

ARAŞTIRMA MAKALESİ /RESEARCH ARTICLE

BORUN SIÇAN TESTİS DOKUSUNA ETKİLERİ

Dilek BURUKOĞLU¹, Cengiz BAYÇU²

ÖZ

Bor (B); hücre membran fonksiyonu, mineral ve hormonal metabolizma ve enzim reaksiyonlarında rol oynayan önemli bir iz elementtir. Bu nedenle B; osteoporoz, kalp rahatsızlığı, felç, diyabet, yaşlanma ve özellikle üreme sistemindeki bazı değişiklikler ile de ilişkilidir. Testisin B'dan en fazla etkilenen organlardan biri olduğu bilinmekte ancak bu konuda mikroskopik düzeyde yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda, kronik olarak boraks uygulamasının sıçan testisi üzerindeki etkileri mikroskopik düzeyde incelenmiştir.

Bu çalışmada 250-300 gr ağırlığında 14 adet erkek albino Spraque-Dawley türü sıçan kullanıldı. Bu deneklerden 7 sıçan kontrol grubu olarak, 7 sıçan ise deney grubu olarak ayrıldı. Deney grubundaki sıçanlara 70 gün süreyle içme sularında 300 mg/L boraks verildi. 70. gün sonunda sıçanlar intraperitoneal yolla pentobarbital (65mg/kg) anestezisi verilerek kurban edildi ve sıçanların sağ ve sol testis dokuları alındı. Alınan dokular rutin ışık ve elektron mikroskopik takipleri yapılarak incelendi.

Mikroskopik incelemelerde kontrol grubunda bazal lamina, seminifer tübül yapıları, interstisyel alan ve bu alanda bulunan Leydig hücreleri normal yapıda gözlemlendi. Boraks uygulanan deney grubunda ise spermatogoniumlarda vakuolizasyon ve residual yapıların sayıca arttığı gözlemlendi. Leydig hücrelerinde ise herhangi bir hasara rastlanmadı.

Çalışmamızda, boraksın uygulanan doz ve süreye bağlı olarak testiste ciddi bir hasar oluşturmadığı görüldü.

Anahtar Kelimeler : Boraks, Sıçan, Testis, Elektron mikroskop.

EFFECTS OF BORAX ON RAT TESTIS

ABSTRACT

Borax (B); is an important trace element playing a role in cell membrane functions, mineral and hormonal metabolisms and enzyme reactions. Consequently B; is at the same time related to osteoporosis, heart trouble, paralysis, diabetes, senility and particularly some changes on reproductive system. It is known testis is one of the organs that has been maximum affected from B, however there are not enough number of studies relevant with this subject at microscobic level. Therefore in our study, chronic borax application effects on rat testis are analysed at microscobic level.

In this study 250-300 gr weight of 14 male albino Spraque-Dawley type of rat are used. 7 rat as cotrol group, 7 rat as experimental group are separated from these subjects. 300 mg/L borax is given in their drinking water for 70 days duration to experimental group of rat. By the end of 70th day, rat are sacrificed by giving pentobarbital (65 mg/kg) anaesthesia with intraperitoneal via and right and left testis tissues of rat are taken. Taken tissues are analysed by doing routine light and electron microscobic follows.

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye.
E-posta: dburukoglu@gmail.com

In microscopic analyses within control group basal lamina, seminiferous tubule structures, interstitial area and Leydig cells found in this area are observed in normal structure. As in borax applied experimental group; numeric increase is observed as vacuolisation and residual structures in spermatogoniums. Any damage in Leydig cells hasn't been diagnosed also.

In our study, it is observed that borax has not formed any serious damage dependent on applied dosage and duration.

Keywords: Borax, Rat, Testes, Electron microscopy.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bor (B), 1828 - H. Day, L.J. Thenard, J.L. Gay-Lussac tarafından keşfedilmiş olup doğada tüm canlıların yaşantısını devam ettirmesi için vazgeçilmez elementlerden birisidir. B, doğada en çok Borat ve Borik asit olarak bulunmaktadır. Bor oksit ve Borik asit okyanuslardan buharlaşarak havaya karışmakta yağmur ve karla toprağa inip yeraltı ve yerüstü sularıyla doğaya yayılmaktadır (ATSDR, 2004; Erdoğan, vd., 2004; Heindel, vd., 1994; Şaylı, vd., 1998). B'un en çok bilinen türü olan Boraks çok eski devirlerden beri kullanılan bir iz elementtir. Mısırlılar ve Mezopotamya uygarlıklarının bazı hastalıkların tedavisi ve mumyalamada, Çinlilerin ise porselen cilalanmasında Boraks kullandıkları bilinmektedir (ATSDR, 2004; Fail, vd., 1991; Fukuda, vd., 2000). İnsanlar sebze ve meyve gibi yiyecekler yoluyla günlük yaklaşık 1 mg B tüketmektedirler. B ve bileşenleri tüm vücut sıvılarına yayılmaya eğilimlidirler. B'un biyolojik yarı-ömrü yaklaşık 21 saattir ve %95'i böbrekler tarafından süzülür. Günümüzde B kozmetik, farmakoloji ve endüstride yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlar arasında cam, kimya ve deterjan, seramik ve polimerik maddeler, metalurji ve inşaat, gıda ve tarım gibi alanlara ek olarak uzay ve hava araçları, askeri araçlar, füzeler, radarlar, iletişim teknolojileri, nano teknolojiler ve enerji alanlarını örnek verebiliriz. Günlük yaşamımıza girmiş olan cam, B'un kullanılmasıyla daha farklı bir boyuta gelmiştir. Borcam da bunlardan birisidir. B, camın ısıyla genişmesini önemli ölçüde indirgemekte ve titreşim, yüksek ısı ve ısı şokuna karşı direncini sağlayarak camın dayanıklılığını artırmaktadır. 2300°C de eriyen bir ametal olduğundan yüksek sıcaklığa karşı dayanıklı, esnek, hafif ve kolay üretilen B'lu malzemelerin bugün spor malzemelerinde (raketler, kayaklar vb), tekstil (kurşun geçirmez kumaşlar), izolasyon, otomotiv sanayi gibi pek çok alanlarda da kullanıldığını görmekteyiz (ATSDR, 2004, Murray, 1995; Şaylı, vd., 1998). Ayrıca B, krem, pudra ve deodorant gibi kozmetikler, diş macunu, merhem, deri ve göz hastalıkları antiseptikleri gibi ilaçların içinde de sıkça kullanılmaktadır. Son zamanlarda artrit tedavisinde kullanılmaya başlanan B bileşiklerinden

umut vaat edici sonuçlar elde edilmiştir. B'la ilgili olarak Türkiye ve dünyada yapılmış çalışmalar bulunmakla birlikte bu element daha çok ekonomik değeri nedeniyle hammadde olarak değerlendirilmektedir (Şaylı, vd., 1998, Weir ve Fisher 1972). Ancak ülkemize getirdiği stratejik öneminin yanı sıra bu kadar çok kullanım alanı olan B yüksek dozlarda ise bir toksin halini alabilmektedir (IPCS Environmental Health Criteria 204, 1998). Bu iz element, hücre membran fonksiyonu, hücresel sinyal transdüksiyonu, membran bütünlüğü, mineral ve hormonal metabolizma ve enzim reaksiyonlarında rol oynar. Bu nedenle B; osteoporoz, artrit, kalp rahatsızlığı, felç, diyabet, yaşlanmada, akut respiratör irritasyon ve özellikle üreme sistemindeki bazı değişiklikler ile de ilişkilidir (King, vd., 1991; Ku, vd., 1991; Ku, vd., 1993; Seal ve Weeth, 1980; Silaev, vd., 1977, Şaylı, vd., 1998). Testisler B'dan en fazla etkilenen organlardır. Yüksek dozdaki B, testis atrofisi ve dejenerasyonu sonucu infertiliteye neden olurken aşırı B yoğunluğu gebeliği bozmakta ve fötüse zarar verebilmektedir (Linder, vd., 1990; Treinen ve Chapin 1991). Ancak bu konuda mikroskobik düzeyde yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Tüm bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda B'un kullanılan süre ve dozda sıçan testisi üzerindeki etkisini ışık ve elektron mikroskobik düzeyde incelemeyi amaçladık.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

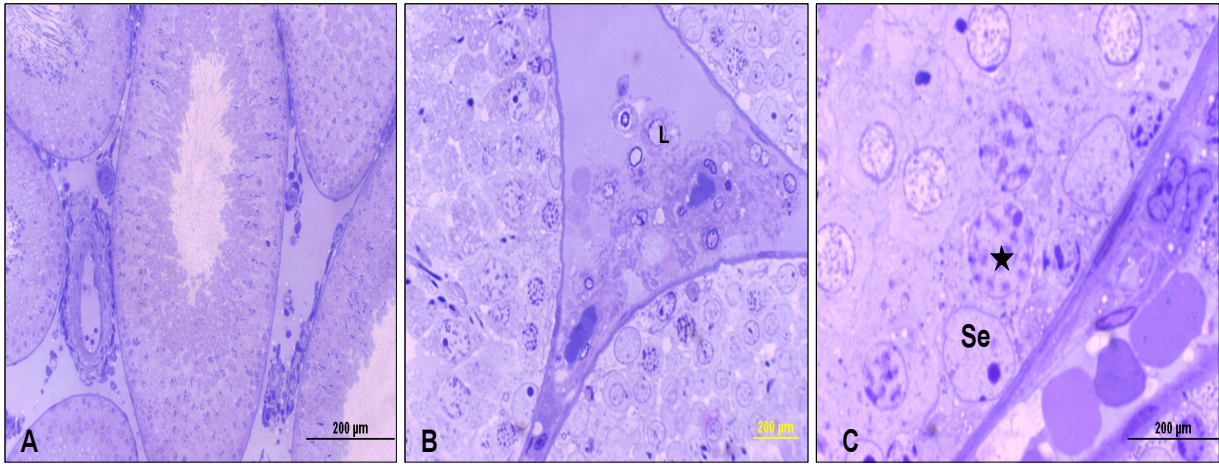
Bu çalışmada ağırlıkları 250-300 gr arasındaki 14 erkek albino Sprague-Dawley sıçan kullanıldı. Bu deneklerden 7 sıçan kontrol grubu olarak, 7 sıçan ise deney grubu olarak ayrıldı. Her bir sıçan ayrı ayrı kafeslere konuldu. Sıçanlara 70 gün süreyle içme sularında 300mg/L Boraks (Tekkim Kimya Sanayii, Na₂B₄O₇) verildi (ATSDR, 2004, Seal, ve Weeth, 1980). 70 gün sonunda sıçanlar intraperitoneal yolla pentobarbital (65mg/kg) anestezisi verilerek sakrifiye edildi ve sıçanların sağ ve sol testis dokuları alındı. Alınan dokular elektron mikroskobik inceleme için bir gece +5 C⁰ de %2.5 gluteraldehitte fikse edildi ve dokuların rutin elektron mikroskop takipleri yapıldı. Araldit

CY212 ile bloklanmış testis dokularından yarı ince kesitler alınarak toluidin mavisi ile boyandı ve ışık mikroskopik düzeyde Olympus DP-70 dijital kameralı Olympus BH-2 mikroskopta değerlendirildi. Bu değerlendirmede testislerde interstisyel alan ve seminifer tübül duvar yapılarına bakıldı. TEM incelemesi için alınan ince kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ikili boyamasından sonra JEOL-1220 Transmisyon Elektron Mikroskopta incelendiler.

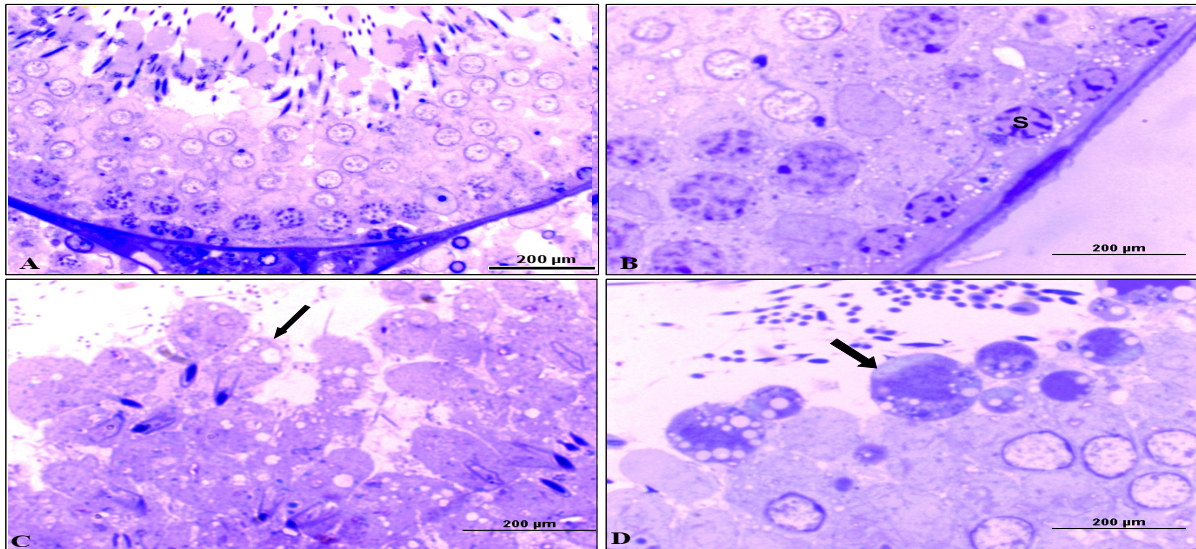
3. BULGULAR

Çalışmamızda kontrol grubunu oluşturan sı

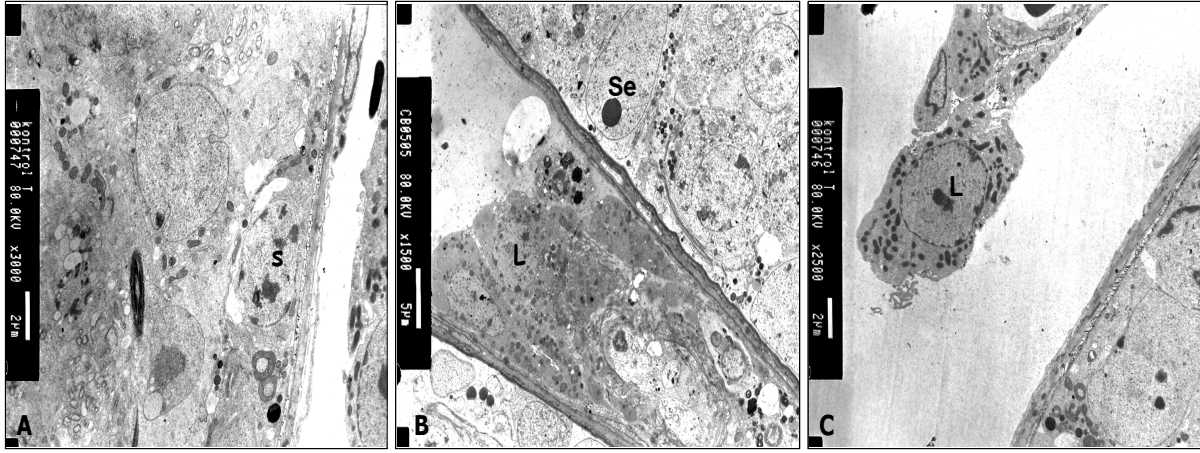
çan testislerinde gerek ışık gerekse elektron mikroskopik düzeyde yapılan incelemelerde bazal lamina, seminifer tübül yapıları, interstisyel alan ve bu alanda bulunan Leydig hücreleri normal yapıda gözlemlendi (Şekil 1A-C, 3A-C). Deney grubunu oluşturan sıçan testislerinde görülen değişiklikler daha çok seminifer tübül epitelindeki spermatogoniumlarda vakuolizasyon ve apikal bölgede residual yapıların sayıca artması şeklindeydi (Şekil 2A-D, 4A-C). Deney grubunu oluşturan sıçan testislerindeki spermatogenezin ise normal olarak devam ettiği görüldü (Şekil 2A, 4C). Ayrıca bu grupta interstisyel alandaki Leydig hücrelerinde herhangi bir hasara rastlanmadı (Şekil 4A-B).



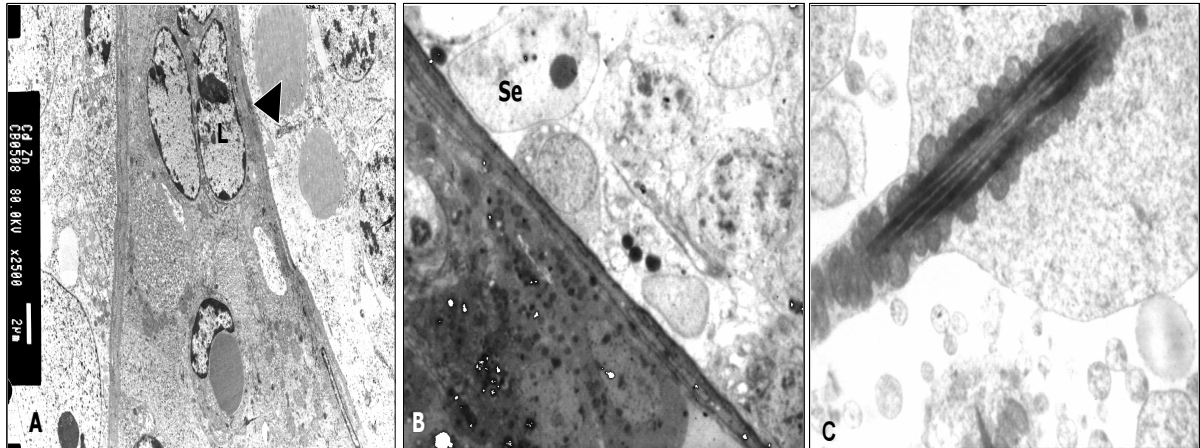
Şekil 1. Kontrol grubu: Yarı ince kesitlerde, A: Normal seminifer tübüller, B: İnterstisyel alandaki Leydig hücreleri (L), C: Tübül duvarında Sertoli (Se) ve spermatogenik seri hücreleri (*). Toluidine mavisi.



Şekil 2. Deney grubu: Yarı ince kesitlerde, A: Normale yakın seminifer tübül yapısı ve spermatogenez, B: Çoğunlukla spermatogoniumlarda görülen vakuolizasyon (S), C ve D: Lümeneye yakın kısımlarda sayıca artmış bol lipitli residual yapılar (→) Toluidine mavisi.



Şekil 3. Kontrol grubu: Transmission elektron mikroskop görüntüsü. A ve B: Seminifer tübül duvarındaki tipik hücreler. S: spermatogonium, Sertoli hücresi (Se) ve interstisyel alandaki Leydig hücreleri (L). C: İnterstisyel alanda Leydig hücreleri (L).



Şekil 4: Deney grubu: Transmission elektron mikroskop görüntüsü, A: Seminifer tübül duvarında lipid vakuolleri (►), interstisyel alandaki normal görünümlü Leydig hücreleri (L), B: Normal yakın seminifer tübül duvarı epiteli ve Sertoli hücresi (Se), C: Gelişen spermiumda normal orta parça görüntüsü.

4. TARTIŞMA

B'un canlılara etkisi konusunda yapılan araştırmalarda birçok canlının B'ü tolere edebilme kapasitesinin yüksek olduğu görülmektedir. B'un toksik etkileri ilk kez Weir, ve Fisher, (1972) tarafından ortaya konmuştur. Bu araştırmalara göre sıçanlarda görülen testikular atrofi 26 mg/kg/gün (525 ppm B) uygulanmasıyla ortaya çıkmaktadır. Fukuda ve arkadaşlarına (2000) göre ise, 2 ve 4 hafta süreyle uygulanan 300-500 mg/kg dozundaki borik asitin etkisiyle spermatidlerin ve residual yapıların sayıca arttığı gözlenmiştir. B'a maruz kalınan sürenin uzamasıyla beraber spermatositlerin nekroza gittikleri, seminifer tübül atrofi ve birden fazla nükleuslu

dev hücrelerin gözlemlendiği görülmüştür. Sunulan bu çalışmada da uygulanan süre ve dozda boraksın sıçan testisinde residual yapıların sayıca arttığı görülmüş ancak seminifer tübül epitelinde herhangi bir hasara rastlanmamıştır. Kısa ve orta sürenin yanında kronik dozlarla çalışmalarda B'un özellikle orta sürede ve kronik dozlarda testis üzerinde olumsuz etki yaptığı ve spermatogenezisi bozduğu görülmüştür (Seal ve Weeth, 1980). Bu çalışmada kronik olarak verilen boraksın spermatogenezis aşamasını olumsuz yönde etkilemediği ve spermatogenezisin normal olarak devam etmekte olduğu gözlemlendi. B'un hayvanlar üzerindeki etkisi kullanılan B miktarı ve temas süresine bağlıdır. Farklı süre ve dozlarda yapılan bir çok çalışmada ağız yoluyla

verilen 3000-4000 mg/kg gibi yüksek dozların ishal ve kusma meydana getirdiği ve hatta ölüme neden olduğu görülmektedir (Fail, vd. 1991; Heindel, vd., 1994; Moseman, 1994). Deneysel çalışmalarda B deneklerin genellikle yem veya sularına katmak suretiyle verilmektedir. Çalışmamızda da boraks sıçanların içme sularına katmak suretiyle verilmiştir. Sıçanlara içme suyundaki 0.84 mg/kg dozdaki B herhangi bir zarar vermezken miktar ve sürenin artması durumunda başta testis ve akciğer gibi organlarda çeşitli bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Orta vadeli etkilerde fareler 1200-2500 ppm gibi oldukça yüksek dozlara 90 gün dayanırlarken, 10000-20000 ppm gibi ileri derecedeki dozlar ölüme neden olmaktadır. Testisler B'dan en fazla etkilenen organlardandır. 5000 ppm ve daha fazla dozdaki B, testis atrofisi ve dejenerasyonu sonucu infertiliteye neden olurken aşırı B yoğunluğu gebeliği bozmak ve fötüse zarar verebilmektedir (Linder, vd., 1990; Treinen ve Chapin, 1991). B'un öldürücü dozunun, hayvan türüne, kg ve vücut ağırlığı başına 1,2-3,45 g arasında olduğu görülmektedir. Borik asitin akut oral toksik dozu ise 3.45 g/kg olarak bildirilmektedir (Fail, vd., 1991; Heindel, vd., 1994; Ku vd., 1994).

5. SONUÇ

Bu araştırmada Boraksın kullandığımız doz ve süreye bağlı olarak sıçan testis dokusunda belirgin bir hasar oluşturmadığı ve spermatogenez ve spermiyogenezin normal bir şekilde devam ettiği sonucuna varılmıştır. Hormonal ve biyokimyasal parametrelerin de inceleneceği başka çalışmalar yapılması B ve testis arasındaki etkileşimi daha iyi ortaya koyabilecektir.

KAYNAKLAR

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), June (2004), Health effects EPA, Toxicological Review of Boron and Compounds, In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS).
- Erdoğan, E. Sevinç, Ö.S., Akçan, K. (2004). Borun Canlılara ve Çevreye Etkisi. *Doğa, Çevre ve Kültür Dergisi*, Sayı : 2.
- Fail PA, George JD, Seely JC, Grizzle TB, Heindel JJ. (1991). Reproductive toxicity of Boric acid in Swiss (CD-1) mice: assessment using the continuous breeding protocol. *Fundam Appl Toxicol* 17;225-239.
- Fukuda, R., Hirode, M., Mori, I., Chatoni, F., Morishima, H., Mavahara, H. (2000). Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats 24). Testicular toxicity of Boric acid after 2- and 4-week administration periods,. *J Toxicol Sci.* Oct; 25 Spec No:233-9.
- Heindel JJ, Price CJ, Schwetz BA. (1994). The developmental toxicity of Boric acid in rats, mice, and rabbits. *Environ Health Perspect* 102(Suppl 7) 107-112.
- IPCS Environmental Health Criteria 204, (1998). Boron. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- King N, Odom TW, Sampson HW, Pardue SL. (1991). In ovo administration of Boron alters bone mineralization of the chicken embryo. *Biol Trace Elem Res* 30; December 1995, 47-58.
- Ku WW, Chapin RE, Moseman RF, Brink RE, Pierce KD, Adams KY. (1991). Tissue disposition of Boron in male Fischer rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 111;145-151.
- Ku WW, Chapin RE, Wine RN, Gladen BC. (1993). Testicular toxicity of Boric acid: relationship of dose to lesion development and lack of recovery in the F344 rat. *Reprod Toxicol.* 7; 305-319.
- Ku, W.W, Chapin RE. (1994). Mechanism of testicular toxicity of Boric acid in rats: in vivo and in vitro studies. *Environ Health Perspect* 102(Suppl 7):99-105.
- Linder, R.E, Strader LF, Rehnberg GL. (1990). Effect of acute exposure to Boric acid on the male reproductive system of the rat. *J Toxicol Environ Health* 31; 133-146.
- Moseman, R. F. (1994). Chemical disposition of Boron in animals and humans, *Environ Health Perspect.* ,November; 102 (Suppl 7); 113-117.
- Murray, F.J. December (1995). Human Health Risk Assessment of Boron (Boric Acid and Borax) in Drinking Water Regulatory *Toxicology and Pharmacology*, 22(3),221-230.
- Seal, B.S., Weeth, H.J. (1980). Effect of Boron in drinking water on the male laboratory rat, *Bull Environ Contam Toxicol.* Nov; 25(5); 782-9.

Silaev, A.A., Kasparov, A.A., Korolev, V.V., Nebstrueva, V.V. (1977). Electron microscopic investigation of the effect of Boric acid on the seminiferous tubules of albino rats. *Bull Exp Biol Med* . 83;588-591.

Şaylı, B.S., Tüccar, E., Elhan, A.H. (1998). An assessment of fertility in Boron-exposed Turkish subpopulations. *Reproductive Toxicology* 12, 297-304.

Treinen KA, Chapin, RE. (1991). Development of testicular lesions in F344 rats after treatment with Boric acid. *Toxicol Appl Pharmacol*. 107; 325-335.

Weir, R.J Jr, Fisher, R.S. (1972). Toxicologic studies on Borax and Boric acid. *Toxicol Appl Pharmacol*. 23; 351-364.



Dilek BURUKOĞLU, 1977'de Eskişehir'de doğdu. 1999 yılında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 1998-1999 yılları arasında Eskişehir Osmangazi

Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Eğitim Bilimleri Bölümünde yürütülen İlköğretim Sınıf ve Branş Öğretmenliği Pedagojik Formasyon Eğitimi aldı. 2000 yılında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2002'de Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programından mezun oldu. 2003 yılında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Doktora eğitimine başladı. 2004 yılında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Elektron Mikroskop Laboratuvarında 2 aylık rotasyon programına başladı. 2007'de Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Programından mezun oldu. Yabancı dili İngilizce.



CENGİZ BAYÇU, Ankara doğumludur. Üniversite eğitimini Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde tamamlamıştır. Ankara Ü.Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji anabilim

dalında 1984 yılında Bilim Doktoru olmuştur. 1987 yılında Eskişehir Anadolu Ü.Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji anabilim dalında yardımcı doçent olarak göreve başlamıştır. Ekim 1990'da Doçent, 1996'da Profesör olmuştur.

1998 yılında Üniversitesinde kurulan Taramalı ve Geçirgen Elektron Mikroskop laboratuvarının kurulma ve çalıştırma aşamalarında uzman olarak görev almıştır. Halen bu birimde Tıp ve Biyolojik bilimlerdeki materyallerle çalışmalarını sürdürmektedir. İngilizce bilmektedir. Evli ve bir erkek çocuk babasıdır.