Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

Četvrti simpozijum o mikotoksinima, Sarajevo, 14 juni 1991

Ožegović, Ladislav (urednik)

1996.

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/handle/123456789/824

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI
BOSNE I HERCEGOVINE

SPECIJALNA IZDANJA
VOL. CIII

Odjeljenje medicinskih nauka
Vol. 17

ČETVRTI SIMPOZIJUM O MIKOTOKSINIMA

(Sarajevo, 14 Juni 1991)

Redakcioni odbor
Seid Huković, Ladislav Ožegović, Džemal Rezaković

Glavni urednik
Ladislav Ožegović
Redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

SARAJEVO 1996

DJELOVANJE ZEARALENONA NA ADREN ŠTAKORA – HISTOLOŠKE PROMJENE

LJERKA BABIĆ, JOJIN IVETIĆ, LADISLAV OŽEGOVIĆ, NEJRA BAJRAMOVIĆ

Veterinarski fakultet, Sarajevo

Apstrakt. Zearalenon je per os (intabacijom) apliciran mladim štakorima u dozama od 1,3 i 5 mg/kg. Štakori su bili eutanazirani 7, 14, 21. i 28. dana nakon aplikacije zearalenona, adreni fiksirani i histološki pretraženi. Histološke promjene su utvrđene u dane 21 i 28 sa dozom od 3 mg/kg i u dane 7, 14, 21 i 28 sa dozom od 5 mg/kg. Promjene su uočene na krvnim žilama i sinusoidama (ektazije, krvarenja, edemi), a nakon tih i na stanicama (vakuolizacija) pojedinih zona kore i u manjoj mjeri medule adrena. Pretpostavlja se da su ovi efekti na krvnim žilama i sinusoidama poznati iz prirodnog toka estrogenizma - zearalenone toksikoze u svinja i prasadi napose, poseban efekat toksina i da nisu povezani uz njegove estrogene aktivnosti.

Utvrđeni su efekti djelovanja zearalenona, mikotoksina estrogena na reproduktivne organe, kao i količine i trajanje aplikacije toksina koje dovode do poremećaja, od lažnog estrusa do steriliteta (Mirocha i sar. 1977). S obzirom na slično djelovanje estradiola, istaknuta je hipoteza o mogućem kancerogenom djelovanju zearalenona u ljudi koji na određenim područjima uživaju hranu kontaminiranu zearalenonom. Naša istraživanja o djelovanju zearalenona na prostatu i sjemene kesice (v. seminales) štakora proširila su ta istraživanja o mogućnosti djelovanja zearalenona na ostale organe (Babić i sar. 1989, 1990). Jedini podatak o djelovanju zearalenona na ostale organe iznose Lončarević i sar. (1982) o promjenama u krvi prasadi (sa vulvovaginitisom), koja su dijaplacentarno i putem kolostruma dobijala (transformirani) zearalenon, koji se nalazio u hrani krmača hranjenih kontaminiranim kukuruzom.

Činilo nam se važnim i potrebnim obratiti pažnju o djelovanju zearalenona na ostale organe u štakora trovanih zearalenonom, jer građa i metabolizam ovog toksina upućuju da bi, osim "ciljnih" organa, direktno ili indirektno mogli biti uključeni i drugi organi. Na to posebno upućuju rezultati istraživanja o djelovanju zearalenona na adeno-hipofizno-hipotalamičnom području (Drugociu i sar.,

1977; Bilcea i sar. 1979). U ovom radu se objavljuju rezultati o djelovanju zearalenona na adren štakora.

MATERIJAL I METODE RADA

Istraživanja su vršena na štakorima starim 2 mjeseca, tjelesne mase cca 375 grama. Životinje su hranjene standardnom peletiranom hranom, vodu uzimale ad libitum, a zearalenone^{+} su dobijale intubacijom direktno u želudac. Zearalenon je bio otopljen u suncokretovom ulju, te je za pojedine doze u ispitivanju određena potrebna koncentracija, što se vidi iz tabele 1.

Tabela 1. PRIKAZ SKUPINA ŠTAKORA, DOZA ZEARALENONA I TRAJANJA POKUSA

Skupina	Doza	Trajanje pokusa u danima	n štakora
A	1 mg/kg	7-14-21-28	20
B	3 mg/kg	7-14-21-28	20
C	5 mg/kg	7-14-21-28	20
K	0	7-14-21-28	10

Svakih 7 dana od početka davanja toksina formirane skupne su eutanazirane eterskom anestezijom, zatim obducirane, uzeti su organi i pretraženi histološki metodom hematoksilin-eozin. Od svake skupine je uzeto 5 x 5 rezova adrena, kao i od kontrolnih štakora.

REZULTATI I DISKUSIJA

Mikroskopskim pregledom patohistološke slike preparata adrenalne žlijezde štakora tretiranih zearalenonom, u poređenju sa kontrolnom skupinom, ustanovili smo:

-*SKUPINA A (1 mg/kg tjelesne mase):* U preparatima uzetim nakon 7, 14, 21. i 28. dana od davanja zearalenona nisu uočene promjene, osim na kapilarima, koje su ektatične i skoro prazne u svim područjima žlijezde:

-*SKUPINA B (3 mg/kg tjelesne mase): 7. i 14. dana* od davanja zearalenona patohistološka slika ne pokazuje posebne promjene, osim što su periglandularne kapilare ektatične, kao i kapilare medule, gdje se mjestimično uočavaju i ekstravazati.

U preparatima životinja koje su zearalenon primale *21 dan* u tkivu kapsule su uočljivi veći hematomi sa hemoliziranim eritrocitima. U prve dvije zone kore

nema uočljivih promjena, dok se u zoni retikularis (na nekim mjestima) pojavljuju krvni ekstravazati, koji se pružaju prema središtu medularnog dijela, čija mikrovaskulatrura manifestira fenomene hiperemije.

U preparatima životinja koje su zearalenon dobijale *28 dana* stanice zone glomeruloze su svjetlije, a subkapsularno se javljaju slabiji ekstravazati. Kod stanica zone fascikulate počinje jača vakuolizacija citoplazme, pa zona dobija pjenušav izgled. Sinusoidne kapilare svih zona kore su hiperemične. Na prijelazu zone retikularis u medulu često se vide obimniji krvni ekstravazati koji ulaze u periferni dio medule. Eritrociti u tim ekstravazatima su većinom aglutinirani. U meduli, osim jake hipermije, javlja se i incipijentni intercelularni edem.

SKUPINA C (5 mg/kg tjelesne mase): Kod životinja koje su dobijale zearalenon *7 dana* ustanovljena je umjerena hipermija periglandularnog masnog tkiva i ostalog veziva kapsule. Na pojedinim mjestima počev od kapsule pa sve do medule adrena zapaženi su ekstravazati eritrocita u formi tačaka koje se jasno razabiru. Zona glomeruloza je negdje jače, a negdje slabije razvijena, što smo primijetili kod svih pregledanih preparata, pa i kontrolnih životinja. Redukcija ove zone ponegdje ide do njenog nestanka.

Stanice zone fascikulate su pravilno poredane u nizove. Citoplazma ovih stanica je vakuolizirana, naročito u perifernim područjima zone, što odgovara slici ove zone u kontrolnih životinja ali su vidljive i stanice sa znatnom vakuolizacijom, od čega stanica izgleda kao okrugla i ovoidna svijetla vakuola.

Sinusoidne kapilare ovih dviju zona kore pokazuju diskretnu hiperemiju. Zona retikularis ne pokazuje znatnijih promjena, osim jake kongestije kapilara, i to naročito u području bližem meduli.

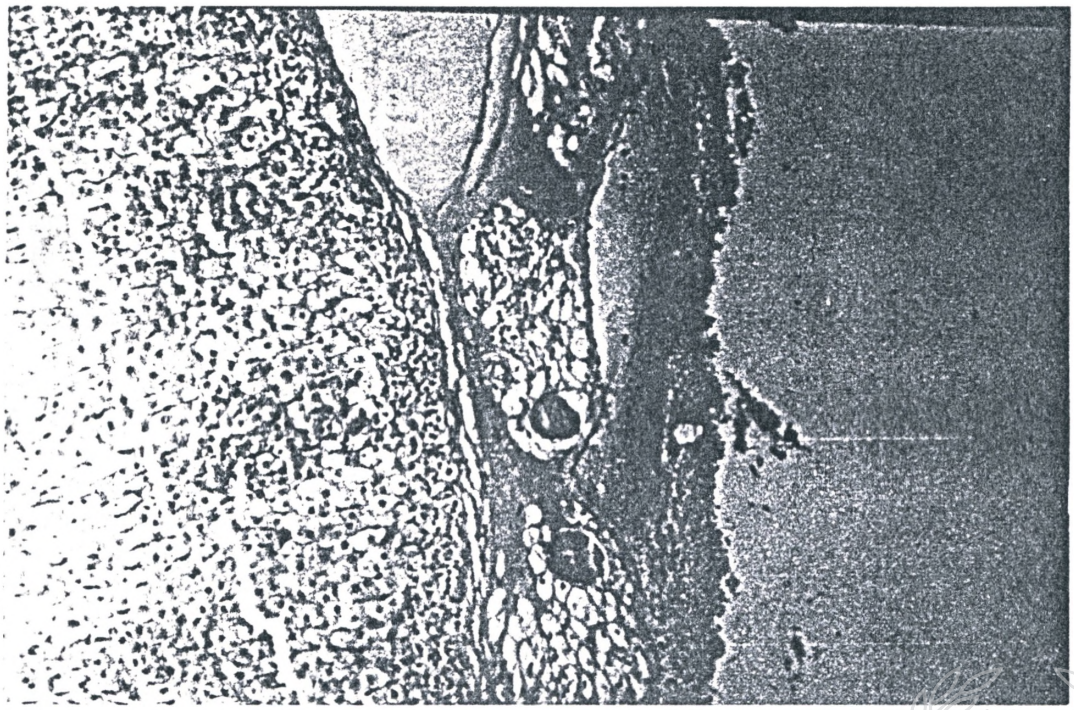
Stanice medule su nepravilno raspoređene i teže se međusobno diferenciraju. Mikrovaskulatura ovog područja je hiperemična, naročito u perifernim zonama prema zoni retikularis.

Nakon *14 dana* dobijanja 5 mg/kg krvni sudovi periglandularnog tkiva su ektatični i jako kongestirani. Zona glomeruloza je bez uočljivih promjena, osim već opisane različite razvijenosti.

Spongiociti zone fascikulate pokazuju još jaču vakuolizaciju, a u pojedinim sektorima ove zone jezgre stanica se uočavaju kao mutne okrugle sjene. Međusobne granice stanica su nejasne, što sve može ukazivati na paremhimsku distrofiju.

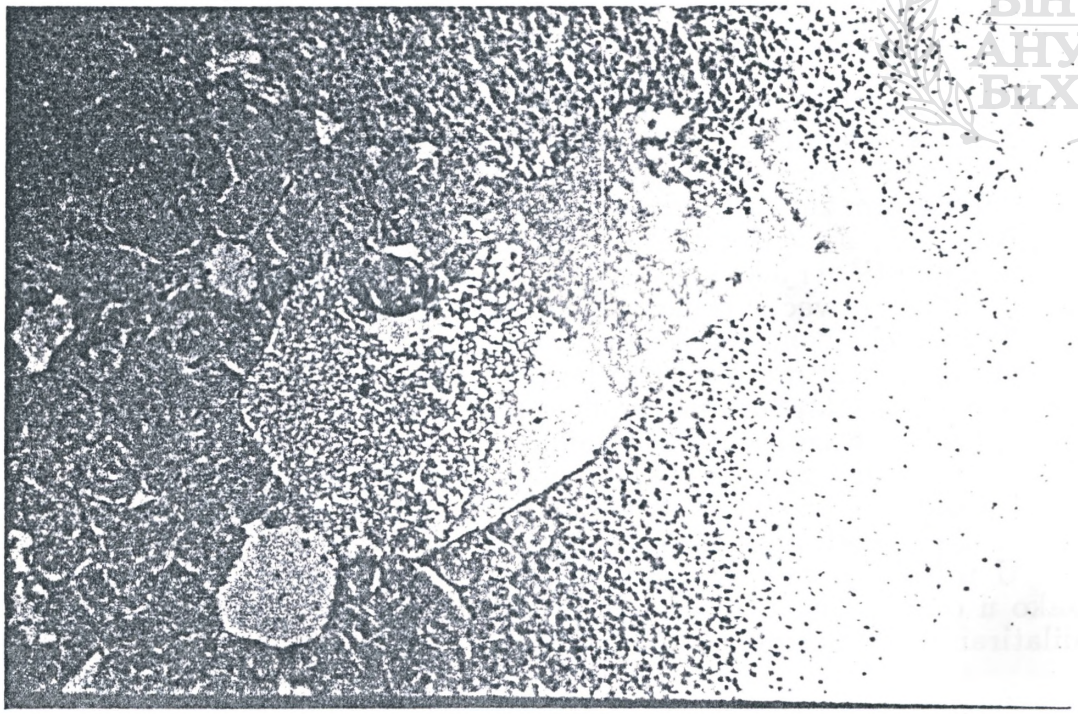
U stanicama zone retikularis zapaža se diskretna vakuolizacija ali mikrovaskularnom slikom dominira jaka hiperemija krvnih žila koja je izraženija u dijelovima bližim meduli.

U meduli je mikrovaskulatura napadno ektatična i hiperemična, kako u centralnim, tako i u perifernim dijelovima. Eritrociti u ovako dilatiranim kapilarima se međusobno jasno razabiru.

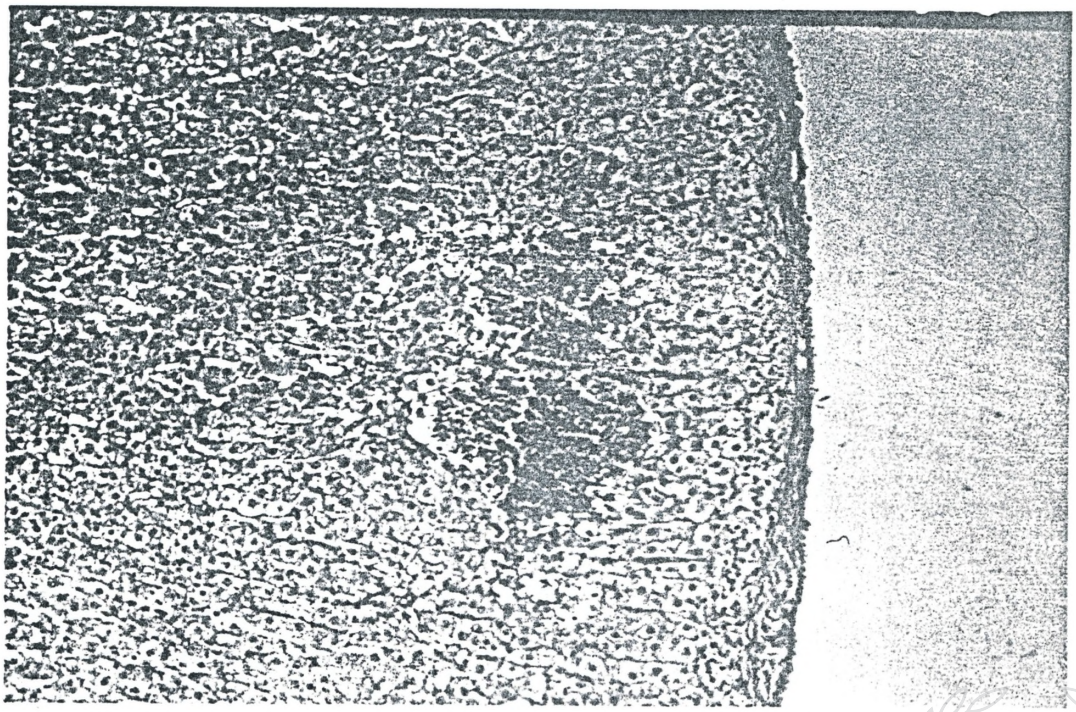


Slika 1 – Hematom u kapsuli sa hemoliziranim eritrocirima (3 mg/kg, 21 dan)

Slika 2 – Opsežni ekstravazat kroz koru i medulu adrena (3mg/kg, 28 dana)

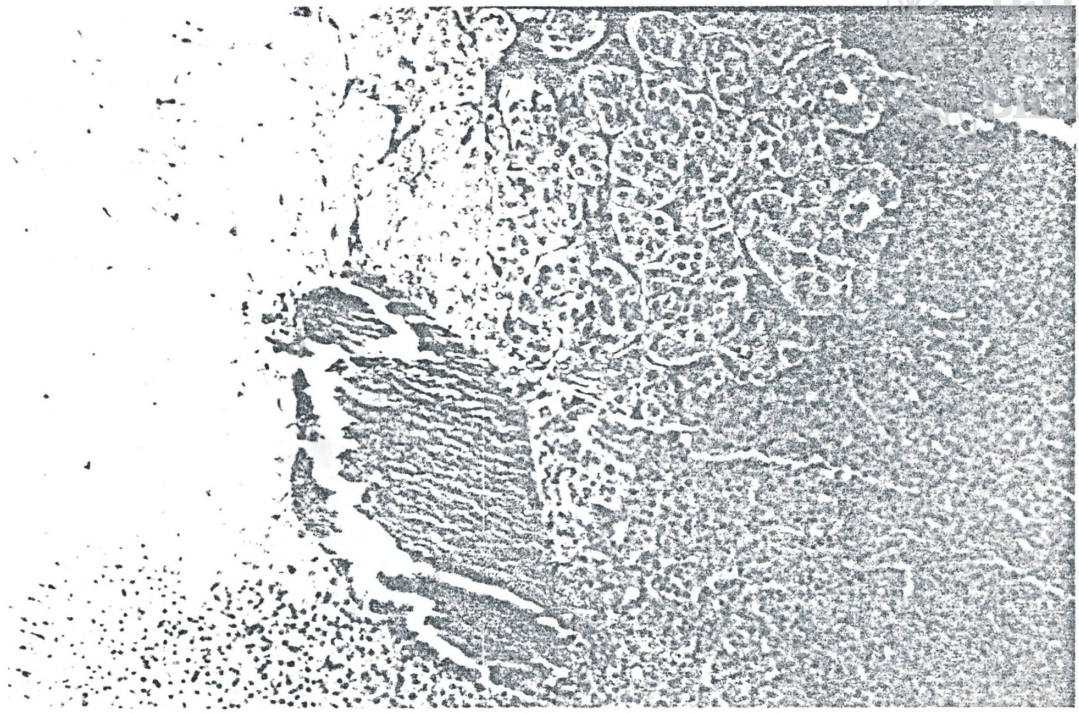


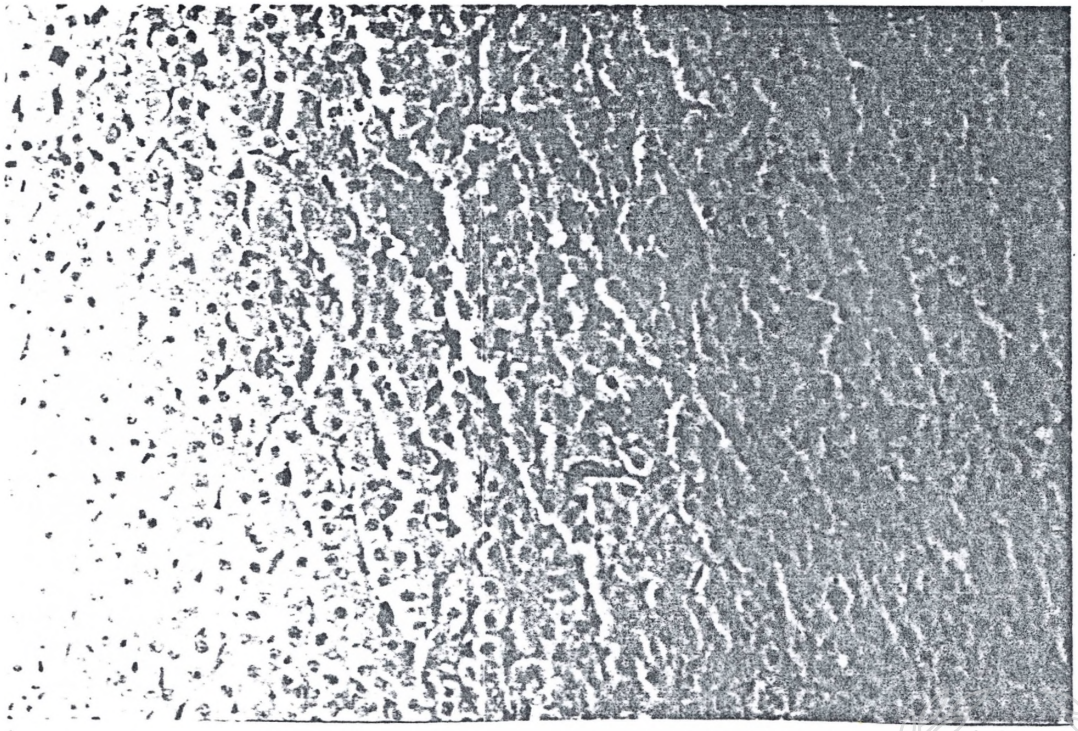
ANU BiH
АНУ БиХ



Slika 3 – Opsežan ekstravazat kroz koru adrena (3 mg/kg, 28 dana)

Slika 4 – Krvarenja u meduli adrena i redukcija zone retikularis (5 mg/kg,7 dana)





Slika 5 – Hiperemija kapilara sa krvarenjem u zoni fascikulati (5 mg/ kg, 14 dana)

Slika 6 – Redukcija zone glomeruloze i vakuolizacija spongiocita (5 mg/kg, 21 dan)

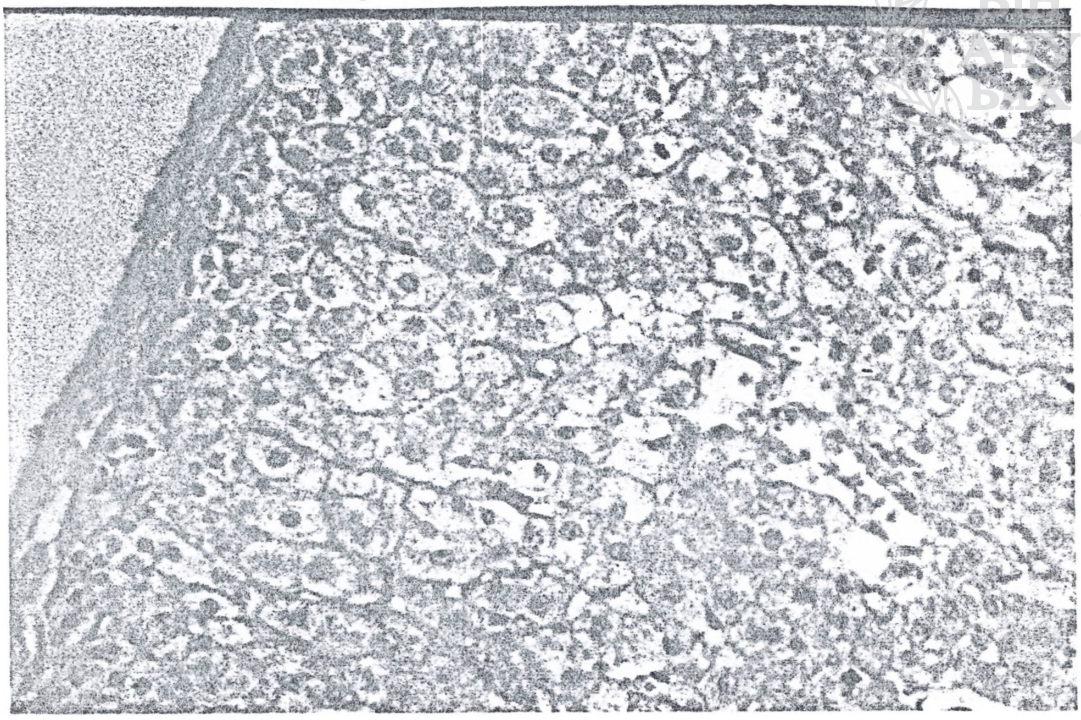


Tabela 1. DJELOVANJE ZEARALENONA NA ADREN ŠTAKORA – HISTOLOŠKE PROMJENE

Eksperiment	Doza	Broj dana	N	A	L	A	Z	
			hiperemija	krvarenje	z. glomerulosa	z. fasciculata	z. reticularis	medulla
A	1 mg/kg	7, 14, 21, 28	kapilare prazne	0	0	0	0	0
B	3 mg/kg	7 i 14	ektatične kapilare	0	0	0	0	ekstravazati
		21	0	hematomi	0	0	ekstravazati	hiperemija
		28	++	ekstravazati	ćelije su svjetlije boje	vakuolizacija citoplazme	ekstravazati	ekstravazati, edem
C	5 mg/kg	7	+	0	jače i slabije razvijena	vakuolizacija citoplazme	kongestije kapilara	hiperemija
		14	++	+	različita razvijenost	vakuolizacija, parenhimska distrofija	vakuolizacija, jaka hiperemija	hiperemija
		21	0	+	redukcija	vakuolizacija	ćelije su svjetlije, hiperemija	ćelije svjetlije, hiperemija
		28	++	++	++	++	++	++

Kod doza od 5 mg/kg kroz *21 dan*, u suprakapsularnom tkivu je vidljiva pojava ekstravaziranih eritrocita. Kod ove doze uočljivija je razlika u debljini zone glomeruloze, što bi moglo značiti redukciju ove zone.

Stanice zone fascikulate su nejasnih međusobnih granica i slabo se međusobno diferenciraju skoro u svim područjima ove zone. Citoplazma je blijeda i homogena u središnjim dijelovima zone, a bogato vakuolizirana u perifernim dijelovima. Jezgre ovih stanica se slabo uočavaju kao mutne okrugle sjene ili se uopće ne vide. Sinusoidne kapilare, zbog jake kongestije, izgledaju kao uzdužne, tamnocrvene pruge između nizova spongiocita.

Na stanicama zone retikularis tek 21 dan nakon tretmana ovom dozom zearalenona se uočavaju izvjesne promjene. I one počinju da se slabije međusobno diferenciraju, što je više izraženo u onim dijelovima zone koji su bliži meduli. Citoplazma stanica postaje svjetlija, a jezgre su slabije vidljive zbog slabije obojenosti. Mikrovaskulatura ovog područja je i dalje hiperemična. Stanice srži—medulociti također pokazuju slabiju obojenost, kako citoplazme tako i jezgara. U nekim područjima i ove stanice se teže diferenciraju. Kapilarna mreža je ektatična i hiperemična, a na graničnim dijelovima prema zoni retikularis javljaju se krvni ekstravazati.

Sa dozom od 5 mg/kg tjelesne mase kroz *28 dana* patohistološka slika odgovara onoj kod životinja tretiranih istom dozom 21 dan: jedino su promjene vezane uz mikrovaskularizaciju medule još izraženije. Na nekim mjestima eritrociti su stopljeni u homogenu eozinofilnu masu.

Kvalitativni i kvantitativni uvid u djelovanje pojedinih doza i intervala vidi se na priloženoj tabeli i fotografijama.

Kako se iz priloženih materijala vidi, djelovanje zearalenona je očito na krvnim žilama, te je vjerojatno taj efekat neposredan. Kao rezultat tog djelovanja nastaju određene promjene u žlijezdi, kako na samim stanicama, tako i u pojedinim zonama adrena.

U literaturi postoji opis djelovanja estradiola na adren štakora (100 gama/die kroz 9 mjeseci), te se iz opisa slike vidi da je došlo do povećanja cijele kore adrena. Uočljiva je iz tog pokusa jaka hiperemija sa velikom dilatacijom kortikalnih sinusoida. Zona glomeruloza je nejasna. Sam adren je u tom pokusu bio težak 122 mg, dok je u netretiranog zdravog štakora težina adrena iznosila 44 mg. Težina adrena se mijenja nakon hipofizektomije (15 mg), aplikacije dekortikosteron acetata (23 mg) i implantacije testosterona (30 mg) (Selye, 1950).

Ovo djelovanje zearalenona, koje po svojim efektima pokazuje linearno sa porastom doza i vremena aplikacije toksina sve veće promjene na krvnim žilama, poznato je iz prirodnih trovanja svinja, posebno mladih (otok i krvarenja u perineumu, prepucijumu, vulvi i rektumu), i ne bi se moglo dovesti u uzročnu vezu s estrogenim djelovanjem toksina na jajnike, uterus i testise. U pokusnim trovanjima utvrđen je pad Ca u ispirku iz uterusa trovanih krmača (Long i sar.), a u tek oprašene prasadi sa vulvovaginitisom utvrđen je poremećen odnos proteina u krvi,

pad koncentracije ukupnih proteina, pad albumina i pad koloido-osmotskog pritiska bjelančevina seruma (Lončarević i sar., 1982). Utvrđene promjene u adrenu tretiranih štakora ukazuju svojim kvantitativnim i kvalitativnim promjenama da su nastale kao posljedica djelovanja većih doza zearalenona u duljem intervalu, ali se ne može iz utvrđenih promjena zaključiti koji bi mehanizam mogao biti za to odgovoran. Iskustva Longa i sar. i Lončarevića i sar. nude neka objašnjenja, koja bi ipak trebalo provjeriti prije nego se mogne ustvrditi, da su za fenomene edema i krvarenja u prirodnim slučajevima i u navedenim pokusnim trovanjima krvi smanjena koncentracija Ca (u serumu ili u tkivu?) i disproteinemija.

ZAKLJUČAK

Iz naših istraživanja slijedi da je u toku trovanja zearalenonom kod većih doza i u duljem intervalu aplikacije došlo do promjena na krvnim žilama, kapilarama i sinusoidima (ektazija, krvarenja, edem) te da su ti ekstravazati (sekundarno?) doveli do promjene u veličini i obojenosti stanica, pretežno u kori adrena. Iz pokusa se ne može zaključiti, da je kora adrena u cjelini povećana na štetu medule, kako je to vidljivo u pokusima Selye kod aplikacije estradiola štakorima.

EFFECTS OF ZEARALENONE ON THE ADREN IN RAT—HISTOLOGICAL CHANGES

Summary

Zearalenone was per os (intubation) applied to juvenile rats in doses of 1, 3 and 5 mg/kg and on days 7, 14, 21 and 28 rats were euthanazied and adrens histologically examined. Histological changes were found on the day 21 and 28 with the dose of 3 mg/kg, and on days 7, 14, 21 and 28 with 5 mg/kg only. The changes consisted of ectasias, haemorrhagies and oedema on the capillaries and sinusoids, and thereafter in changes on the cells (esp. vacuolization) in different zones of cortex and less in the medulla of adren. It is presumed, that this effects on blood vessels, very well known in the natural course of oestrogenism in pigs and-specially in piglets, is not connected with estrogenic activity of the toxin.

LITERATURA

Babić, Ljerka, Ožegović, L., Marković, Z., Adilović, S. (1989): *Uticaj zearalenona na histološke promjene u prostati štakora.* ANUBiH, 14, 61-69. LXXXIX

Babić, Ljerka, Ožegović, L., Bajramović, Nejra (1990): *Histološke promjene sjemenih kesica (v. seminales) pacova tretiranih zearalenonom.* Veterinaria, 39, 3-4, 291-296.

Bilcea, P., Nafornita, M., Bedrosian, E., Theodorescu, D., Botarel, S., Tomescu, E., Sincai, M. (1979): *Statuss-ul hormonal la scroafele si scrofitele de reproducite, sub influenta agentilor patogeni din genul Fusarium.* Lucrari Stiintifice Agron, Timisoara, Med. Veterinara, 16, 157-159.

Drugociu, G., Runceanu, L., Cotea, C., Coman, I., Popescu, O., Nicorici, R., Boisteanu, A. (1977): *Cercetari asupra corelatie dintre fuzari-toxicoza si microstructura hipofizei la scroafe*. Lucarie Stiintifice, Zootehnie-Med. Veterinara 97-8.

Lončarević, A., Jovanović, M. J., Šamanc, H., Stankov, Zlata (1982): *Uticaj zearalenona (F-2) mikotoksina na proteinemiju, frakcije belančevina, aminokiselinski azot i koloidoosmotski pritisak belančevina krvnog seruma prasadi*. ANUBiH, 10, 87-100 LX.

Long, G. D., Diekman, M. A., Scheidt, A. B. (1988): *Effect of zearalenone on days 7 to 10 postmating on intrauterine environment and migration of embryos in sows*. J. Anim. Sci. 66 (2), 452-458.

Selye, H. (1950): *Physiology and pathology of exposure to stress*, Acta Inc. Med. Pub., 330, Montreal.

ANU BiH АНУ БиХ