

# P64 NIEKORZYSTNY WPŁYW ROCZNEGO NARAŻENIA NA KADM NA FUNKCJĘ JĄDER SZCZURÓW

III Środkowo Europejski Kongres Osteoporozy i Osteoartrozy oraz XV Zjazd Polskiego Towarzystwa Osteoartrologii i Polskiej Fundacji Osteoporozy, Kraków 24-26.09.2009

## Streszczenia:

Ortopedia Traumatologia Rehabilitacja 2009, vol 11 (Suppl. 2), s:182-183.

## P64

### NIEKORZYSTNY WPŁYW ROCZNEGO NARAŻENIA NA KADM NA FUNKCJĘ JĄDER SZCZURÓW

Czykier E.<sup>1</sup>, Brzóska M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

<sup>2</sup> Zakład Toksykologii<sup>1</sup>, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

**Słowa kluczowe:** kadm, szczury, jądra

**Wstęp:** Przewlekłe narażenie organizmu na kadm prowadzi do kumulacji tego pierwiastka w narządach oraz do uogólnionej intoksykacji całego organizmu.

**Cel:** Naszym celem jest sprawdzenie w jakim stopniu roczne narażenie szczurów na kadm wpływa na morfologię i proliferację komórek jąder.

**Materiał i metodyka:** Do badań użyto 28 samców szczurów rasy Wistar, które podzielono na 4 grupy. Zwierzęta grupy I otrzymały 1 mg Cd/dm<sup>3</sup>, zwierzęta grupy II 5 mg Cd/dm<sup>3</sup>, zwierzęta grupy III 50 mg Cd/dm<sup>3</sup> w wodzie do picia. Szczury grupy kontrolnej poiono wodą redestylowaną. Doświadczenie trwało rok. Po tym czasie zwierzęta dekapitowano w znieczuleniu pentobarbitaliem ip.. Pobierano jądra, przeznaczając jedno do pomiaru stężenia kadmu metodą atomowej

absorpcji spektrofotometrycznej, drugie utrwalano w płynie Bouina. Utrwalony materiał prowadzono techniką parafinową, poczym wykonano barwienie H+E oraz odczyny immunocytochemiczne z użyciem mysich monoklonalnych przeciwciał przeciwko PCNA i Ki-67 w rozcieńczeniu 1: 50. Ocenę statystyczną stężenia kadmu w jądrach szczurów przeprowadzono używając jednoczynnikowej analizy wariancji Anova oraz testu Kruskal-Wallis.

**Wyniki:** Stwierdzono, że stężenie kadmu w jądrach szczurów wzrastało proporcjonalnie do podanej dawki kadmu. U szczurów grupy kontrolnej wynosiło 0,119 mg Cd/g świeżej tkanki, w grupie I 0,126 µg Cd/g świeżej tkanki, w grupie II 0,183 µg Cd/g świeżej tkanki i w grupie III 0,720 µg Cd/g świeżej tkanki. Przy czym różnice istotne statystycznie obserwowano między kontrolą, a grupą II, kontrolą, a grupą III, między I i III grupą oraz między II i III grupą. Jednocześnie w ocenie patomorfologicznej szczurów grupy kontrolnej stwierdzono w niektórych preparatach mikroskopowych włóknienie podtorebkowe oraz włóknienie wokół kanalików krętych. U zwierząt grupy I obserwowano przekrwienie i obrzęk podścieliska, zaburzony układ komórek w nabłonku plemnikotwórczym, w pojedynczych komórkach płciowych cechy zwyrodnienia wodniczkowego cytoplazmy z zaznaczonymi cechami atypii jądrowej. U zwierząt grupy II nastąpiło nasilenie zmian patomorfologicznych w stosunku do zwierząt grupy I oraz pojawiły się cechy martwicy w komórkach płciowych wierzchnich warstw nabłonka plemnikotwórczego, ogniskowo martwica dochodziła do głębiej położonych warstw. U zwierząt grupy III obserwowaliśmy w kanalikach krętych bardziej zaawansowaną martwicę aniżeli w grupie II, nabłonek plemnikotwórczy tworzył monomorficzną populację komórkową o zatartych cechach histologicznych, z cechami zwyrodnienia znacznego stopnia. W pojedynczych kanalikach krętych martwica obejmowała całą wysokość nabłonka plemnikotwórczego. Powyższym zmianom patomorfologicznym towarzyszyły ujemne odczyny na Ki-67 we wszystkich jądrach komórkowych gonad w czterech badanych grupach. Natomiast obserwowano dodatni odczyn na PCNA w diploidalnych komórkach płciowych (spermatogoniach A i B). Reakcja jądrowa na PCNA była bardzo silna. Ponadto stwierdzono dodatni odczyn na PCNA o słabszym charakterze w pokładach komórek leżących dośrodkowo: spermatocytach I rzędu oraz młodych spermatydach.

**Wnioski:** 1. Wykonane doświadczenie dowodzi, iż kadm

powoduje zmiany morfologiczne zarówno odwracalne jak i nieodwracalne w jądrach szczurów oraz prowadzi do zaburzenia proliferacji w komórkach płciowych o czym świadczy ujemny odczyn na Ki-67, przy zachowanym odczynie na PCNA.

**P64**

## **UNFAVOURABLE EFFECT OF ONE-YEAR EXPOSURE TO CADMIUM ON THE FUNCTION OF RAT TESTES**

**Czykier E.<sup>1</sup>, Brzóska M.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Department of Histology and Embryology, Medical University of Białystok

<sup>2</sup>Department of Toxicology, Medical University of Białystok

**Key words:** *cadmium, rats, testes*

**Introduction:** Chronic exposure to cadmium leads to its accumulation in body organs and results in generalized intoxication of the whole organism.

**Aim of the study:** The aim of the current study is to determine the effect of one-year exposure to cadmium on the morphology and proliferation of testicular cells.

**Material and methods:** The study used 28 male Wistar rats, divided into 4 groups. Group I animals received 1 mg Cd/dm<sup>3</sup>, group II – 5 mg Cd/dm<sup>3</sup>, and group III – 50 mg Cd/dm<sup>3</sup> in drinking water. Control rats were given redistilled water. The experiment lasted for one year. Then, the animals were decapitated in pentobarbital anaesthesia ip. Of the two testicles, one was used to determine cadmium concentration by atomic absorption spectrophotometry, the other was fixed in Bouin's fluid. The fixed material was processed by means of the paraffin procedure, which was followed by H+E staining and immunocytochemical reactions with mouse monoclonal anti PCNA and anti Ki-67 antibodies diluted 1:50. One-way analysis of variance (Anova) and Kruskal-Wallis test were used for statistical analysis.

**Results:** Cadmium concentration in the rat testicles showed a dose-dependent increase. It was 0.119 mg Cd/g of fresh tissue in control rats, 0.126 µg Cd/g of fresh tissue in group

I, 0.183 µg Cd/g of fresh tissue in group II and 0.720 µg Cd/g of fresh tissue in group III. Statistically significant differences were observed between the control and group II, the control and group III, between group I and group III and group II and group III. At the same time, pathomorphological assessment of the control group revealed subcapsular fibrosis and fibrosis around seminiferous tubules in some microscopic preparations. Group I rats had hyperaemia and oedema of the stroma, disturbed distribution of cells in spermatogenic epithelium, and vacuolar degeneration of the cytoplasm with distinct nuclear atypia in single sex cells. The pathomorphological changes were intensified in group II, compared to group I and additionally features of necrosis appeared in the sex cells of superficial layers of spermatogenic epithelium, with necrotic foci seen in deeper layers. Group III rats presented with more advanced necrosis in the seminiferous tubules, and their spermatogenic epithelium formed a monomorphic population of cells with indistinct histological features and marked degeneration. In single seminiferous tubules, necrosis occupied the total height of spermatogenic epithelium. These pathomorphological changes were accompanied by negative reactions to Ki-67 in all gonad cell nuclei in the four study groups. However, a positive reaction to PCNA was observed in diploid sex cells (spermatogonia A and B). The nuclear PCNA expression was very strong. Moreover, PCNA-positive expression was noted in the centrally situated cell layers: I line spermatocytes and young spermatids.

**Conclusions:** 1. The present experiment allows the conclusion that cadmium causes both reversible and irreversible morphological changes in rat testicles and leads to proliferative disorders in sex cells, which is indicated by negative Ki-67 expression coexisting with positive PCNA reaction.