazana slično estrogen-induciranoj proliferaciji i karcinogenozi u estrogen-zavisnom tkivu humanog endometrija. Izolirane i u tkivu dojke u područjima sa bolesti endemskog povećanja grudi. Osim estrogenog djelovanja pokazuje i anaboličku aktivnost.

Općenito je aktivnost zearalenona posredovana estrogenim receptorima u konačnom ciljnom tkivu, kao i kod estradiola, te je i većina dosadašnjih istraživanja bila usmjerena prema estrogen ovisnim tkivima. Malo je radova koji izvještavaju o efektima zearalenona na limfoidno tkivo. Većina dosadašnjih zapažanja upućuje na poremećaje parametara periferne krvi raznih, uglavnom životinjskih vrsta. Ove promjene kod svinja koincidiraju sa porastom albuminskog nivoa, padom nivoa alfa-globulina, te opštim porastom u albuminsko/globulinskom odnosu, saobrazno nivou kontaminacije.

U toku eksperimentalnog trovanja štakora zearalenonom u našem materijalu, utvrđene su promjene na slezini u obliku hiperemije, ekstravazacije eritrocita, umnožavanje vezivnog tkiva i nestajanje limfocita, što kod visokih doza protrahiranog djelovanja konačno rezultira uznapredovalom fibrozom i nestankom bijele puple. Efekti ovakvog djelovanja upućuju na mogućnost djelovanja i na druge limfoidne organe što bi rezultiralo imunosupresijom.

Prema podacima iz 1979. godine zearalenon kod glodara uzrokuje pad imunološkog odgovora, uključujući i alergijski. Isti izvori ukazuju na povećanje težine timusa, što se tumači endokrinim efektima.

Timus je primarni limfoidni organ odgovoran za celularni imunitet, u kome sazrijevaju T limfociti i odatle odlaze na periferiju (krv, limfoidni

[1)] Institut za patologiju Medicinskog fakulteta u Sarajevu

organi, limfa) i postaju subpopulacija cirkulirajućih induktorskih ili citotoksično/supresorskih T stanica. Induktorski T limfociti potrebni su da bi B-limfociti i drugi T-limfociti ili makrofazi mogli u potpunosti reagirati na antigen. Supresorski T-limfociti suprimiraju reakciju B-limfocita i drugih T-limfocita na antigen. Citotoksični T-limfociti mogu ubiti druge (najčešće tumorske) stanice.(5)

Ovim eksperimentom se žele ispitati efekti pretpostavljene imunosupresije zearalenona na pojedine stanice imunokompetentnog sustava timusa.

Materijal i metode

Za eksperiment ćemo koristiti 44 štakora Wistar pasmine, istog legla, oba spola, spolno zrele, prosječne težine 200gr, (5-10%) dobrog zdravstvenog stanja, (36 tretiranih, 6 kontrolnih i 2 intaktna).

U pokusu će biti korišten toksin zearalenon, visokog stepena čistoće, poznatog (američkog) proizvođača i čije je LD 50 16 gr/kg tjelesne težine za štakore.

U toku eksperimenta koji će trajati 30 dana, svakodnevno će se vršiti aplikacija miko-toksina u otopini suncokretovog ulja, u dozama 0,5 mg/kg, 2 mg/kg i 4 mg/kg tjelesne težine, ili pak samo suncokretovo ulje (kontrolna skupina), putem gastrične sonde u tačno određeno vrijeme (24 satni ciklus).

Svaka od ove tri grupe biće podijeljena u tri podgrupe označene rimskim brojevima a koje će predstavljati vrijeme aplikacije toksina (I=10 dana, II=20 dana, III= 30 dana).

Svakih deset dana žrtvovat će se četrnaest štakora (12 tretiranih i 2 kontrolna - po 7 mužijaka i ženki). Žrtvovanje će se vršiti u eterskoj narkozi. Nakon seciranja uzet će se uzorci tkiva timusa.

Uzorci za svjetlosnu mikroskopiju primarno će biti obrađeni standardnom tehnologijom i bojeni sa hematoksilin-eozinom (H. E.). Mikroskopski pregled bit će fokusiran na sljedeće aspekte:

Arhitekturalnost. Malim uvećanjem bit će observirana arhitekturalnost, koja načelno može biti režnjevita (lobulirana) ili trakasta (girlande).

Prisustvo limfoidnih stanica će se semikvantitativno graduirati kao odsutne ili prisutne u niskoj ili visokoj gustoći. Naročita pažnja će biti usmjerena na identifikaciju plazma-stanica.

Epitelni parenhim, diferenciran na kortikalni i medularni. Sa velikim povećanjem pratit će se diferencijacija normalnih stanica timusa i eventualno prisustvo novoformiranih Hassall-ovih tjelašaca, te moguća keratinizacija ili mikrocistična degeneracija sa akumulacijom staničnog debrisa, infiltracja limfocitima, pjenušavim makrofagima ili eozinofilima. Eventualna "rosettlike"

organizacija epitela, njegova perivaskularna distribucija ili pak hijalinizacija krvnih žila bit će zabilježeni.

Limfociti će biti fenotipizirani upotrebom anti-T staničnih reagenata: (CD5, pan-T marker), (CD8, supresor/citotoksični fenotip), (CD4, pomoćničko/induktorski fenotip), (CDl, prisutan u limfocitima timusnog korteksa, Langerhansovim stanicama i interdigitirajućim retikularnim stanicama).(6)

Upotreba drugih markera kao i specijalnih histohemijskih metoda zavisiće od rezultata svjetlosno-mikroskopske i imunohistohemijeske obrade.

Očekivani rezultati

Mikotoksin zearalenon nalazi se u širokom spektru životnih namirnica u različitim koncentracijama, koje obično ne izazivaju klinički manifestne simptome (računa se da je približno 20% hrane kontaminirano) (1) te bi se već manje ili više dobro poznatim efektima na estrogen-ovisna tkiva mogli pridodati efekti imunosupresije. Dokažu li se kvantitativne ili kvalitativne promjene u nekoj subpopulaciji T limfocita indirektno će se dovesti u vezu prisustvo estrogenih receptora, a time eventualno i pokrenuti cijeli niz pitanja vezanih za djelovanje estrogena na imunološki sistem organizma.

Efekti imunosupresije hipotetski mogli bi biti konsekvenca:

1) Porasta broja supresorskih T limfocita,
2) Pada broja induktorskih T limfocita,
3) Rezultat nekog drugog mehanizma koji nije vezan niti za jednu od pobrojanih.

ANU BiH АНУ БиХ

Literatura

1. **Abrmson D., Milles J. T. Marpuardt R. R. et al:** *Mycotoxins in fungal contaminated samples of animal feed from western Canada, 1982-1994.* CanJ. Vet, Res. 1997, Jan., 61 (1) 49-52.
2. **Atkinson HA, Miller K:** *Inhibitory effect ofdeoxynivalenol, 3 acetyldeoxynivalenol and zearalenone on induction of rat and human lymphocyte proliferation.* Toxicol. Lett 1984; Nov; 23 (2): 215-21.
3. **Babić Lj., Dorić M., Ožegović L. et al:** *Djelovanje zearalenona na štitnu žlijezdu štakora, 1999.* Acta Veterinaria, rad u štampi.
4. **Babić Lj., Ožegović L., Dorić M. et al:** *Djelovanje mikotoksina zearalenona na slezenu štakora, 1999.* Acta Veterinaria, rad u štampi.
5. **Dekaris D.:** *Temeljna alergologija.* Zagreb, Školska knjiga, 1988, 6-13.

6. **Henk-Jan S, Willy J. A. K, Roel B.:** *The thymus in acquired immunodeficiency syndrome.* Amer Journ of Pathol., 1989, June, 134 (6) 1329-38.
7. **Huković S.:** *Neuromišićna transmisija i uticaj mikotoksina.* Simpozij o mikotoksinima, Zbronik radova, Sarajevo 1982; 101-108.
8. **Kimbrough T. D., Weekley LB.:** *Effects of trichothecene mycotoxins on the ex vivo vascular smooth muscule responses to beta-adrenergic agonists.* Toxicol Lett 1994 Feb 1; 70 (2): 165-70.
9. **Kuiper-Goodman T., Scott PM., Watanabe H.:** *Risk assessment of the mycotoxin zearalenone.* Regul Toxicol Pharmacol 1987, Sep, 7 (3): 253-306.
10. **Long G. G., Diekman, M. A.:** *Characterization of effects of zearalenone in swine during early pregnancy.* Am. J. Vet. Res., 1986; 47: 184-187.
11. **Lončarević A., Jovanović MJ., Šamanc H. et all.:** *Uticaj zearalenon (F-2) mikotoksina na proteinemiju, frakcije bjelančevina, aminokiselinski azot i koloido-osmotski pritisak bjelančevina krvnog seruma prasadi.* Simpozij o mikotoksinima, Zbornik radova, Sarajevo 1982; 87-99.
12. **Maaroufi K., Chekir L., Creppy E. E., et all:** *Zearalenone induces modifications of haematological and biochemical parameters in rats.* Toxicon 1996 may, 34 (5)535-40.
13. **S. Ožegović L, Pepeljnjak S:** *Mikotoksikoze.* Zagreb: Školska knjiga, 1995; 115-124.
14. **Rotter B. A. Jhompson B. K., Lessard M.:** *Influence of low-level exposure to Fusarium mycotoxins on selected imunologocal and hematological parametersin young swine.* Fundam Appl Toxicol 1994; Vol 23, ISS 1; 117-124.
15. **Ruh M. F., Bi Y., Cox L., et al:** *Effect of environmental estrogens on IL-1 beta promoter activity in a macrophage ćeli line.* Endocrine 1998 Oct; 9 (2) 207-11.
16. **Tomaszewski J., Miturski R., Semczuk et al.:** *Tissue zeralenone concetration in normal, hyperplastic and neoplastic human endometrium.* Ginekologia Polska, May 1998, 69 (5) 36S6.
17. **Ueno Y.:** *The toxicology of mycotoxins.* CRC Critical Reviews in Toxicology. 1988, 14: 99-113.
18. **Zhang Y,. Zhu S,. Tong W.:** *lsolation of fusarium and extration of toxin from buckwheat grown in an area with "endemic breast enlargement" disease.* Chinese Journal of preventive Medicine, sep, 1995; 29 (5) 273-5.