GİBERELLİK ASİT VE BENZPİREN'İN FARELER ÜZERİNE ETKİLERİ
(Histopatolojik Değerlendirme)

[1]Dr. Hüseyin ÜSTÜN, [2]Dr. Tülay TECİMER, [3]Murat ÖZMEN,
[4]Dr. Nihat BOZCUK, [5]Fatih TOPÇUOĞLU

ÖZET

Çalışmada bir bitki hormonu olan Giberellik asit (GA^3) ve karsinojen ajan olan Benzpiren (BP)'in farelerdeki etkileri histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. İçme suyuna katılarak verilen bu maddelerin, incelenen karaciğer, böbrek, testis ve over örneklerinde tümör oluşturmadığı, ancak deney gruplarında grubun özelliğine göre değişen oranlarda karaciğerde mikroabse odakları, hidropik dejenerasyon ve böbrekte mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonuna neden olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Giberellik asit, Benzpiren, fare deneysel modeli.

SUMMARY

This study was designed to search for the effects of Giberellic acid and Benzo (a) pyrene on mice histopathologically. No tumor was detected in the liver, kidney, testes and ovary of mice feeding with Giberellic acid and Benzo (a) pyrene. But, in the experimental groups microabscess and hidropic degeneration in the liver and mononuclear inflamatory infiltration in the kidney were determined.

Key Words: Giberellic acid, Benzo (a) pyrene, mice experimental model.

GİRİŞ

Günümüzde insanlığın kullanımına sunulmuş binlerce kimyasal madde bulunmaktadır. Bu maddelerin bir kısmı yiyecek ve içeceklerimizde ya da günlük olarak kullandığımız eşyalarımızda yaygın olarak bulunmaktadır.

Genel olarak kabul edilen bir görüşe göre kimyasal maddelerin bir bölümü canlılar üzerinde etkilerini doğrudan doğruya gösterirken, bir kısmı da sekonder metabolitlerinin etkisiyle ya da başka maddelerin etkisini arttırarak göstermektedir (1).

Hayvanlarda olduğu gibi bitkilerde de yaşamsal faaliyetleri etkileyen birçok maddenin varlığı bilinmektedir. Bu maddelerden bir kısmı bitki büyüme ve gelişmesini etkileyen maddeler olup bunlar genel olarak bitki hormonları adı ile anılmaktadır. Bu maddeler günümüzde tarımsal alanda yaygın olarak, bitki verimini artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Ancak bu maddelerin hayvanlar üzerindeki etkileri kesin olarak bilinmemektedir (2,3,4,5).

Bir kurbağa türü olan Bufo regularis üzerinde GA^3'in etkisi ile ilgili olarak yapılan bir araştırmada bu maddenin kurbağa karaciğerinde hepatosellüler karsinom oluşturduğu saptanmıştır (4).

Diğer taraftan, polisiklik aromatik hidrokarbonlar grubunda yer alan BP'nin oksidasyon sonucu dönüştüğü 7,8-dihydrodiol-9, 10-epoxit DNA ile kovalent olarak bağlanmakta ve sonuçta mutajen ve karsinojen etki oluşturmaktadır. Ayrıca fare derisine direk sürüldüğünde bir süre sonra cilt kanseri oluştuğu bilinmektedir (8). Ellipticine gibi çeşitli maddeler ise BP'in bu potansiyel karsinojenik etkisini azaltmakta ve bu olayda sitokrom P450 enzim sistemi ile etkileşim önemli bir rol oynamaktadır (9).

Kimyasal karsinojenezin kontrolünde yeni bir yaklaşım ve ümit verici bir yol hücreye yönelik karsinojenik hasarın önlenmesidir (8,9).

Bu araştırmada bitki hormonu olarak tarımda yaygın şekilde kullanılan ve hayvanlar üzerine etkisi kesin olarak bilinmeyen GA^3 ile potansiyel bir mutajenik, karsinojenik madde olan BP'in, bu maddeleri

1 İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Yardımcı Doçenti
2 İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi
3 İnönü Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Araştırma Görevlisi
4 Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Profesörü
5 İnönü Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Araştırma Görevlisi

içeren besin ile beslenen farelerdeki etkisi araştırılmıştır.

Çalışmada, mutajenik ve karsinojenik etkisi iyi bilinen bir madde olan BP'in ve özellikle hayvanlar üzerindeki etkileri tam olarak bilinmeyen GA^3'in besinle oral yolla verilmesini takiben oluşan etkilerin karşılaştırmalı olarak histopatolojik açıdan incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deneyde kontrollu olarak üretilen 10 haftalık Swiss albino fareler (Mus musculuss) kullanıldı. Deney grupları; her kafese 4 dişi ve 1 erkek fare olacak şekilde, kontrol grubu, GA^3 grubu, BP grubu ve GA^3-BP grubu şeklinde hazırlandı. Fareler 15 gr/fare/gün olacak şekilde fare yemi ile yemlendiler. Ancak farelerin kullandığı içme suyuna grubun özelliğine göre 100 mg/lt GA^3 ve 20 mg/lt BP eritilerek ilave edildi. Kontrol grubuna ise çeşme suyu verildi.

Deney sürerken hayvanların çiftleşmesi ve gebe kalmalarına izin verilerek üremeleri sağlandı. F1 bireylerin doğumunu takiben erkek ebeveynler kafesten alındı. GA^3 ve GA^3-BP grubu hayvanlara, F1 bireylerinin ergin hale gelmesi için geçen 12 haftalık süre sonuna kadar bu madde karışımı toplam 17 hafta süre ile verildi. BP deney grubunda ise BP karışımlı çeşme suyu 5. hafta sonunda yavru doğumunu takiben kesilerek, ebeveyn ve yavrulara çeşme suyu verildi.

Deney sonunda gerek dişi ebeveynler gerekse F1 bireyler servikal dislokasyon ile öldürülüp karaciğer, böbrek testis ve ovaryumları alınarak formalinde tesbit edildi. Parafin takipten sonra 5 mikronluk kesitler yapılarak hazırlanan preparatlar Hematoksilen-Eosin ile boyanarak incelendiler.

BULGULAR

Çalışmada, kontrol, GA^3,BP ve GA^3-BP grubunda yer alan farelerin karaciğer, böbrek, testis ve over doku örnekleri tümoral gelişim, iltihabi hücre infiltrasyonu, nekroz, hidropik dejenerasyon ve konjesyonun varlığı açısından değerlendirildi. Hiçbir doku örneğinde herhangi bir tümoral gelişim saptanmadı. Testis ve overlerde herhangi bir patolojik durum izlenmedi. Karaciğer ve böbreklerde grupların dejenerasyon ve mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu saptandı (Tablo 1).

GA^3 verilen 10 farenin karaciğerinden hazırlanan doku örnekleri incelendiğinde 10'unda da mikroabse varlığı saptandı. Bu bulgu 4'ünde daha belirgindi (++). Hidropik dejenerasyon tümünde mevcuttu. Örneklerin 2'sinde daha belirgin olarak gözlendi (++). Böbreğe ait örneklerin 5'inde (++), 4'ünde (+) olmak üzere pelvis ve interstisyumda

Tablo-1: Histopatolojik Bulguların Dağılımı

	KARACİĞER						BÖBREK		
	Mikroabse			Hidropik dej.			İltihabi İnfiltr.		
	-	+	++	-	+	++	-	+	++
Kontrol (n = 10)	0	3	7	7	3	0	10	0	0
GA3 (n = 10)	0	6	4	0	8	2	1	4	5
BP (n = 10)	7	3	0	0	2	8	8	1	1
GA3-BP (n = 5)	0	3	2	0	0	5	0	0	5
TOPLAM (n = 35)	7	15	13	7	13	15	19	5	11

mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu saptandı. Örneklerin 1'inde ise bu bulgu tesbit edilmedi.

BP grubuna ait 10 farenin karaciğer örneklerinin 3'ünde mikroabse izlendi. örneklerin 7'sinde ise bu bulgu gözlenmedi. Hidropik dejenerasyon 2'sinde (+), 8'inde ise (++) olarak saptandı. Böbreğe ait örneklerin 2'sinde mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu izlendi.

GA^3-BP grubundaki 5 farenin karaciğer örneklerinin 3'ünde (+), 2'sinde ise (++) mikroabse varlığı saptandı. Hidropik dejenerasyon tümünde belirgindi (++). Böbreğe ait örneklerin tümünde mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu belirgindi (++).

Kontrol grubuna ait 10 farenin karaciğer örnekleri incelendiğinde ise 3'ünde hafif hidropik dejenerasyon (+) gözlendi. Böbreklerin değerlendirilmesinde ise bir patoloji saptanmadı.

Karaciğerde gözlenen mikroabse odaklarında hepatositlerin çoğunun tamamen ortadan kalktığı, bazılarının yuvarlak hyalin cisimcikler şeklinde görüldüğü, yerlerini nötrofil lökositler ve nekrotik hücre kırıntılarının aldığı izlendi (Resim 1). Bu odakların daha büyük hepatosit gruplarını ortadan kaldırdığı ve daha fazla sayıda olduğu örnekler (++) olarak değerlendirildi (Resim 2).

Hidropik dejenerasyon izlenen hepatositlerin sitoplazmasında düzensiz görünüm, küçük vakuoler boşluklar ve küçük globüler yoğunlaşmalar gözlendi (Resim 3). Bu değişikliklerin şiddeti ve yaygınlığına göre olay (+) ve (++) olarak değerlendirildi.

Böbreklerden hazırlanan örneklerin bir kısmında izlenen iltihabi hücre infiltrasyonu interstisyumda perivasküler mesafede ve pelviste belirgindi (Resim 4).

TARTIŞMA

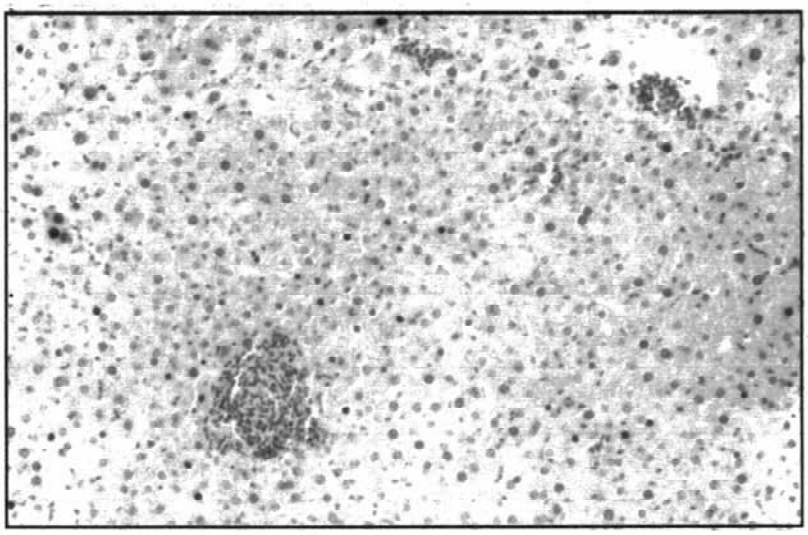
Günümüzde tarımsal alanlarda yaygın olarak, ürün verimini artırmak için kullanılan GA^3 gibi bitki hormonlarının hayvanlar üzerindeki etkileri kesin olarak bilinmemektedir (2,3,4,5).

Bitki büyüme ve gelişmesini hızlandırdığı için sıklıkla kullanılan GA^3'in hayvanlar üzerindeki etkisi ile ilgili çalışmalardan birine göre, bazı çekirge türlerinde larva evresinde GA^3'in gömlek değiştirmeyi teşvik ettiği ve buna bağlı olarak gelişimi hızlandırdığı rapor edilmiştir (6).

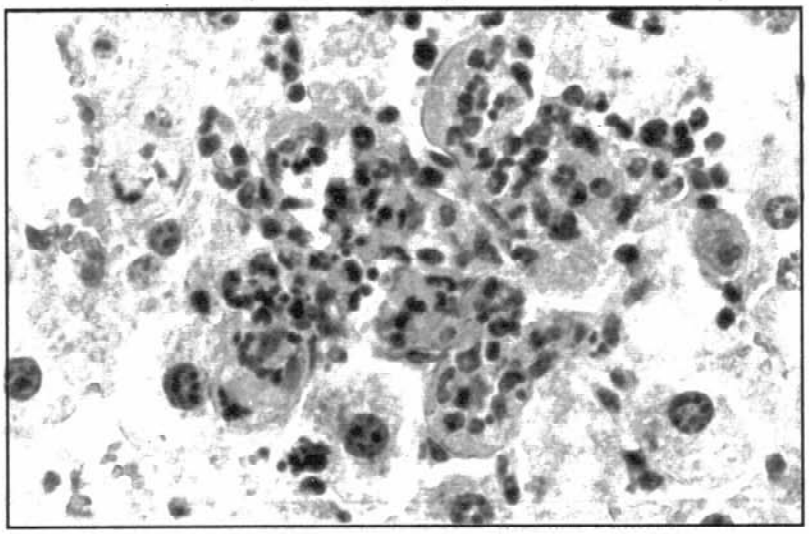
Bir çalışmada 50 adet Bufo regularis türü kurbağaya 5 ay süresince 10 ppm/gün GA^3 içeren su verilmiş ve 8 (%16)'inde hepatosellüler karsinom geliştiği gözlenmiştir. Ayrıca 2 kurbağada over, diğer ikisinde de böbrek metastazı saptanmıştır (4).

Diğer taraftan bitki büyüme regülatörlerinin rat, kobay, tavşan, kedi ve köpek gibi hayvanlar üzerinde toksik etkisi olmadığı rapor edilmiştir (6,7).

Başka bir araştırmada rat ve domuz beyninde bir bitki hormonu olan Absisik asit bulunmuş ve bunların beyinde bir mediatör olarak rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (10).



Resim 1 : *Karaciğerde mikroabse odakları görülmektedir (HE X 100).*



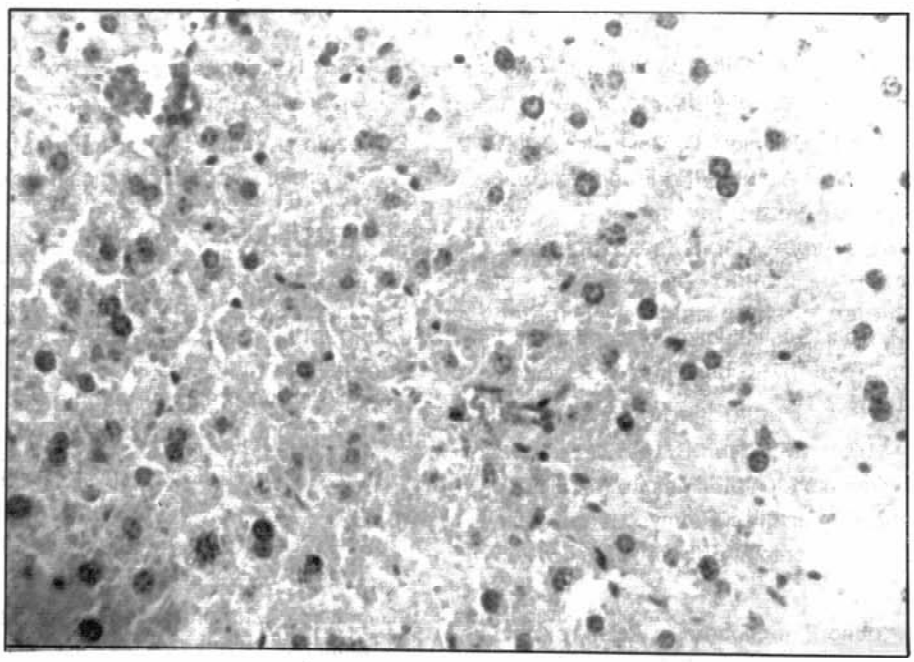
Resim 2 : *Karaciğerde mikroabse odağında hepatositlerin nötrofil lökositler tarafından ortadan kaldırıldığı ve arada hücre artıkları ile hiyalin cisimcikler görülmektedir (HE X 400).*

Bitki hormonlarının memeli immün sistem hücreleri üzerindeki etkileri ve etki mekanizması da tam olarak bilinmemektedir. Bir çalışmada GA^3 ile beslenen farelere virus verildiğinde vireminin daha erken ve sık görüldüğü saptanmış ve GA^3'in immünmodülatör özelliği olduğu bildirilmiştir (5).

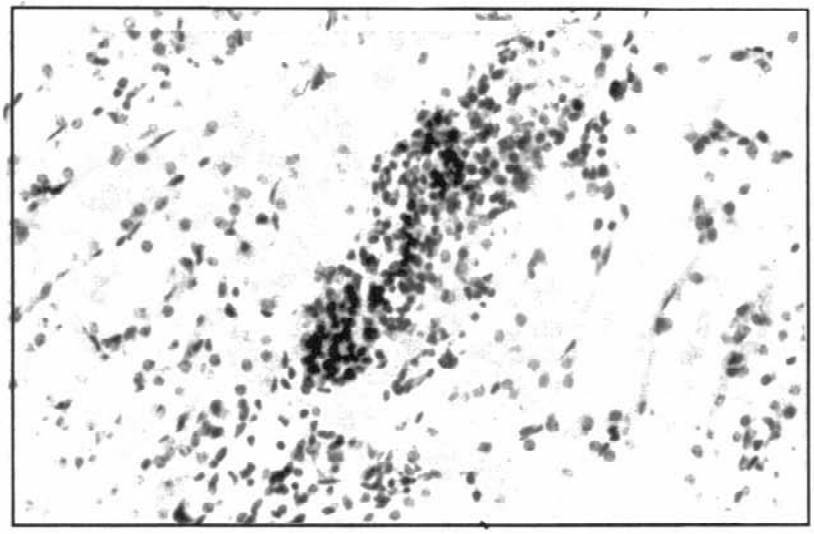
Bizim çalışmamızda da GA^3 ile beslenen farelerde, karaciğerde mikroabse odakları ve böbreklerde iltihabi hücre infiltrasyonu belirgin olarak gözlenmiştir GA^3'in farelerde direnci düşürdüğü ve infeksiyona zemin hazırladığı düşünülebilir.

Bir çalışmada farelere bir bitki hormonu olan 2,4-D verilmiş ve farelerin karaciğer ve böbreklerinde şiddetli infeksiyon bulguları saptanmıştır (11).

Diğer bir açıdan, bitki gelişme inhibitörlerinin de memeli hücrelerine etkisi tartışmalı bir konudur ve memelilerde bazı tümörlerin gelişmesini inhibe edebildikleri ileri sürülmüştür (12).



Resim 3 : *Karaciğerde, hepatositlerde hidropik dejenerasyon görülmektedir (HE X 200).*



Resim 4 : *Böbrekte, interstisyumda belirgin mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu görülmektedir (HE X 200).*

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar grubunda yer alan BP'in cilde direk sürüldüğünde cilt kanseri geliştirdiği bilinmektedir (8). Çalışmada, bu maddenin GA^3 ile birlikte, oral yolla farelere verildiğinde herhangi bir tümör gelişmediği, sadece toksik etki ile hepatositlerde hidropik dejenerasyon oluşturduğu saptanmıştır. GA^3-BP grubunda hepatositlerdeki hidropik dejenerasyonun şiddetli ve yaygın olduğu gözlenmiştir.

Tarımda yaygın olarak kullanıldığından, yediğimiz besinlerle birlikte sıklıkla aldığımız bu hormonların etkisinin daha detaylı bir şekilde anlaşılabilmesi için, değişik deney hayvan gruplarında daha ileri çalışmaların yapılmasının yararlı olacağı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Bağcı H. TÜBİTAK Moleküler Biyoloji Yaz Okulu Kitabı. ODTÜ Basımevi, 1985; 10-21.
2. Darnell J, Lodish H, Baltimore D. Molecular Cell Biology. 2nd ed. New York: W.H. Freeman, 1986; 707-710.
3. Devlin RM. Plant Physiology. New York: Ranhold, 1966; 320-336.
4. El-Mofty MM, Sakr SA. Induction of neoplasms in the Egyptian Toad by Giberellin A3. Oncology 1988; 45: 61-64.
5. Fairbrother A, Yuill TM. Olson LJ. Effects of three plant growth regulators on the immune response of young and aged deer mice Promyscus maniculatus. Arch. Environ. Contam. Toxicol 1986; 15: 265-275.
6. Kimura ET, Young PR. Gibberellic Acid: Toxicologic and Pharmacologic studies. J Am Pharm Assoc 1959; 41: 127-129.
7. Peck HM, McKenney SE. Toxicologic evaluation of Gibberellic Acid. Science 1957; 126: 1064-1065.
8. Özalp Ü. Kimyasal Karsinojen Maddeler ve Hücresel etkileri. Acta Oncologica Turcica 1988; 21: 166-192.
9. Lesca P. Lcointe P, Paoletti C. Ellipticines as potent inhibitors of aryl hydrocarbon hydroxylase. Biochem Pharm 1977; 27: 1203-1209.
10. Chen FS, MacTaggart JM. Analysis of Abscisic Acid in the brains of rodents and ruminants. Agric Biol Chem 1988; 52: 1273-1274.
11. Bucher NL. Effects of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid on experimental animals. Publication No. 622 of the Cancer Commision of Harvard University: 1990; 204-205.
12. Garb S. Differential Growth-Inhibitors produced by plants. Botanical Review 1990; 15: 423-443.