

Yüksek doz florun sıçan dokularına etkisi

Alpaslan GÖKÇİMEN*, Özden ÇANDIR**, M. Ali MALAS***

* Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,

** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı,

*** Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, ISPARTA

ÖZET

Çalışmamızda, yüksek dozda uzun süreli flor zehirlenmesi oluşturulan sıçanların karaciğer, böbrek, dalak, ovaryum, testis ve pankreas doku örneklerinde görülen etkileri araştırmayı amaçladık. Wistar Albino cinsi 20 adet sıçan eşit olarak deney ve kontrol grubu olarak iki gruba [10 (5 erkek + 5 dişi) + 10 (5 erkek + 5 dişi)] ayrıldı. Kontrol grubunun içme suyunda flor oranı 1 ppm olacak şekilde, deney grubuna ise 150 ppm flor içirecek şekilde 17 hafta süreyle verildi. Karaciğer, böbrek, dalak, ovaryum, testis ve pankreas doku örneklerinden alınan parçalar ışık mikroskopunda değerlendirildi. Deney grubunda; karaciğerde lobul periferinde fokal sinuzoidal dilatasyonlar, portal alanda yer yer lenfosit infiltrasyonu, hepatositlerde az miktarda hidropik ve vakuoler dejenerasyon gözlemlendi. Böbrekte ise, gerek proksimal gerekse distal tubuluslarda hafif hidropik dejenerasyon tespit edildi. Deney grubundaki dalak, ovaryum, testis ve pankreas kesitlerinde ise herhangi bir patolojiye rastlanmadı. Yüksek doz verilen florun başta karaciğer olmak üzere daha sonra böbrek dokusu üzerinde minimal düzeyde yapısal değişikliklere yol açarken; testis, ovaryum, dalak ve pankreas dokusu üzerine ise önemli bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Yüksek doz flor, karaciğer, böbrek, sıçan

SUMMARY

The effect of high dose florid on rat tissue

In our study, We have aimed to search the findings seen on the tissue specimens taken from the liver, kidney, ovary, testis and pancreas of many rats that have been poisoned by long-term high doses of florid. Twenty rats which belong to Wistar Albino species were being equally separated into two groups, one is as the experimental group, the other as the control group [10 (5 male + 5 female) + 10 (5 male + 5 female)]. For a 17 weeks time, drinking water consisting of 1 ppm florid to control group and consisting of 150 ppm florid to experimental group has been given. Pieces taken from the tissue specimens of the liver, kidney, spleen, ovary, testis and pancreas were being examined under the light microscope. In the experimental group, the following findings were being obtained: In peripheral lobule of the liver, focal sinusoidal dilatations, in the portal area, lymphocyte infiltration; in hepatocytes a little hydropic and vacuolar degeneration; in the kidney either in proximal or distal tubule, a little hydropic degeneration were being determined. There hasn't been seen any pathology in the spleen, ovary, testis and pancreas sections taken from the experimental group. As a result, it was determined that high doses of florid causes minimal structural changes primarily in the liver tissue and then in the kidneys, besides it has no considerable effect on the testis, ovary, spleen and pancreas tissue.

Key Words: High dose florid, liver, kidney, rat

Flor kalsifiye dokular içinde bileşik halinde bulunan temel iz elementtir. Günde 15 mg dan daha az dozda alınması ile dişlerde enamelum yüzeyinin hasarı ile meydana gelen diş çürümelerinde flor proflaktik olarak kullanılmaktadır (1). Flor menopoz sonrası osteoporoz'da oluşan vertebral kırıkların tedavisinde

günde 15-25 mg kullanılmaktadır (1). Çocukluk döneminde yüksek dozda alınan flor iskeleti indükleyerek pseudoraşitizm'e neden olabilmektedir. Bu olgularda ise proflaxi amacıyla florun günde 250 mg/kg verilmesi tavsiye edilmektedir (1). Flor takviyesi günlük içme sularına karıştırılabilir. Bu takviyede flor içeriği

Haberleşme Adresi: **Dr. Alpasyan GÖKÇİMEN**, S.D.Ü.T.F. Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ISPARTA

Geliş Tarihi : 14.09.2001

Yayına Kabul Tarihi : 07.11.2002

1,5 mg/l olarak sınırlandırılmıştır, ancak bazı mineral sularındaki daha yüksek düzeydeki flor içeriğinin kemik teşekkülü üzerinde faydalı olabileceği belirtilmektedir (1). Flor yüksek dozlarda alındığı zaman flor zehirlenmesi ortaya çıkar. Bu durum kısa sürede, yüksek miktarda flor alınması sonucunda oluşan akut florosis şeklinde belirir (2). Florun uzun süreli yüksek miktarda alınması ile ise kronik florosis oluşur. Kronik florosis'in dişlerde, iskelet sisteminde ve kemiklerde etkileri gözlenir (3, 4).

Daha önce yapılan çalışmalarda değişik doz ve sürelerde verilen flor ile morfolojik yapılarda histopatolojik değişikliklerin meydana geldiği deneysel olarak gösterilmiştir (5). Shashi T ve Sing JP (5) yaptıkları çalışmada 50 mg/kg/gün dozunda 100 günlük subkutaneus flor injeksiyonunda akciğer parankiminde alveolar yapının kaybolduğunu belirtmektedirler. Shashi T (6) başka bir çalışmada ise 10mg/kg/gün ve 20 mg/kg/gün dozunda 6 ay süre ile flor verilmesi ile tavşanlarda ovaryumda folliküllerin tamamen atrofiye uğradığını ve nekroze olduğunu beraberinde ise monosit, lenfosit ve histiyosit infiltrasyonunun gözlendiğini rapor etmektedir. Shashi T ve Kaur D (7) diğer bir araştırmalarında ise 50 mg/kg/gün dozunda 100 gün süre ile subkutaneus flor injeksiyonundan sonra, testiküler yapının bozulduğunu göstermişlerdir. Flor etkisinin immatür tavşanlarda seminifer tübüllerin gerilemesi ve çok çekirdekli dev spermatid hücrelerin gelişmesi şeklinde görüldüğü rapor edilmektedir (8). Doğrudan testis içerisine flor injeksiyonundan sonra ise doza bağlı olmaksızın polimorfonükleer lökositlerle birlikte seminifer tübüllerde hasar gözlendiği, fakat Leydig hücrelerinin etkilenmediği gösterilmiştir (9).

Yine daha önce yapılan çalışmalarda; kronik florosis oluşturulan sıçanlarda, laktasyonun inhibe olduğu belirtilmektedir (10). Susheela AK ve Sharma YD (11) 10 mg/kg/gün dozunda uygulanan sodyum florid (NaF)'in fibrinojeni artırarak kemik oluşumunu etkilediğini, 50 mg/kg/gün dozunda ise plazma fibrinojen düzeyinde artışa neden olarak orta derecede doku hasarına neden olduğunu göstermişlerdir. Koyunlarda yapılan bir araştırmada, 4.7 mg/kg/gün dozundaki florun karaciğer ve böbrek dokularında hasar oluşturduğu gösterilmiştir (12). Başka bir araştırmada ise içme suyunda 8mg/l florun insanlarda böbrek hastalığı veya böbrek yetmezliğine yol açmadığı, 1-5 mg/kg/gün flor dozunun ise deney hayvanlarında böbrekte yapısal değişikliklere neden

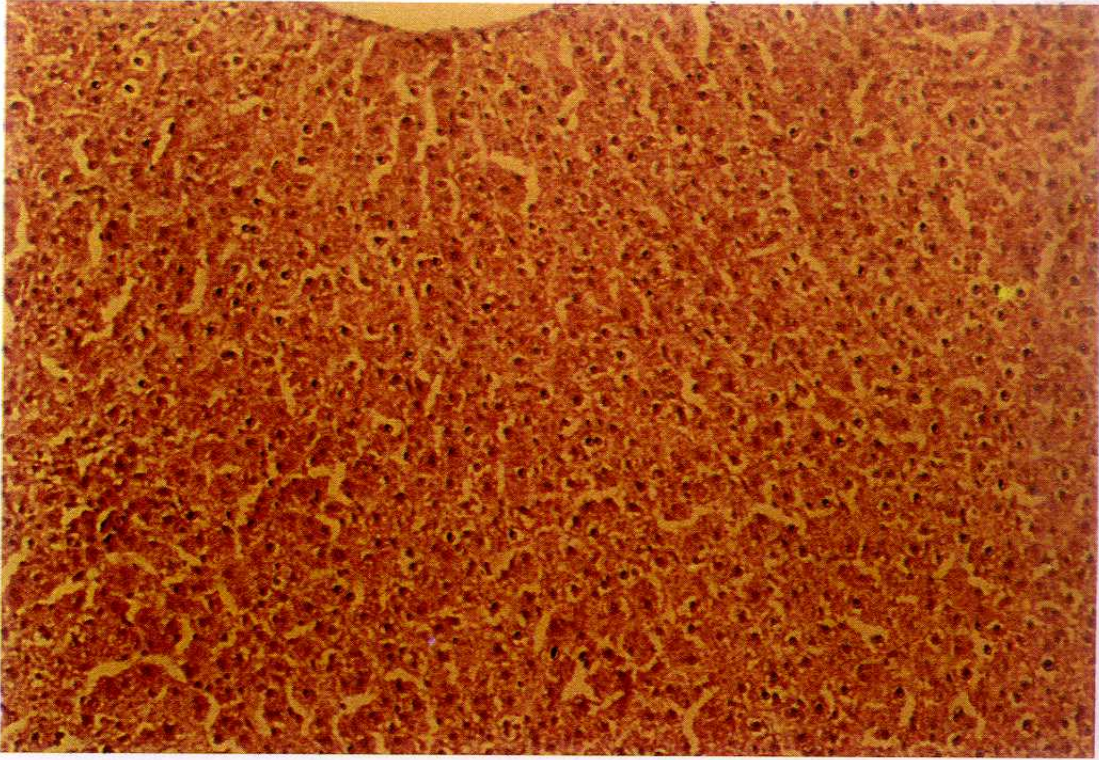
olduğu, 2-8 mg/l florun iskelet florosisine yol açtığı bildirilmektedir (13). Sıçanlarda 300 ppm/gün dozundaki 5 haftalık süre ile verilen florun beyin dokusu incelenmesinde herhangi bir patolojiye rastlanmadığı rapor edilmektedir (14). Uzun süre 100 ppm/kg/gün dozunda içme suyunda flor verilen sıçanların karaciğerinde ise hepatositlerde önemli değişiklikler gözlendiği belirtilmektedir (15). Çalışmamızda, deneysel olarak yüksek dozda uzun süreli flor zehirlenmesi oluşturulan sıçanların karaciğer, böbrek, dalak, ovaryum, testis ve pankreas doku örneklerindeki etkisini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

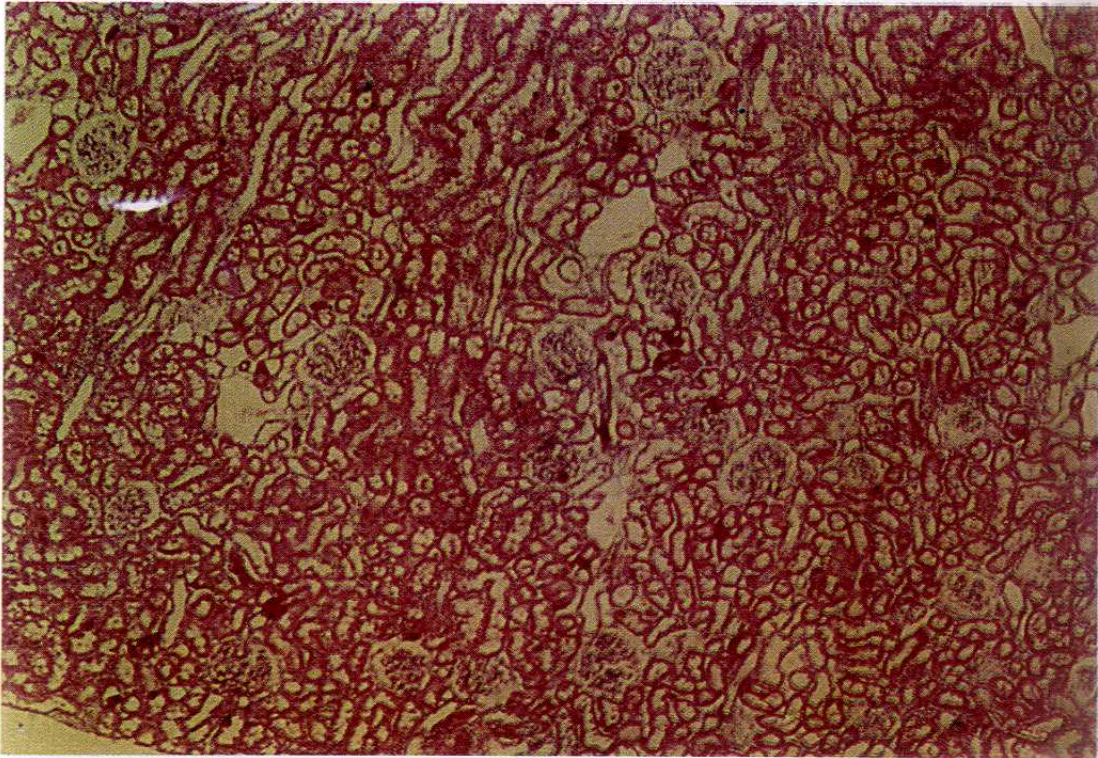
Çalışmamızda ağırlıkları 180-200 gr arasında değişen Wistar Albino cinsi 20 adet (10 erkek 10 dişi) sıçan kullanıldı. Hayvanlar eşit olarak iki gruba [10 (5 erkek + 5 dişi) + 10 (5 erkek + 5 dişi)] ayrıldı. Kontrol grubunun içme suyunda flor oranı 1 ppm olacak şekilde, deney grubuna ise 150 ppm flor içirecek şekilde 17 hafta süreyle verildi. Bu zaman süresince deney hayvanları pelet yemle beslendi. Deney sonunda eter anestezisi altında hayvanlar kesilerek, karaciğer, böbrek, dalak, ovaryum, testis ve pankreas doku örnekleri % 10 luk nötral formalinde tespit edildi. Doku örneklerinden alınan parçalar rutin histolojik takip yöntemlerinden sonra, parafinde bloklanarak, 5 mm kalınlığında kesitler alındı. Bütün doku örneklerinden alınan kesitler hemotoksilen-eosin boyasıyla boyanarak Olympus BX50 marka mikroskopta değerlendirildi.

BULGULAR

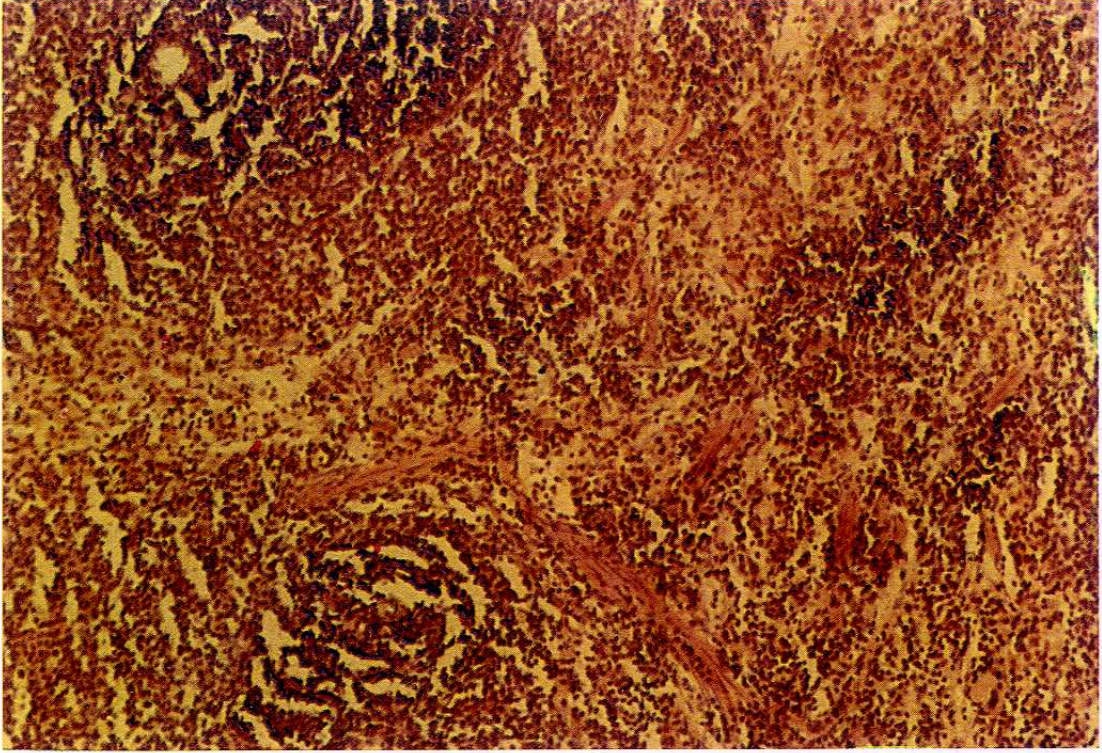
Wistar Albino cinsi deney ve kontrol grubuna ait 20 adet sıçan 17. hafta sonunda eter anestezisi altında kesilerek, deney ve kontrol grubundaki hayvanların karaciğer, böbrek, dalak, ovaryum, testis ve pankreas doku örnekleri ayrı ayrı alınarak % 10 luk nötral formalinde tespit edildi. Çalışmada deney ve kontrol grubundan alınan örneklerin ışık mikroskobu incelemesinde; Kontrol grubunda karaciğer, böbrek, dalak ve testis dokusunda herhangi bir histo-patolojik bulguya rastlanmadı (sırasıyla; Şekil 1, 2, 3, 4). Deney grubunda ise; karaciğer kesitlerinde, karaciğerde lobul periferinde fokal sinuzoidal dilatasyonlar (Şekil 5), portal alanda yer yer lenfosit infiltrasyonu, hepatositlerde az miktarda hidropik ve vakuoler dejenerasyon gözlendi (Şekil 6). Deney grubundaki böbrek kesitlerinde ise, gerek proksimal gerekse distal tubuluslarda hafif hidropik dejenerasyon dışında herhangi bir yapısal bozukluğa rastlan-



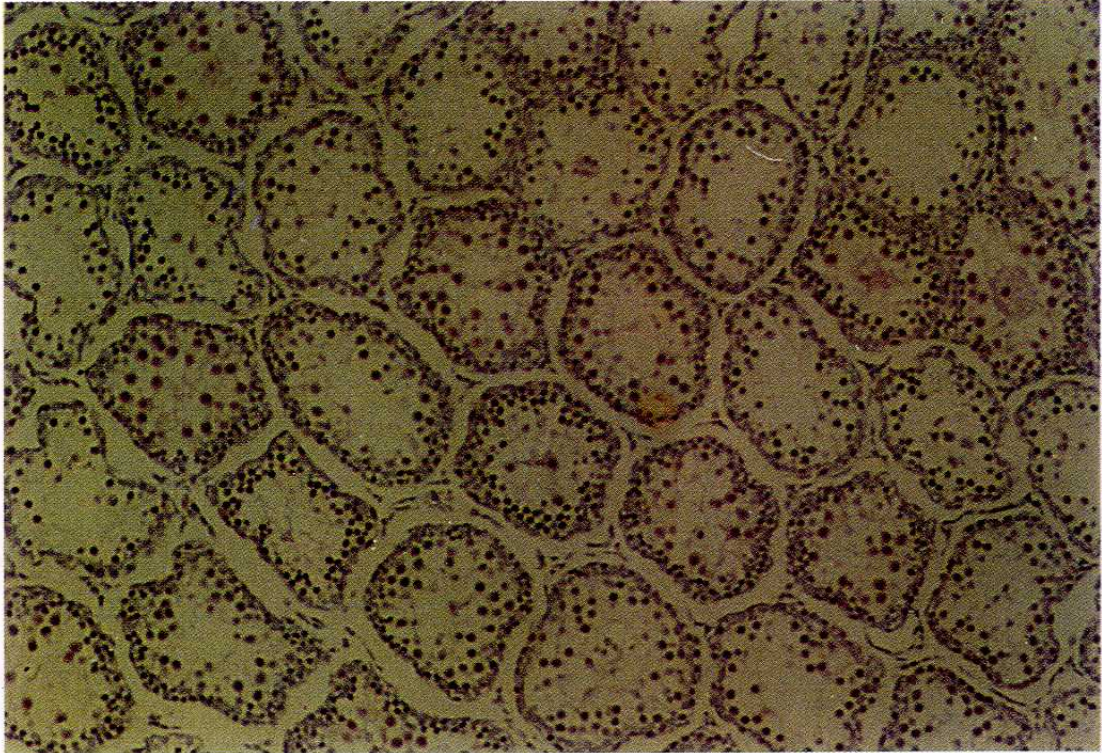
Şekil 1. Kontrol grubuna ait normal karaciğer yapısı, (hematoksilen-eozin, X48).



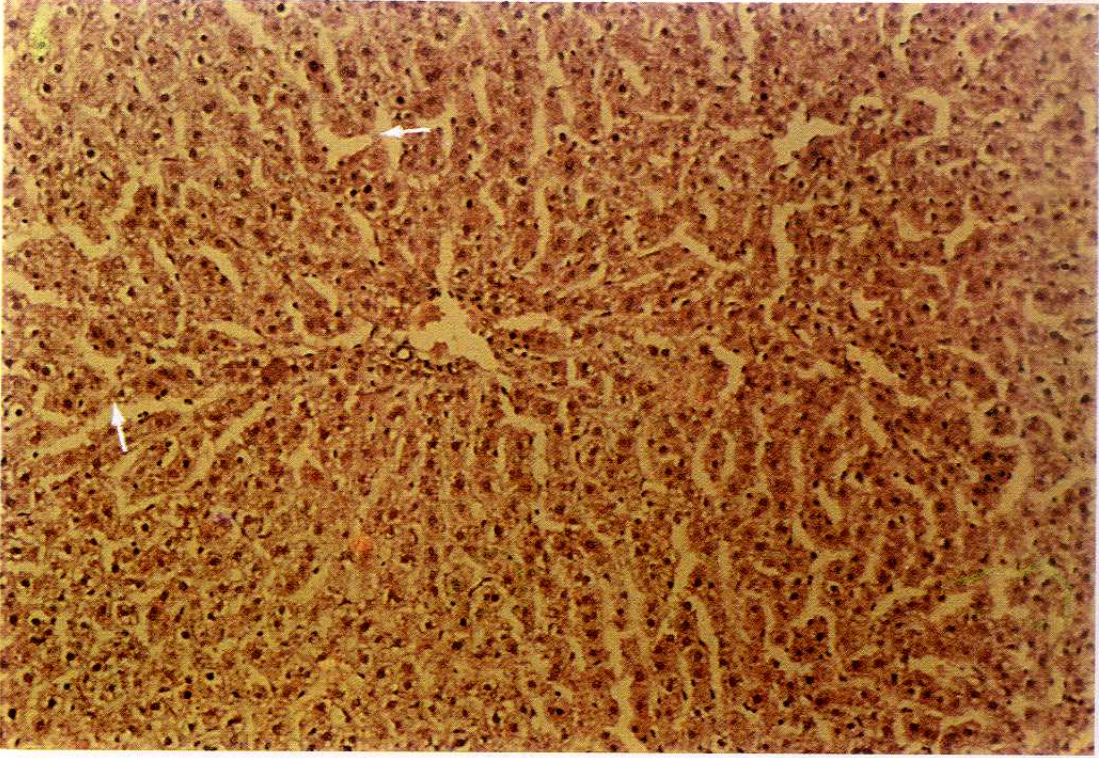
Şekil 2. Kontrol grubu böbrek (hematoksilen-eozin, X48).



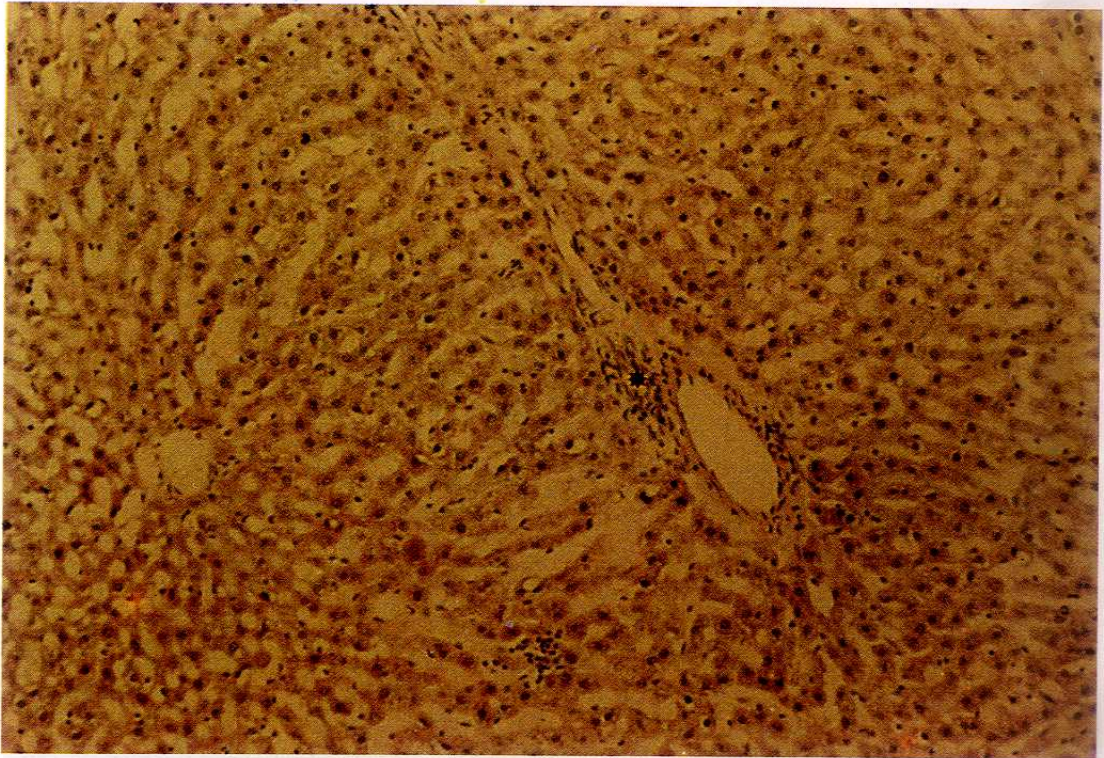
Şekil 3. Kontrol grubuna ait dalak (hematoksilen-eozin, X120).



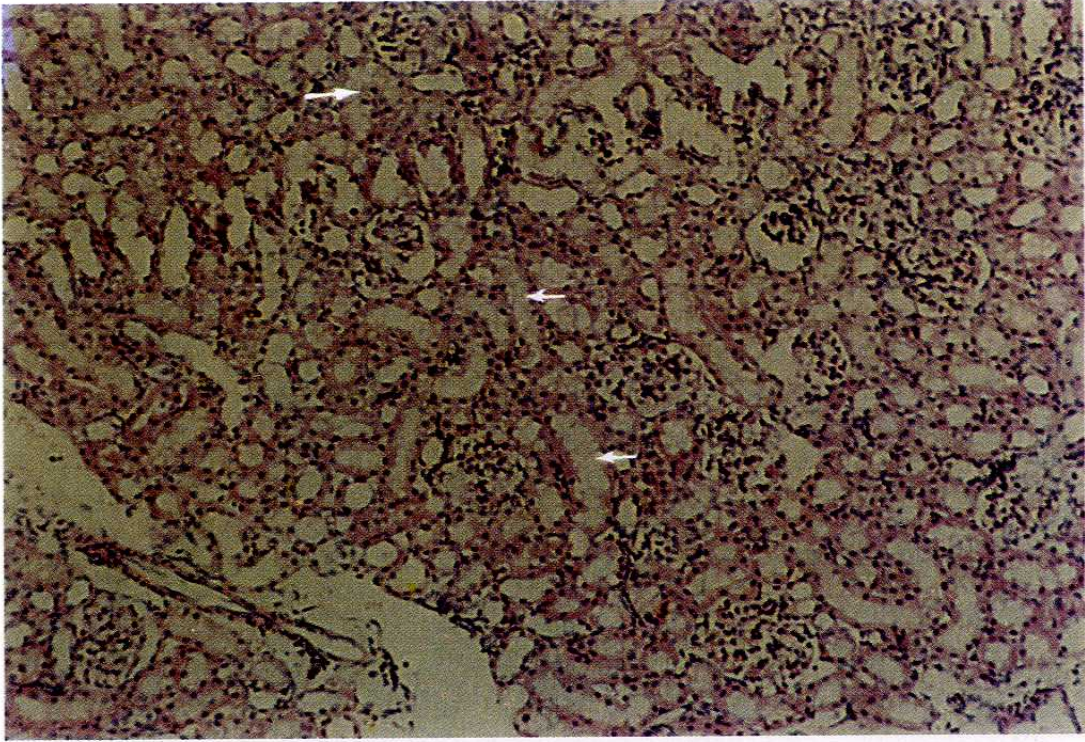
Şekil 4. Kontrol grubuna ait testis (hematoksilen-eozin, X120).



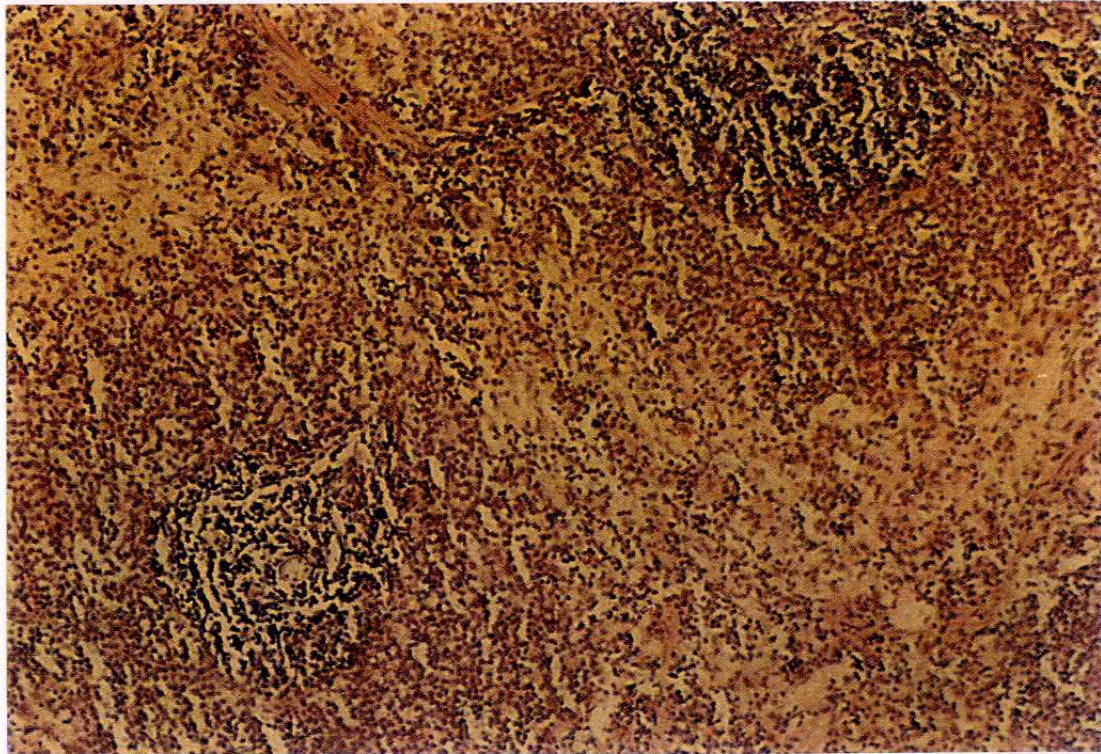
Şekil 5. Flor uygulanmış karaciğerde sinuzoidal dilatasyon (ok) (hematoksilen-eozin, X48).



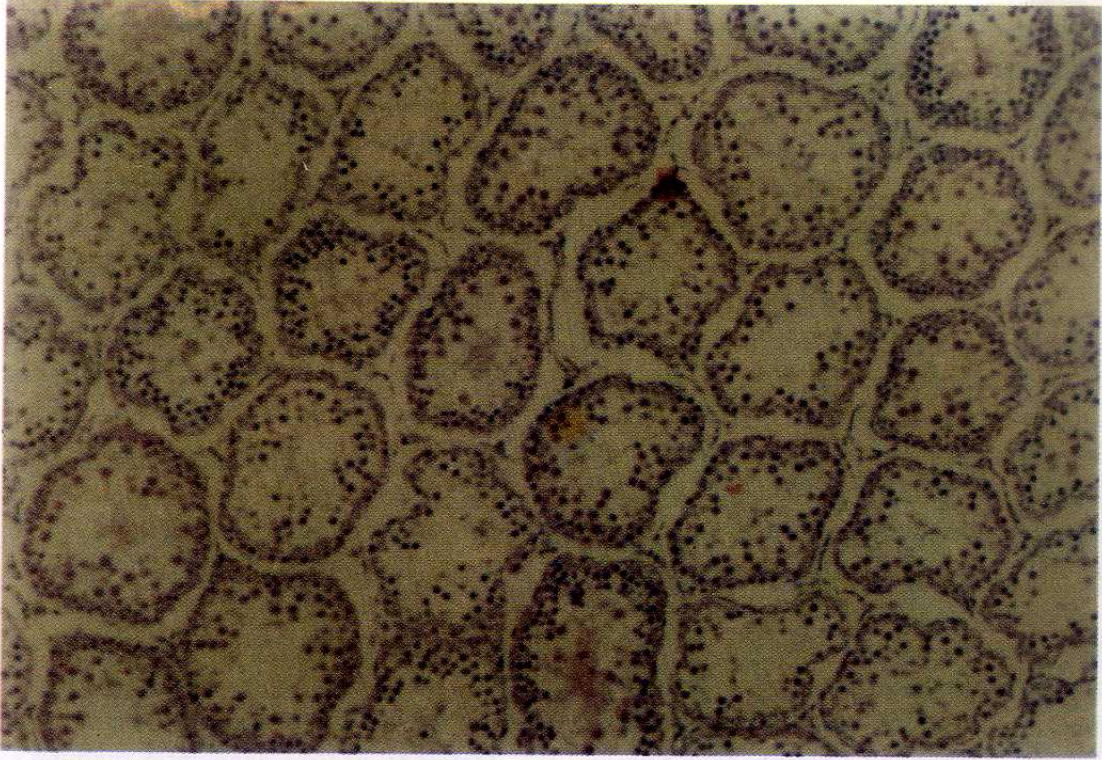
Şekil 6. Deney grubuna ait karaciğer. Portal alanda lenfosit infiltrasyonu (yıldız) (hematoksilen-eozin, X120).



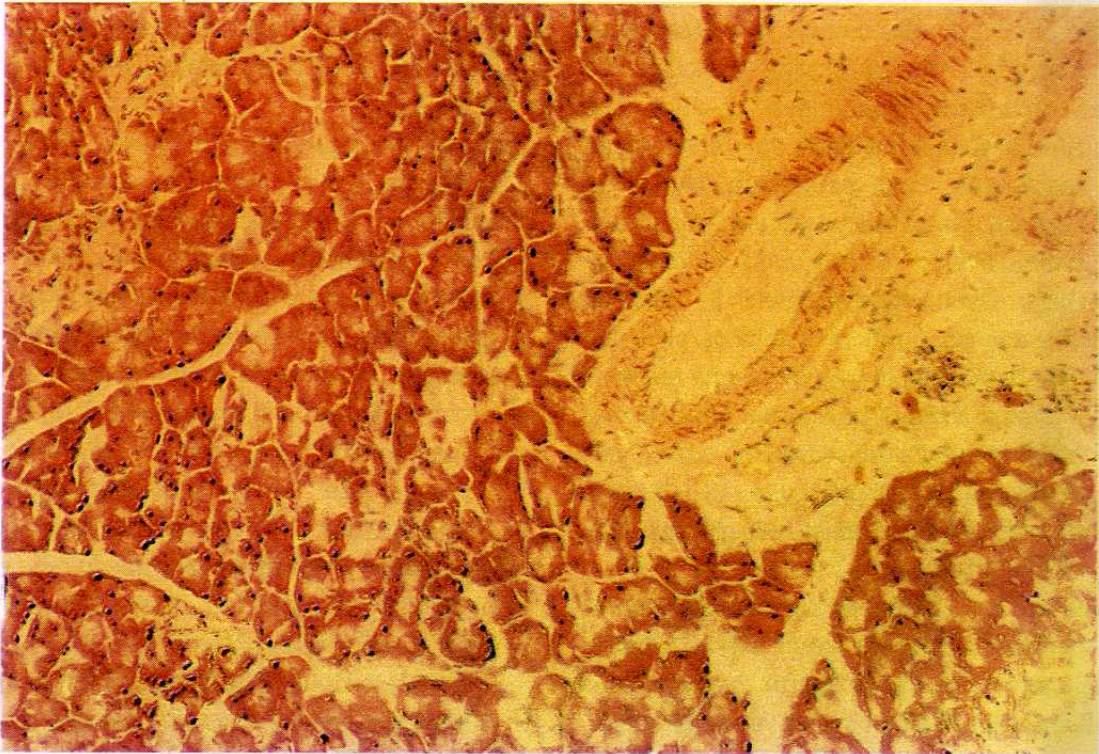
Şekil 7. Deney grubuna ait böbrekte tubulustarda minimal hidropik dejenerasyon (ok)
(hematoksilen-eozin, X48).



Şekil 8. Deney grubuna ait dalak yapısı (hematoksilen-eozin, X120).



Şekil 9. Deney grubuna ait testiste normal yapıya uygun bir görünüm izlenmekte (hematoksilen-eozin, X120).



Şekil 10. Deney grubu pankreasında normal yapıya uygun görünüm. (Hematoksilen-eozin, X48).

madı (Şekil 7). Deney grubundaki dalak, ovaryum, testis ve pankreas kesitlerinde ise herhangi bir patolojiye rastlanmadı. (dalak; Şekil 8, testis; Şekil 9, pankreas; Şekil 10).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Daha önce yapılan çalışmalarda; içme suyunda bulunan florun belli miktarda faydalı olmasına karşın, gerek tarımdan gerekse çevre kirliliğinden kaynaklanan yüksek dozlarda alımında iskelet sistemi, karaciğer, böbrek, testis ve ovaryum da morfolojik düzeyde değişikliklere yol açtığı bildirilmektedir (1, 2, 5-7). Yüksek dozlarda alınan florun dokularda oluşturduğu yapısal hasarların açıklanmasında daha önce yapılan çalışmalarda şu konulara yer verilmiştir. Orbitalinde bir ya da daha fazla çiftlenmemiş elektron taşıyan halojen atomlar dan olan flor, serbest radikal olarak tanımlanmaktadır (17-19). Bunun yanında dokularda radikal reaksiyonlarını kontrol ederek belli bir düzey üstüne çıkmasını engelleyen antioksidan unsurlarda bulunmaktadır. Canlılar bu radikal atakları ile karşılaştıklarında bu gelişmeyi nötralize edecek antioksidan komponentler aşılırsa, geri dönüşümsüz bir hasarlanmaya maruz kalırlar (18, 20). Flor'un hücrelerde radikal oluşumu ve reaksiyonlarını artırarak oksidatif strese yol açtığı ve sonuçta lipit peroksidasyonu oluşturduğu ifade edilmektedir (21, 22). Bu durum membran harabiyetine sebep olur, serbest oksijen radikalleri ise antioksidan enzimlerle giderilmeye çalışılır (23). Çalışmamızda da yüksek miktarda flor verilen sıçan karaciğer kesitlerinde, lobul periferinde fokal sinuzoidal dilatasyonlar, portal alanda yer yer lenfosit infiltrasyonu, hepatositlerde az miktarda hidropik ve vakuoler dejenerasyon gözlemlendi (Şekil 5, Şekil 6). Böbrek kesitlerinde ise, gerek proksimal gerekse distal tubuluslarda hafif hidropik dejenerasyona rastlandı (Şekil 7). Çalışmamızda karaciğerde ve böbrekte gözlediğimiz bu yapısal değişikliklerin, daha önce yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi (17-19) florun bu dokularda oluşturduğu serbest radikallerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kessabi ve ark. (12)'nin koyunlarda yapmış olduğu çalışmada, 4.7 mg/kg florun böbrek tubuluslarında dejenerasyona, karaciğerde hepatositlerde hidropik ve vakuoler dejenerasyona yol açtığını belirtilmektedir. Lavrushenko LF ve ark. (15) ise florun, hepatosit yapılarında önemli histo-patolojik değişikliklere neden olduğunu göstermişlerdir. Günde altı saat süre ile 300 ppm dozunda olmak üzere haftada 5 gün

ve toplam 13 hafta süflürlü floridin sıçanlara inhale ettirilmesini takiben böbrek tubuluslarında hafif derecede dejenerasyonların olduğu gösterilmiştir (14). İnsanlarda içme suyunda 8 mg/l floridin alınmasında böbrek hastalığı ve yetmezliğinin gelişmediği, buna karşın deney hayvanlarında 1-5 mg/l florid verilmesinde böbrekte önemli yapısal değişikliklerin gözlemlendiği belirtilmektedir (13). Çalışmamızda da karaciğer ve böbrek dokularında gözlediğimiz yapısal değişikliklerin daha önce yapılan çalışmalardaki (12-15) sonuçlara paralellik gösterdiği tespit edildi.

Daha önce yapılan deneysel çalışmalarda testiste değişik düzeyde yapısal değişikliklerin gözlemlendiği belirtilmektedir (8). Tsunenari ve ark. (8) yüksek doz flor verilen immatür tavşanlarda seminifer tubullerin gerilediğini ve çok çekirdekli dev spermatit hücrelerin oluştuğunu bildirmiştir. Direk testis içerisine 150, 175 ve 250 ppm flor injeksiyonunun seminifer tubullerde hasara yol açtığı fakat leydig hücrelerinin etkilenmediği rapor edilmektedir (9). İçerisinde 50 mg/kg/gün flor ihtiva eden suyu 100 gün alan sıçanların testisinde spermatogenesisin durduğu ve seminifer tubullerin nekroze olduğu bildirilmektedir (6). Çalışmamızda yüksek doz flor uygulanan sıçanların testis dokusu ile kontrol grubundaki testis dokusu arasında yapısal bir patolojiye ve farklılığa rastlanmadı. Ayrıca çalışmamızda da daha önceki çalışmalarda (6, 8, 9) belirtilen testis bulgularına rastlanmadı.

Shashi T (6) 100 gün süreyle 10-20 mg/kg florid içeren su verilen tavşanların ovaryum foliküllerinde konjesyon, folikül hücrelerinde nekroz ve interstisyel ödem gözlemlendiğini bildirmektedir. Shashi T (6) flor dozunun 50 mg olunca foliküllerin tamamen atrofiye gittiğini, oositlerin nekrozla birlikte ayrıldığını, parçalandığını, interstisyel dokuda monosit, lenfosit ve histiyosit infiltrasyonunun gözlemlendiğini rapor etmektedir. Çalışmamızda ise deney grubunda ovaryum dokusunda da herhangi bir patolojiye rastlanmadı. Çalışmamızda testis ve ovaryum dokularında yapısal değişikliklerin görülmemesi nedeninin, muhtemelen uyguladığımız doza ve deney hayvanı farklılığına bağlı olabileceği düşünüldü.

Yapmış olduğumuz literatür araştırmasında toksik dozda flor verilen deneysel çalışmalarda dalak ve pankreas dokusu üzerinde herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Çalışmamızda yüksek dozdaki florun bu dokularda herhangi bir yapısal değişiklik meydana getirmemesi, muhtemelen florun dalak ve pankreas

gibi immun ve endokrin dokularda daha az serbest radikal oluşturması şeklinde açıklanabilir. Sonuç olarak yaklaşık 100 gün süreyle 150 ppm/kg/gün vücut ağırlığında verilen florun başta karaciğer olmak

üzere daha sonra böbrek dokusu üzerinde minimal düzeyde yapısal değişikliklere yol açarken; testis, ovaryum, dalak ve pankreas dokusu üzerine ise önemli bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Chavasieux P, Meunier PJ. Benefits and risks of fluoride supplements. *Arc Pediatr* 1995; 2: 568-572.
2. Walon K.C. Environmental Fluoride and Fluorosis in Mamal Rev.1981; 18: 77-90.
3. Blood D.C, Henderson J.A. *Veterinary Medicine*. 8th Edition. Ballrere, Tindall, London, 1990.
4. Smith GE. Fluoride and fluoridation. *Soc. Sci Med* 1988; 26: 451-462.
5. Shashi T, Sing JP. Pulmonary damage caused by fluoride in rabbits during experimental fluorosis. *APMIS* 1988; 96: 333-6.
6. Shashi T. Histopathological changes in rabbit ovary during experimental fluorosis. *Indian J Pathol Microbiol* 1990; 33: 113-7.
7. Shashi T, Kaur D. Testicular proteins and DNA in experimental fluorosis. *Indian J Pathol Microbiol* 1992; 35: 351-6.
8. Tsunenari I, Kast A. Developmental and regressive changes in the testes of the Himalayan rabbit. *Lab Anim* 1992; 26:167-179.
9. Sprando RL, Black TN, Ames MJ. Effect of intratesticular injection of sodium fluoride on spermatogenesis. *Food Chem Toxicol* 1996; 34: 377-84.
10. Yuan SD, Song KQ, Xie QW, Lu FY. An experimental study of inhibition on lactation in fluorosis sığans. *Sheng Li Xue Bao* 1991; 43: 512-7.
11. Susheela AK, Sharma YD. Chemical profile of blood in fluoride toxicity. III. Plasma fibrinogen levels in rabbit. *Toxicol Eur Res* 1981; 3: 105-7.
12. Kessabi M, Hamliri A, Braun JP. Experimental fluorosis in sheep: alleviating effects of aluminum. *Vet Hum Toxicol* 1986; 28: 300-4.
13. Kaminsky LS, Mahoney MC, Leach J, Melius J. Fluoride: benefits and risks of exposure. *Crit Rev Oral Biol Med* 1990; 1: 261-81.
14. Mattsson JL, Albee RR, Eisenbrandt DL, Chang LW. Subchronic neurotoxicity in sığans of structural fumigant, sulfuryl fluoride. *Neurotoxicol Testiçanol* 1988; 10: 127-33.
15. Lavrushenko LF, Trunov VI, Okunev VN. Morphofunctional characteristics of certain sığan liver hepatocytic ultrastructures during prolonged exposure to sodium fluoride. *Tsitol Genet* 1980; 14: 10-2.
16. Tsukamoto C, Towner J. Ethanol-induced liver fibrosis in sığans fed high-fat diet. *Hepatology* 1986; 6: 814-22.
17. Aslan R, Şekeroğlu MR. Serbest radikal türlerin membran lipid peroksidasyonuna etkileri ve hücrenel antioksidan savunma. *Sağlık. Bil. Derg.* 1995; 2: 137-42.
18. Byung PY. Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological Reviews* 1994; 74: 139-72.
19. Harris ED. Regulation of antioxidant enzymes. *Faseb Jour* 1992; 6: 2675-83.
20. Aslan R. Homeostatik mekanizmanın korunması ve sağalimde antioksidanlar. *İlaç Tedavi Der.* 1999; 8: 475-81.
21. Aslan R, Şekerođlu MR. Blood Lipoperoxidation and antioxidant enzymes in healthy individuals. *J. Environ. Sci. Health* 1997; 32: 2101-9.
22. Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working ? *Critical Rew. Food. Sci. And Nutrit* 1995; 35: 21-39.
23. Greene DA. Acute and chronic complications of diabetes mellitus in order patients. *Am. J. Med.* 1980; 80: 39-53.