



TÜRK ÜROLOJİ DERGİSİ

Cilt : 12, Sayı : 1, 17-27 1986

MANGANEZ, ÇİNKO VE KADMIYUM'UN TESTİS ÜZERİNE ETKİLERİ

(THE EFFECT OF MAGNESIUM, ZINC AND CADMIUM
ON TESTIS)

ÖNER, A (*)

SAYIN, S. (****)

AYTEKİN, Y (**)

UYSAL, V (***)

SOLOK, V (*)

ALTUĞ, T (****)

AYKAÇ, İ. (****)

Bazı ilaçların ve çevreyi kirletici kimyasal maddelerin germinal hücreler üzerinde hasarlar oluşturarak üreme fonksiyonlarını etkilediği ve erkekte infertiliteye varan bozukluklara sebep olabileceği bilinmektedir.

Metaller içerisinde kadmiyumun erkek reproduktif sistemini etkilediğine dair ilk detaylı çalışma Parizek ve Zahor tarafından 1956'da yapılmıştır (10). Bu çalışmayı müteakip kadmiyum üzerindeki araştırmalar gittikçe yoğunlaşmıştır. Bundan esinlenerek daha sonra bakır, lityum, magnezyum, manganez, berilyum, alüminyum, demir, nikel, gümüş, çinko, kurşun, kalay gibi daha birçok eser elementin yokluğunun veya fazla bulunmasının erkek üreme sisteminin çeşitli kademelerinde oluşturduğu etkileri araştıran kısıtlı sayıda çalışma yapılmıştır (8, 9).

Günümüzde metal sanayiindeki gelişmeyi göz önüne alacak olursak pratikte kronik metal intoksikasyonunun bir infertilite sebebi olarak karşımıza çıkabileceği aklımıza gelebilir. Bu noktadan hareket ederek çalışmamızda manganez, çinko ve kadmiyum tuzlarının testis morfolojisi ve fonksiyonları üzerindeki etkilerini histopatolojik seviyede değerlendirmeyi amaçladık.

(*) Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı.

(**) İst. Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı.

(***) İst. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı.

(****) İst. Tıp Fak. Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi.

(*****) Marmara Üni. Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı.

MATERYAL VE METOD

Çalışmamızda, 200-250 gr. ağırlığında erişkin erkek Wistar albino sıçanlar üzerinde deneyler yapılmıştır.

Deney hayvanları 4 grupta ele alınmıştır. Her grupta 5'er adet deney hayvanı incelenmiştir.

I. gruptaki deney hayvanları kontrol grubunu oluşturmaktadır. Deney süresince diğer gruplar gibi aynı şartlarda muhafaza edilmiş, aynı diyet uygulanmıştır. Deney sonunda testis biopsileri alınıp ışık ve lektromikroskop seviyesinde incelenmiştir.

II. gruptaki deney hayvanlarına bir ay süreyle periton içine günde 16 mg./kg. mangan klorür ($MnCl_2$),

III. gruptaki deney hayvanlarına, aynı süre içinde ve aynı yolla günde 10 mg./kg. çinko klorür ($ZnCl_2$),

IV. gruptaki deney hayvanlarına 15 gün süreyle deri altına günde 0,03 milimol/kg. kadmiyum klorür ($CdCl_2$) verilmiştir.

Işık mikroskopi için alınan materyal, Bouin solüsyonunda tespit edilmiş ve parafin bloklar hazırlanmıştır. Parafin kesitlere Periodic Acid Schiff (PAS) reaksiyonu uygulanmış ve Hematoksilen-Eosin (HE) boyaları ile boyanmıştır. Hazırlanan preparatlar Leitz fotomikroskopi ile değerlendirilmiş ve resimleri çekilmiştir.

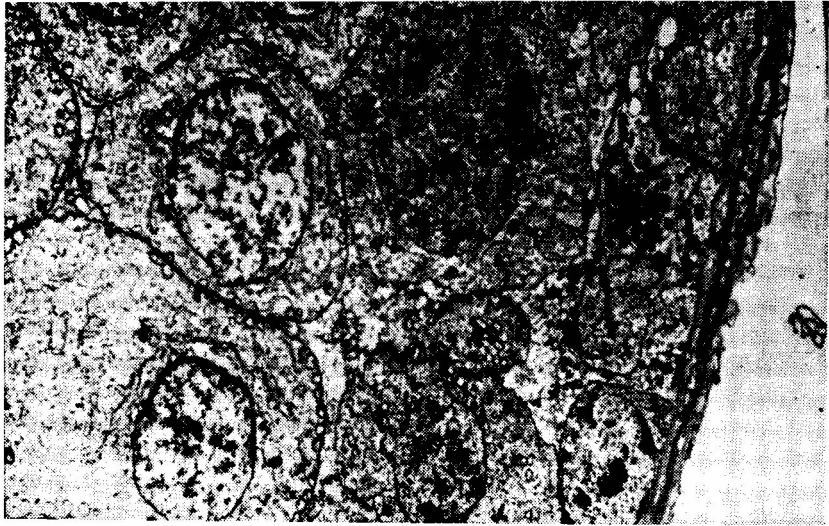
Elektronmikroskop incelemeleri için alınan küçük testis numunelerine, tamponlu osmik asid (Os_2O_4) fiksasyonu yapılarak Vestopal blokları hazırlanmıştır. Bloklardan 400-700 Angström kalınlığında ince kesitler alınmış bunlar Zeiss 9 EM 2 S ve Jeol 100 C elektronmikroskoplarında incelenmiş ve resimleri çekilmiştir. Deneyler İst. Tıp Fak. Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde, histolojik incelemeler ise yine İst. Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalında yapılmıştır.

BULGULAR

Kontrol grubunda sıçan testislerinde düzenli spermatogenesis izlenmiş, tubuluslarda bazal laminadan lümeneye kadar spermatogonium, spermatozot ve spermatid hücrelerine çeşitli evrelerde rastlanmıştır. Tubulus lümenlerinde döküntü hücreleri bulunmamıştır. İntertubular sahalarda küçük kan damarları civarında ve tubuluslara yakın bölgelerde Leydig hücre grupları gözlenmiştir (Resim 1). Kontrol grubuna ait elektron mikroskop çalışmalarında da düzenli spermatogenez gösteren germinal epitelyum izlenmiştir (Resim 2).



Resim 1 : Spermatogenezin çeşitli evrelerinde normal sıçan testisi. Seminifer tubulusların ve interstitiel dokunun görünümü.

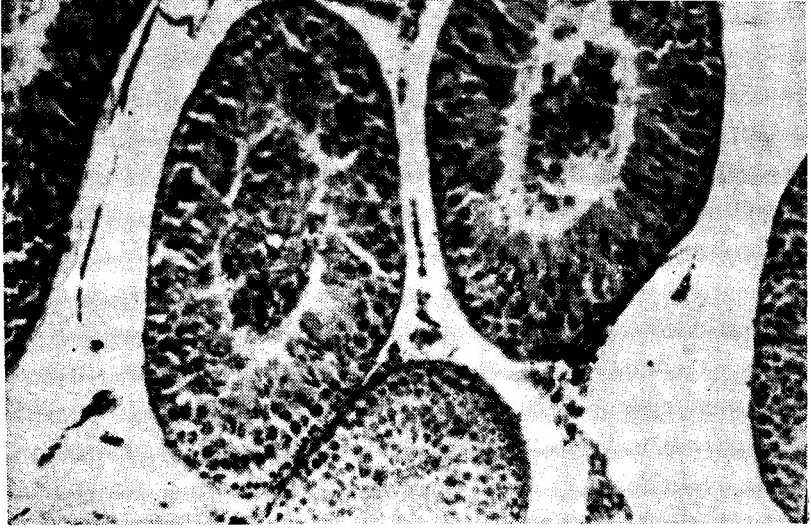


Resim 2 : Kontrol sıçan testisinin elektronmikrografı. Germinal epitel-yumdaki düzgün hücre dizisi. Spermatogonium, Sertoli hücresi, spermatosit ve spermatidler.

II'nci grupta kg. başına 16 mg. mangan klorür injeksiyonu yapılan sıçanların testisleri ile, III'üncü grupta kg. başına 10 mg. çinko klorür injeksiyonları yapılan deney hayvanlarının testisleri hemen hemen benzer

morfolojiler göstermişlerdir (Resim 3, 4, 5, 6). Her iki grupta da injeksiyonlar periton içi yolla yapılmıştır.

İki grup testiste de ilk çarpıcı bulgu seminifer tubulusların lümenlerinde hücre döküntülerinin bulunmasıdır. Bu döküntü kitlesinin içinde hücre artıkları arasında germinal hücrelerden; daha çok spermatidlere benzer hücreler görülmüştür. Bunların yanında zaman zaman spermatositlere de rastlanmıştır. Bazı tubuluslarda ise döküntü hücrelerinin atipik şekilli, çok çekirdekli ve deformasyona uğramış hücreleri temsil ettiği tespit edilmiştir (Resim 3, 4, 6).

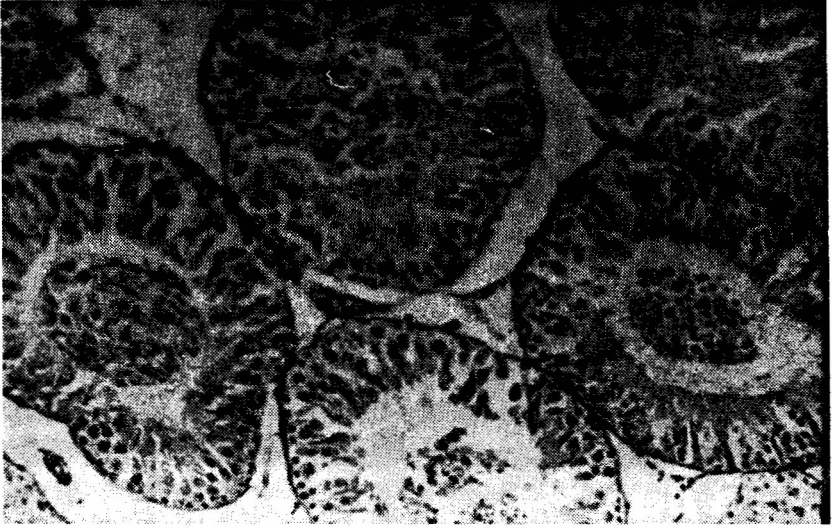


Resim 3 : 30 gün süre ile 16 mg./kg. $MnCl_2$ (I.P.) uygulanan deney sıçanlarına ait testis mikrofotoğrafı. Seminifer tubulusların enine kesitlerinde, lümeneye dökülmüş germinal hücreler ve hücre sıralanmasında düzensizlik. Interstitiumda özel bir bulgu yoktur.

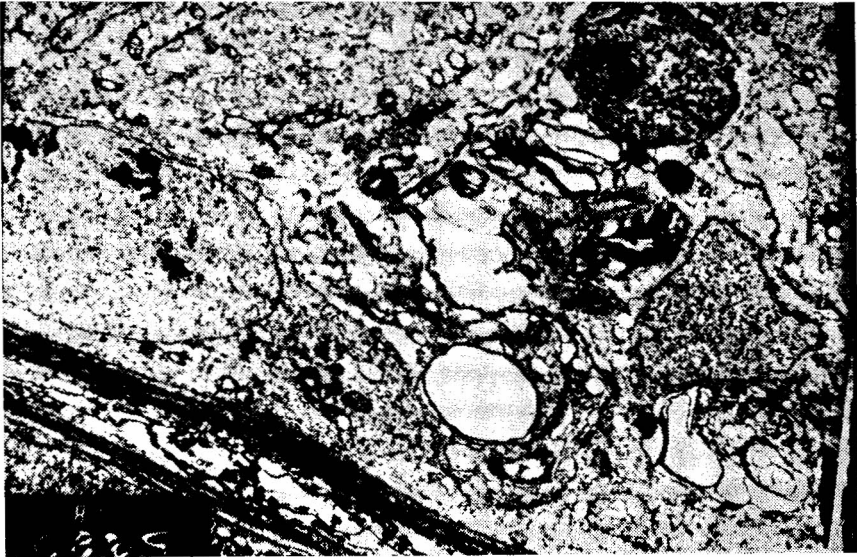
Mangan ve çinko tuzları uygulanan deney grubuna ait testis ultrastrüktüründe ışık mikroskopu ile görülen bulgulara ilaveten özellikle Sertoli hücrelerinin düz endoplazma retikulumu (SER) membranlarındaki dilatasyonlar dikkatimizi çekmiştir (Resim 5). Bu dilatasyonlar ile Sertoli hücresi-germinal hücre ilişkileri etkilenmiş ve germinal hücrelerin lümeneye itilme hızı artmıştır.

Lümendeki döküntü hücrelerin elektronmikroskopu tetkikinde, hücre elemanlarının tipik yapıları ile bu hücreler tanımlanmıştır (Resim 6). Bunlar daha çok erken fazdaki yuvarlak spermatidleri temsil eden hücrelerdir.

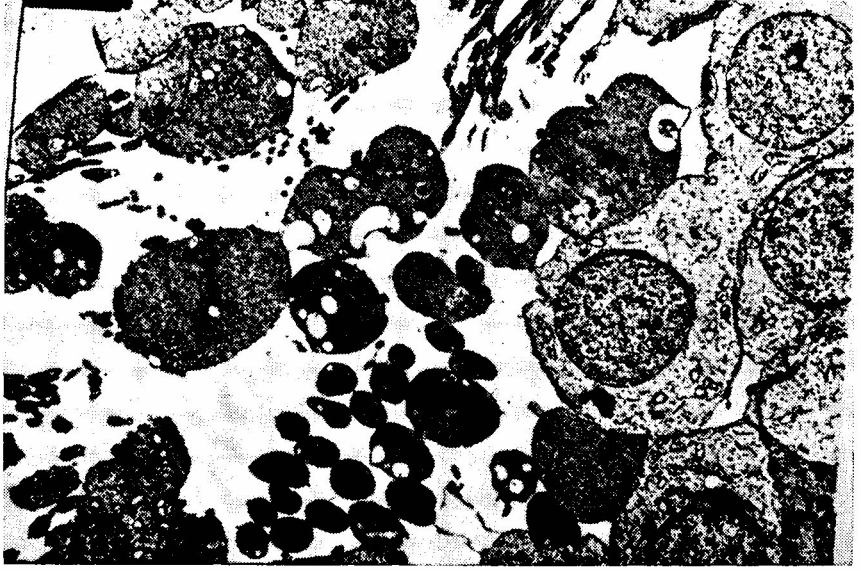
Bu grup testis tubuluslarında lamina propriada orta derecede hyalin veya fibröz kalınlaşmalara da rastlanmıştır (Resim 5).



Resim 4 : 30 gün süre ile 10 mg./kg. $ZnCl_2$ (I.P.) uygulanan deney sıçanlarına ait bir testis preparatında Resim 2'ye benzer bulgular izlenmektedir.



Resim 5 : Resim 4'te ışık mikroskopu fotoğrafı görülen grup III'e ait testis dokusu elektronmikrografında germinal epitelyumda ve Sertoli hücrelerinde endoplazma retikulumunda geniş vakuolizasyon. Ayrıca bu bölgede fagositik bir hücre çekirdeği görülmektedir.



Resim 6 : Lümenlerinde hücre döküntüleri bulunan testis elektron mikroskopunda lümeneye atılmış olgunlaşmamış hücreler ve hücre artıkları görülüyor. Bu görüntüler Resim 3 ve 4'teki lümeneye dökülmüş hücreleri temsil etmektedir.

IV'üncü gruptaki deney hayvanlarına kg. başına 0.03 mg. kadmiyum klorür periton içine verildiğinde deney hayvanlarının çoğunda geniş hemorajiler görülmüş ilk 12 saat içinde ölümler olmuştur. Deri altına verilen kadmiyum klorür enjeksiyonlarında ise deney hayvanlarında 15 gün süre içinde ölümler görülmemiştir.

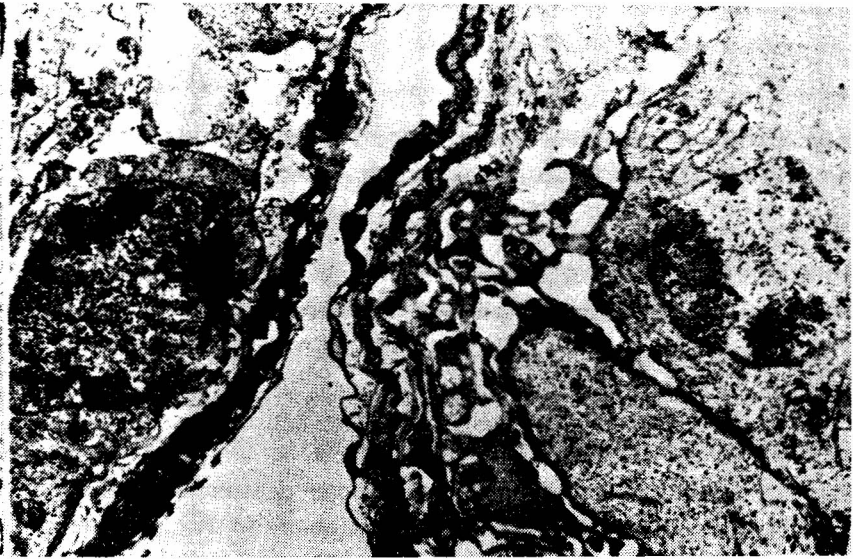
İncelenen testis numunelerinde ilk iki gruba göre daha fazla testis bozuklukları tespit edilmiştir. Seminifer tubuluslarda germinal hücre sırası çoğunlukla azalmış bazen ortadan kalkmıştır (Resim 7).

Bu gruba ait elektron mikroskop bulguları önceki gruplardakilere göre daha çarpıcıdır. Sertoli hücrelerinde, bazal seviyelerden itibaren başlayan SER sisternalarının aşırı genişlemesi ile spermatogoniumlar bile lümeneye doğru itilmeye zorlanmış görülmektedir (Resim 8).

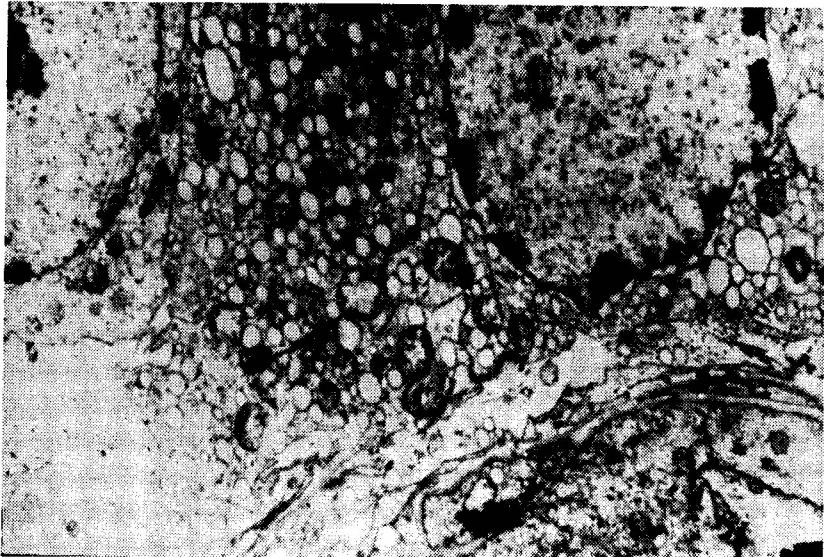
İnterstitial dokuda geniş kanama odakları arasında görülen Leydig hücrelerinin ışık ve elektronmikroskop seviyesinde incelenmesinde morfolojilerinin bozulmuş olduğu görülmüş, böylece fonksiyonlarının engellendiği tespit edilmiştir (Resim 7, 9). Nitekim Leydig hücrelerinde Sertoli hücrelerine benzer SER dilatasyon bulguları yanında, mitokondriumlarda krista bozuklukları ve lizozomal yapılarda bir artış bulunmaktadır (Resim 9).



Resim 7 : 15 gün süre ile 0,03 milimol/kg. $CdCl_2$ (İ.M.) uygulanan deney sıçanlarının ait testis preparatında seminifer tubuluslarda aşırı harabiyet izleniyor. Bazı tubuluslar germinal hücreden yoksundur. İnterstitiumda kanama sahaları ve Leydig hücreleri izlenmektedir.



Resim 8 : Resim 7'de mikrofotografı görülen testise ait bir elektronmikrograf. Yan yana 2 seminifer tübül bazal seviyesindeki Sertoli hücrelerinin aşırı endoplazma retikulumu dilatasyonları hücre dökülmelerini açıklayıcı durumda.



Resim 9 : Grup IV'e ait testis elektronmikrografında interstitiel sahada iki Leydig hücresi görülüyor. Sitoplazmada mitokondriumlarda krista harabiyeti ile SER vakuolizasyonunda artma. Nukleuslar normal görünümündedir.

TARTIŞMA

Birçok mineral elementlerin eksiklik ve fazlalıklarında tüm vücut dokularındaki etkilerinden farklı olarak testis ve yardımcı seks organlarında da fonksiyon değişikliklerine sebep olduğu bilinmektedir. Bu çalışma ile vücutta çok küçük miktarlarda bulunduğu bilinen manganez, çinko ve kadmiyum'un vücuda fazladan verilmesi ile testislerde değişik kademelerde dejenerasyonlar ortaya çıkardığı gösterilmiştir. Bu elementlerin vücutta dağılımları uniform değildir. Testislerde çok küçük konsantrasyonlarda bulunurlar (6, 9, 11). Özellikle hızlı bölünen hücrelerden olan germinal hücreler bu eser elementlerin fazlalığında etkilenmişler ve sitoplazma ilişkileri bozulmuştur (1, 2, 3, 5, 7, 8, 10, 11).

Konumuz açısından manganez ile yapılan çalışma çok azdır. Aslında testis dokusu çok düşük miktarda manganez ihtiva etmektedir. Manganezden eksik gıda ile beslenen sıçanlarda, tübüler dejenerasyon ve infertilite meydana geldiği, hatta aksesuar seks glandlarının da boyut olarak gerilediği bilinmektedir (11). Bunun aksine birçok eser elementlerin testis üzerindeki etkisini araştıran Kamboj ve Kar manganezi subkutan yolla verdikten bir hafta sonra yaptıkları ölçümlerde bir fark görmedikleri halde intratestiküler enjeksiyon yapıldığında testis ağırlığının aynı süre içerisinde çok azaldığını saptamışlardır (9). Ancak bu çalışmada histolojik seviyede bir

değerlendirme yapılmamıştır. Bu deneyden farklı olarak intraperitoneal yoldan yaptığımız kronik uygulama modelinde ışık mikroskopu tetkiklerinde interstitiel sahada dikkati çeken bir bozukluk olmamasına karşın tubulusların bariz olarak etkilendiğini gördük. Germinal hücre sıralanmasındaki düzensizlik ve spermiogenezin erken safhasına ait hücrelerin lümeneye dökülmesi bunun en güzel delilidir (Resim 3). İzlenimimize göre bu bulgular sadece manganez etkisine has değildir. Zira çalışmamızda çinko etkisinde de benzer bulgular ortaya çıkmıştır (Resim 4). Sonuç olarak kronik manganez ya da çinko intoksikasyonu halinde interstitiel kompartmanın dirençli olmasına karşın germinal epitelyumun dirençsiz kaldığını söyleyebiliriz. Halbuki çinko, metaller arasında testis için en gerekli olanıdır (6). Çinko testislerde tubuler kompartmanda germinal elemanlar ve bunların en gelişmiş şekli olan spermatozoanlara bağlı olarak epididime taşınır gerek germinal hücrelerin gelişmesi gerekse germinal epitelyumun muhafazası için gereklidir. Interstitiel kompartmanda bulunan çinko, Leydig hücreleri, bağ dokusu ve damarların fonksiyonunu etkilemektedir (6). Yine benimsenen görüşlere göre çinko kadmiyumun zararlı etkisini önleyebilmektedir (4, 5).

Aslında testisler için bu denli yararlı olan çinko, kronik injeksiyon halinde aksine tübüler kompartmanı etkilemektedir. Metaller içerisinde testise en zararlı görüneni kadmiyumdur. Kadmiyumun meydana getirdiği lezyon diğerlerinden farklıdır. Bu konuda ilk deneyimi olan Parizek ve Zahor sıçanlarda subkutan yolla kadmiyumun klorür ya da laktat tuzunu injekte ettikten 2-4 saat sonra interstitiel sahada kapiller staz, hemoraji başladığını, 4-6 saat içerisinde germinal epitelyumda hücre dökülmeleri, nukleuslarda piknosis, karyoreksis ve lizis gibi değişikliklerin gelişmeye başladığını, 8 saat sonunda hemorajinin yaygınlaşıp 24-48 saat içerisinde testiste ağır harabiyet meydana geldiğini müşahade etmişlerdir (10). Bu izlenim daha sonra birçok araştırmacı tarafından değişik hayvanlarda, farklı yol ve dozda verilerek, ışık ve elektronmikroskop seviyesinde yapılan incelemelerle tespit edilmiştir (1, 2, 3, 4, 5, 7). Ancak hepsinde yukarıda belirtilen değişikliklerin meydana geliş süresi farklıdır. Kurbağa, horoz, güvercin, kertenkele ve fareler üzerinde intraperitoneal yolla kadmiyum klorür vererek deneyler yapan Chiquoine, bu dejeneratif etkinin sadece skrotal testisli hayvanlarda yani testiküler arter ve pampiniform pleksus sistemi olanlarda meydana geldiğini, abdominal lokalizasyonlu testisleri olan hayvanlarda testislerin sağlam kaldığını belirtmiştir (3). Bugün kabul edildiği üzere kadmiyum etkisiyle primer olarak dolaşım bozukluğu meydana gelmekte bunun sonucu daha sonra sekonder olarak tübüler harabiyet gelişmektedir (2, 3, 5).

Çalışmamız diğerlerinden farklı olarak kronik kadmiyum intoksikasyonu modelidir. Bulgularımız akut deney modellerinin benzeridir. Kronik kadmiyum intoksikasyonu yarattığımız deney modelinde, biz interstitiel sahada

hemoraji ile birlikte çoğunda tam hücre kaybına kadar giden ileri derecede germinal epitelyum harabiyetini gözledik (Resim 7). Elektron mikroskop incelemelerimizde tubuluslar içersinde mevcut görülen spermatogoniumların bile bazal membrandan ayrılıp lümene doğru itildikleri ve gerek bu hücreler gerekse Sertoli hücrelerinde endoplazmik retikulumda vakuolizasyonun arttığı bize tübüler harabiyetin irreversibl nitelikte olduğunu düşündürmektedir (Resim 8). Işık mikroskopu incelemelerimizde Leydig hücrelerinin kadmium intoksikasyonuna karşı germinal hücrelere nazaran daha dirençli olduğu görülmektedir (Resim 7). Ancak, elektron mikroskop bulgularımızda, ışık mikroskop seviyesinde iyi farkedilemeyen ve doku fonksiyonunu etkileyecek olan, Leydig ve Sertoli hücreleri organellerine ait bozukluklar tespit edilmiştir. Leydig hücrelerinin mitokondriumlarında görülen krista bozuklukları ile SER dilatasyonları (Resim 9), steroid biosentezindeki engellemelerin delili olarak gösterilebilir.

Sonuç olarak, içlerinde kadmiyum daha kuvvetli olmak üzere kronik manganez ve çinko intoksikasyonlarının infertiliteye yol açabileceğini söyleyebiliriz.

ÖZET

Bu deneysel çalışmada, fazla miktarlarda alınan manganez, çinko ve kadmiyumun spermatogenez üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Bu araştırmada Wistar cinsi, erişkin erkek sıçanlar üzerinde çalışılmıştır. 30 gün süre ile, günlük doz olarak, deney hayvanlarının bir grubuna 16 mg. mangan klorür $MnCl_2$, diğer grubuna 10 mg. çinko klorür $ZnCl_2$ intraperitoneal yolla ve başka bir grubuna da 15 gün 0.03 milimol/kg. kadmiyum subkutan yolla verilmiştir. Deney hayvanlarının testislerinden elde edilen biopsiler ışık ve elektron mikroskopu ile incelenmiştir.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre manganez ve çinkonun etkileri benzerlik göstermiştir. Bu hayvanların testislerinde germinal epitelyumun hücre dizisinde belirgin düzensizlikler, luminal kompartmandaki germinal hücre sayısındaki artma ve hücrelerin birbirleriyle ilişkilerinde bozukluklar saptanmıştır. Kadmiyum verilen grupta ise, interstisiel sahada hemorajiler oluşmuş, yer yer nekrotik tubuluslara rastlanmış ve bu deney grubunda tubuli lumenlerinde olgunlaşmasını tamamlamamış hücre döküntüleri sıklıkla görülmüştür.

SUMMARY

In this experimental study, the effect of excess intake of the manganese, zinc and cadmium on spermatogenesis, has been investigated.

Adult male Wistar rats have been used. In a group of rats 16 mg. of

mangan chloride, in the other group 10 mg. of zinc chloride are given intraperitoneally for 30 days, in another group 0.03 milimol/kg. of cadmium-chloride are given via subcutaneous route per day, for 15 days. Testicular specimens are examined under light and electron microscope. We noticed that manganese and zinc have nearly similar effects on spermatogenesis.

Marked disorganisation in the germinal epithelium, especially increase in the number of germinal cells in the luminal compartment of the seminiferous tubuli and abnormal connections between germinal cells has been noted. In the group effected by cadmium, hemorrhagic areas in the interstitium, necrosis in some tubuli, and early sloughing of immature germinal cells into the lumina has been encountered frequently.

As a result we beleive that excess intake of manganese, zinc and cadmium can influence the fertility.

LİTERATÜR

- 1 — **CAMERON, E., FOSTER, C. L.** : Observations on the histological effects of sub-lethal doses of cadmium chloride in the rabbit *J. Anat.* 97 : 269-280, 1963.
- 2 — **CAMERON, E.** : The effects of intratesticular injections of cadmium chloride in the rabbit. *J. Anat.* 99 : 907-912, 1965.
- 3 — **CHIQUOINE, A. D.** : Observations on the early events of cadmium necrosis of the testis. *Anat. Rec.* 149 : 23-36, 1964.
- 4 — **GUNN, S. A., GOULD, T. C., ANDERSON, W. A., GABLES, C.** : Zinc protection against cadmium injury to rat testis. *Arch. Pathol.* 71 : 274-281, 1961.
- 5 — **GUNN, S. A., GOULD, T. C., ANDERSON, W. A.** : The selective injurious response of testicular and epididimal blood vessels to cadmium and its prevention by zinc. *Am. J. Pathol.* 42 : 685-702, 1963.
- 6 — **GUNN, S. A., GOULD, T. C., ANDERSON, W. A., GABLES, C.** : Zinc in rat testis. *Arch. Pathol.* 75 : 33-39, 1963.
- 7 — **GUPTA, M. D., BARNEB, G. W., SKELTON, F. R.** : Light microscopic and immunopathologic observations on cadmium chloride-induced injury in mature rat testis. *Am. J. Pathol.* 51 : 191-205, 1967.
- 8 — **HOEY, M. J.** : The effects of metallic salts an the histology and functioning of the rat testis. *J. Reprod. Fertil.* 12 : 461-471, 1966.
- 9 — **KAMBOJ, V. P., KAR, A. B.** : Antitesticular effect of metallic and rare earth salts. *J. Reprod. Fertil.* 7 : 21-28, 1964.
- 10 — **PARIZEK, J., ZAHOR Z.** : Effect of cadmium salts on testicular tissue. *Nature* 177 : 1036-1037, 1956.
- 11 — **ORENT, E. R., MCCOLLUM, E. V.** : Effects of deprivation of manganese in the rat. *J. Biol. Chem.* 92 : 651-678, 1931.