

D₃ HİPERVİTAMİNOZUNUN KEMİKLER VE DİŞLERDE MEYDANA GETİRDİĞİ HISTOPATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

M Sami Yıldırım¹ Canan Alatl² Yegane Güven³ Çetin Kasapoğlu⁴

Yayın kuruluşuna teslim tarihi : 7.12.1995

Yayına kabul tarihi : 28.12.1995

Özet

D₃ hipervitaminozunun çene kemikleri, uzun kemikler ve dişle üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada 20 Wistar tipi sıçan kullanıldı. Her biri beşer sıçandan oluşan dört grubun ilkinde D₃ vitamini enjeksiyonu, ikincisine propylene glycol (PG) enjeksiyonu uygulanarak normal diyetle beslendi. Üçüncü grup D₃ vitamininden zengin diyetle beslendi. Kontrol grubu olan dördüncü gruba hiçbir uygulama yapılmadı. Beş haftalık deney süresi sonunda öldürülen hayvanların çene kemikleri, ön ve azı dişleri ile uzun kemiklerinden hazırlanan parafin kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Çene kemikleri ve uzun kemiklerde, kemik trabekülleri, kemik iliği ve uzun kemiklerde epifiz kırığı değerlendirildi. Dişlerde de dentin kanalları, pulpa odontoblastlar, periodontal aralık ve apikal bölge araştırıldı. Sonuç olarak dişlerde ve kemiklerde saptanan patolojik değişikliklerin kaynaklar ile uygunluk gösterdiği saptandı.

Anahtar sözcükler: D₃ hipervitaminozu, histopatoloji, sıçan, kemik, diş, periodontal doku.

GİRİŞ

D vitamini analogları uzun zamandan beri D vitamini eksikliği ile seyreden çeşidi hastalıklarda tedavi amacıyla başarılı bir şekilde kullanılmasına rağmen aşırı miktarlarda alındığında vücutta tümüyle metabolize olup itrah edilememekte ve toksik belirtileri kendini göstermektedir. Hipotoni anoreksi, baş ağrısı, eklem, kas ve diş ağrıları, kolonda irritabilite, konstipasyon, polidipsi, poliüri, hiperkalsemi, hiperkasüri, kalp kapaklarında bozukluklar, çeşitli dokularda ve damar çeperlerinde metastatik kalsifikasyonlar yaygın osteopo-

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES OF BONES AND TEETH DUE TO HYPER VITAMINOSIS OF D₃

Abstract

20 Wistar rats were used in this study, in which the effects of D₃ hypervitaminosis on jaws, long bones and teeth were investigated. The rats were divided into four groups, each consisting of five rats. Vitamin D₃ injection was performed in the first group, and propylene glycol (PG) in the second. These rats were fed with normal diet. The rats in the third group were fed with a diet rich in vitamin D₃. No special application was made in the fourth group, which was used as control. At the end of five weeks the rats were sacrificed. Paraffin sections of the jaw, incisors, molars and tibias were prepared and examined under light microscope. Bone trabecules and bone marrow were evaluated both in jaws and long bones. Epiphysial, cartilage was also investigated in the long bones. Dentin tubules, pulp odontoblasts, periodontal and apical regions of the teeth was examined as well. Histopathological features were compared with those of literature and discussed. In conclusion, the histopathological changes found in bone and teeth due to D₃ hypervitaminosis were similar to those of literature.

Key words : Hypervitaminosis D₃, histopathology, rats, bone, teeth, periodontal tissue.

roz ile tükürük bezi, böbrek ve akciğerlerde kalsifikasyonlara ek olarak iltihapsal infiltrasyon, D vitamininin araştırılmaları tarafından saptanan toksik belirtileridir (2,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13).

Yapılan deneysel çalışmalarda D vitamini için hedef dokuların barsak, böbrek ve kemikler olduğu belirlenmiştir (10,11). Özellikle kemikler ve dişlerde çeşitli bozukluklar saptanmıştır (4,9,12,13). Kemiklerde önce kalsifikasyon artışı, daha sonra kırık bozuklukları, kemik trabeküllerinde osteoid madde artışı, demineralizasyon ve kemik incelmeleri bildirilen bulgulardandır (2,12). Diş ve

1 Prof Dr İÜ Diş Hek Fak Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı

2 Prof Dr İÜ Onkoloji Enstitüsü, Tümör Patolojisi ve Onkolojik Sitoloji Bilim Dalı

3 Prof Dr İÜ Diş Hek Fak Temel Tıp Bilimleri Bölümü Biyokimya Birimi

4 Doç Dr İÜ Diş Hek Fak Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı

çevresindeki dokularda görülen değişiklikler ise, periodontal dokularda patolojik kalsifikasyon, hipersementoz, prematüre fibroblast ve odontoblastların varlığı, osteodentin oluşumunda bozukluk ve ankiloz olarak bildirilmiştir (4,9).

Çalışmamızın amacı aşırı dozda D vitamini sıçanların kemik, diş ve periodontal dokularında neden olduğu değişiklikleri histopatolojik olarak saptamaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamızda ortalama 30 gr. ağırlığında 20 tane erkek Wista sıçanı kullanıldı. Bu sıçanlar dört hafta süreyle D₃ vitamininden yoksun diet ile beslendikten sonra 4 gruba ayrıldı.

1. gruptaki 5 sıçana beş hafta süreyle 0.25 µg D₃ vitamini içeren 0.1 ml propylene glycol (PG) cilt altına enjekte edildi. Bu sıçanlar normal dietle (İstanbul Yem Sanayi'nin %21 protein içeren yemleri ve normal şehir suyu) beslendi.

2. gruptaki 5 sıçana beş hafta süreyle sadece 0.1 ml P.G cilt altına enjekte edildi. Bu gruptaki hayvanlarda normal dietle beslendi.

3. gruptaki 5 sıçana beş hafta süreyle 0.1 ml P.G cilt altına enjekte edildi. Bu sıçanlar D₃ vitamini içeren dietle beslendi.

4. gruptaki 5 sıçana ise hiçbir uygulama yapılmadı, sadece normal diet ile beslendi.

Beşinci haftanın sonunda sıçanlar eter anestezisi altında öldürülerek alt çene kemikleri, ön dişleri ve tibiaları incelenmek üzere çıkartılarak disseke edildi ve %10'luk formalin solusyonunda 1 ay süreyle fikse edildi. Örnekler dekalsifikasyon içinde sodyum sitrat ile tamponlanmış formik asit solusyonunda bekletildikten sonra takibe alındı ve parafin bloklar hazırlandı. Alt çene azılar bölgesinden geçerek alveol kreti ve çene kemiğini içine alan kesitler ile öndişlerden ve tibialardan hazırlanan uzamına kesitler hematoxilen-eosin boyama yöntemi ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

Her dört grupta çene kemiklerinden alınan kesitler kemik trabeküllerinin kalınlığı, sayısı, kemik iliğindeki hücre miktarı ve yağ hücresi miktarı açısından değerlendirildi.

Ön dişlerden hazırlanan kesitler dentin yapısını, dentin kanallarının düzeni, pulpadaki fibrozis, odontoblast sayısı, periodontal bölgedeki lif yoğunluğu ile pulpa ve periodontal aralıktaki ki-

reçlenme ve hipersementoz açısından değerlendirildi.

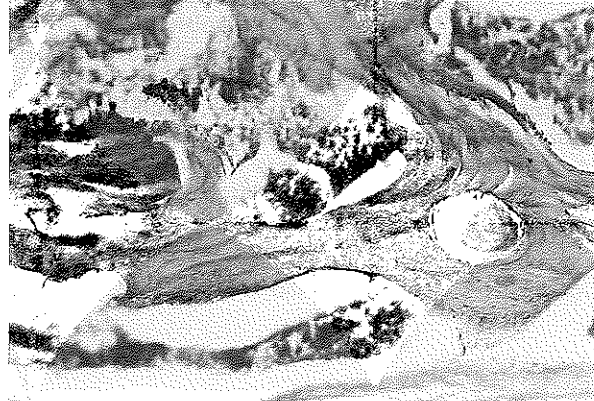
Uzun kemiklerden alınan kesitlerde ise epifiz kalınlığı, epifizdeki hücre düzeni, kemik trabeküllerinin içinde kırıldak adacıklarının varlığı, kemik trabeküllerinin kalınlığı, trabekül sayısı, kemik iliğindeki hücre miktarı ve yağ hücresi varlığı araştırıldı.

Her dört gruba ait çene kemiği, dişler ve uzun kemiklerde saptanan histopatolojik değişiklikler (+) ve (++) değişiklik görülmeyen durumlar ise (-) ile belirtilerek Tablo 1'de gösterildi.

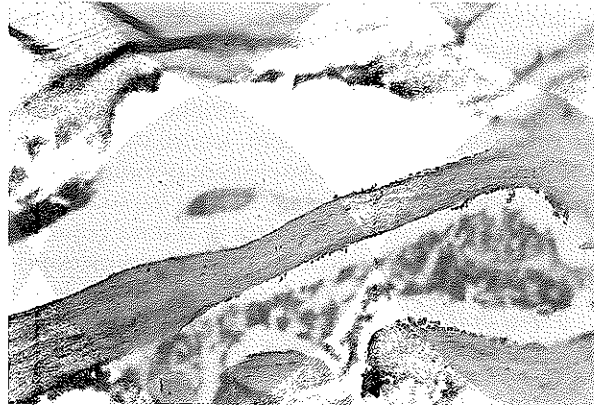
BULGULAR

1. ve 2. gruptaki sıçanlardan alınan çene kemiği kesitlerinde kemik trabeküllerinin kontrol grubuyla aynı kalınlıkta olduğu, 3. gruptaki kemik trabeküllerinin ise biraz daha kaim olduğu gözlemlendi (Resim 1,2). Kemik iliği hücrelerinin sayısı her üç deney grubunda kontrol grubuna

Resim 1: D₃ vitamininden zengin diet ile beslenen sıçanlarda çene kemiğinde trabeküllerin kalın olduğu izlenmektedir. H.E,x100.



Resim 2. Kontrol grubunda çene kemiğinde kemik trabeküllerinin deney grubuna oranla ince olduğu görülmektedir. H.E,x100.



Tablo 1. Çene kemikleri, dişler ve uzun kemiklerde saptanan 4 gruba ait histopatolojik bulgular görülmektedir. (++) belirgin değişikliği (+) hafif değişikliği, (-) ise değişikliğin olmadığını belirtmektedir.

	ÇENE KEMİKLERİ				DİŞLER				UZUN KEMİKLER			
	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup
Epifiz kalınlığı									++	+	+	+
Epifiz hücre düzensizliği									-	-	+	-
Kemik trabekülleri içinde kıkırdak adacıkları									+	+	+	+
Ke.trabe.kalınlığı	+	+	++	+					+	+	+	++
Ke.trabe.sayısı	+	+	+	+					++	+	+	-
Kemik iliği hücreliliği	++	++	++	+					++	++	++	+
Kemik iliği yağ hücreleri	-	-	-	+					-	-	-	+
Dentin kanallarının düzensizliği					-	-	-	-				
Pulpada fibrozis					-	-	-	-				
Odontoblast sayısı					++	+	+	+				
Periodontal bölgede lif yoğunluğu					+	-	+	-				
Pulpa ve periodontal aralıkta kalsifikasyon					-	-	-	-				
Hipersementoz					-	-	-	-				

oranla biraz daha fazlaydı. Kontrol grubunda kemik iliğinde az miktarda yağ hücreleri izlenirken her üç deney grubunda yağ hücreleri görülmedi (Resim 3).

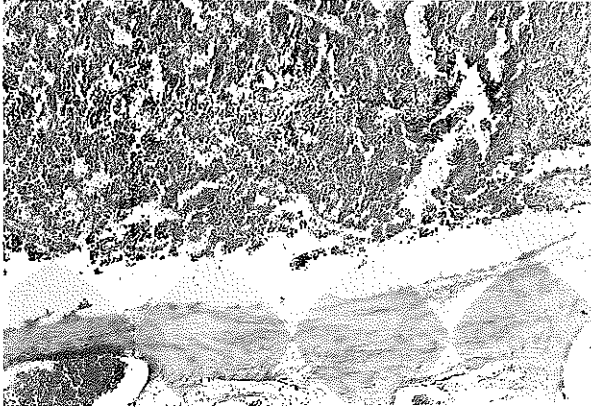
Azı dişleri ve ön dişlerin incelenmesinde, kontrol grubunda da deney gruplarında da dentin yapısı ve dentin kanalcıkları düzenli görünümdeydi. Her dört grupta pulpada fibrozis yoktu. Odontoblast sayısı 1. grupta, kontrol grubu ile 2. ve 3. gruba oranla biraz daha artmıştı (Resim 4). Periodontal bölgedeki lif yoğunluğu 1. ve 3. gruplarda, kontrol grubu ve 2. gruba göre biraz daha fazlaydı (Resim 5). Deney gruplarının hiçbirinde pulpada ve periodontal aralıkta kalsifikasyon görülmedi. Dişlerde hipersementoz rastlanmadı.

Uzun kemikler incelendiğinde 1. grupta epifiz kıkırdığının kontrol grubu ile diğer iki deney grubuna oranla daha kalın olduğu gözlemlendi (Resim6). Epifiz kıkırdığındaki hücreler 1. ve 2. grupta kontrol grubundaki gibi düzenli görülürken 3. grupta bu hücrelerin düzeni biraz bozulmuştu (Resim 7). Kontrol grubu ile 2. ve 3. deney gruplarında epifiz kıkırdığının hemen altındaki kemik trabekülleri içinde az sayıda kıkırdak adacıkları gözlenirken 1. grupta bu kıkırdak adacıklarının daha fazla olduğu saptandı (Resim 6-8),

Kemik trabeküllerinin kalınlığı kontrol grubunda 1., 2. ve 3. gruba oranla biraz daha fazlaydı. Kemik trabeküllerinin sayısı ise 1. grupta daha fazla olmak üzere her üç deney grubunda kontrol

grubuna oranla artmıştı (Resim 8). Kemik iliğindeki hücre sayısı deney gruplarında artış gösterirken kontrol grubunda var olan yağ hücrelerine rasdanmadı.

Resim 3. Deney gruplarında çene kemiğinde kemik iliğinin hücreden zengin olduğu ve yağ hücreleri içermediği gözlenmektedir. H.E,x100.



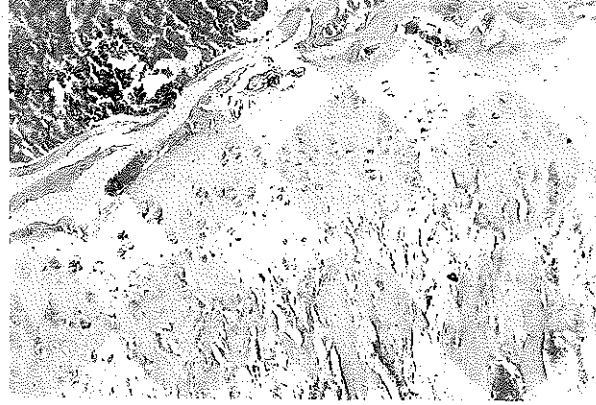
Resim 4: D₃ vitamini enjekte edilen grupta pulpada odontoblast sayısında artış görülmektedir. H.E,x40.



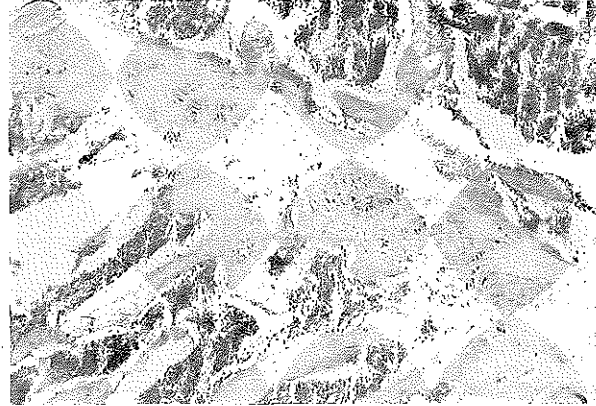
Resim 5: D₃ vitamini enjekte edilen ve D₃ vitamininden zengin diyetle beslenen gruplarda periodontal liflerin daha yoğun olduğu izlenmektedir. H.E,x100.



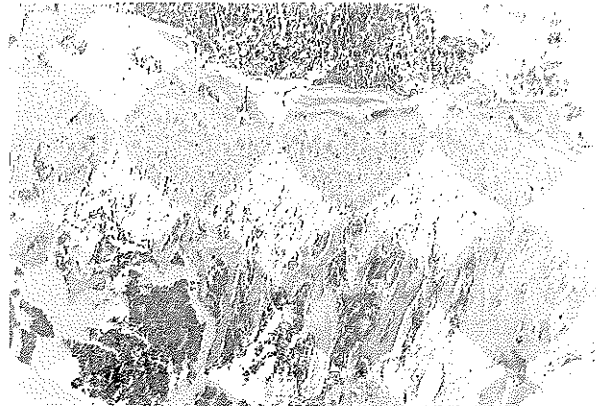
Resim 6: D₃ vitamini enjekte edilen sıçanlarda epifiz kırırdağının kalın olduğu ve buradan gelişen kemik trabeküllerinin kontrol grubuna oranla daha ince olduğu görülmektedir. H.E,x100.



Resim 7: D₃ vitamininden zengin diyetle beslenen sıçanlarda epifiz kırırdağında hücre diziliminin düzensiz olduğu görülmektedir. H.E,x100.



Resim 8: D₃ vitamini enjekte edilen grupta uzun kemiklerde kemik trabeküllerinin sayıca artmış olduğu buna karşılık ince olduğu izlenmektedir. H.E,x100.



TARTIŞMA

Organizmadaki kalsiyum (Ca) metabolizması, endokrin sistem tarafından kontrol edilen karmaşık bir olaydır. Vücutta fizyolojik dozda bulunan D vitamini kandaki Ca konsantrasyonunun belirli düzeyde kalmasını sağlamaktadır. D vitamininin fizyolojik dozun üzerine çıkması ise kemiklerdeki Ca'un açığa çıkmasına ve Ca absorpsiyonunu arttırarak metastatik kalsifikasyona neden olmaktadır (6,10). Periton dializindeki hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada, D₃ vitamininin oral intravenöz verilmesiyle serum osteokalsin düzeyinde belirgin artış, parathormon ve Ca düzeylerinde ise hafif artış izlenmiştir (3).

Yapılan araştırmalarda D vitamini entoksikasyonunda, insanlarda erken dönemde, kemiklerde kalsifikasyon artışı ve periost kalınlaşması gözlenmiş, ileri dönemlerde ise kırıkta gelişiminde bozukluk ve kemiğin diffüz demineralizasyonu gibi bulgular saptanmıştır (12). Sıçanlarda yapılan çalışmalarda uzun kemiklerin medüller bölümlerinde kemik üretiminin arttığı ve kemik trabeküllerinde osteoid madde yapıldığı saptanırken kemik resorpsiyonu sonucunda kemiklerde de incelmeler olduğu gözlenmiştir (2,12). D vitamininin flor içeren türevleri ile yapılan bir araştırmada, D vitamininin kemiklerde osteoklast benzeri hücre oluşumunu stimüle ettiği ve flor içeren D vitamini türevlerinin kemik resorpsiyonunu daha çok arttırdığı bulunmuştur (1).

Çalışmamızda D₃ vitamininden zengin diet ile beslenen sıçanların çene kemiklerindeki trabeküllerde öteki gruplara oranla hafifçe kalınlaşma saptanmıştır. Çene kemiklerinde trabekül sayısının bütün gruplarda benzer olduğu gözlenmiştir. Uzun kemiklerde ise deney gruplarında, kemik trabeküllerinin kontrol grubuna oranla daha ince olduğu ancak trabekül sayısının özellikle 1. grupta attığı saptanmıştır. Bu bulgulara ek olarak hem çene kemiklerinde hem de uzun kemiklerde, kemik iliği hücrelerinde kontrol grubuna oranla artış görülmüş, buna karşılık kontrol grubunda izlenen yağ hücrelerine deney gruplarında rasdanamamıştır. Çalışmamızda uzun kemik-

lerde kemik trabeküllerinin incelmış bulunması kaynak bulgularla çelişmektedir (2,12). Buna karşılık trabekül sayısının artmış olması yani total osteoid maddenin fazlalaşmış olması aynı kaynak bulgularıyla uyum göstermektedir. Kaynaklarda kemik iliği hücrelerinin artışına ait bulguya rastlanmamıştır. Çalışmamızda kemik trabeküllerinin incelmış olması buna karşılık kemik iliği hücrelerinde artış gözlenmesi kaynaklardaki D₃ hipervitaminozuna bağlı kemik demineralizasyonu, osteoporoz ve kemik incelmeleri bulgularıyla uyum göstermektedir (1,2,6,12,13).

Uzun kemiklerin epifiz bölgelerinde yapılan incelemede, D₃ enjekte edilen deney hayvanlarında hem kırıkta dokusunun daha kalın olduğu, hem de kemik trabeküllerinde kırıkta adacıklarının varlığı saptanmıştır. D₃'den zengin diet ile beslenen hayvanlarda ise kırıkta hücrelerinin düzensiz dizildiği gözlenmiştir. Bu bulgular kaynaklardaki kırıkta gelişim bozukluğu ile ilgili bulgularla paralellik göstermektedir (12,13).

Çalışmamızda dişlerle ilgili bölümde çok az patolojik bulgu saptanmıştır. D₃ enjekte edilen 1. gruptaki hayvanlarda odontoblast sayısında, öteki gruplara oranla artış görülmüştür. Periodontal bölgedeki lif yoğunluğunun da 1. ve 3. deney gruplarında kontrol grubuna oranla biraz daha fazla gözlenmiştir. Bu bulgular kaynak bilgilerle uyumludur (4,9). Buna karşılık kaynaklarda bildirilen dentin kanallarında düzensizlik, pulpada fibrozis, kalsifikasyon, hipersementoz gibi bulgular çalışmamızda saptanmamıştır. Bunun nedeni olarak da dişlerle ilgili patolojik bulguların ortaya çıkabilmesi için daha uzun süreli D₃ vitamini intoksikasyonunun gerekli olduğu düşünülmüştür.

Sonuç olarak çalışmamızda D₃ hipervitaminozuna bağlı olarak kemiklerde ve dişlerde, kaynak bilgilerinin çoğuyla uyumlu olan patolojik bulgular saptanmıştır. D₃ enjekte edilen gruptaki bulgular, D₃ vitamininden zengin dietle beslenen gruba oranla biraz daha belirgindir. Çalışmamızın sonuçları; D vitamininin eksikliği kadar, fazlalığının da organizma için zararlı olduğunu bir kez daha vurgulamaktadır.

KAYNAKLAR

- 1- Harada M, Miyahara T, Miyata M, Komiyama H, Sugure A, İkemoto Y, Kondo S, Takamura T, Higuchi S, Otosoma S: Calcium regulating activity of 24a-homo-24, 24-difluoro-1, alpha 25-dihydroxyvitamin D3 and, 26,27-dimethyl-24, difluoro-1, alpha, 25-dihydroxy-vitamin D3. *Calcif-Tissue-Int* 1993;53:318-23
- 2-Hunt RD, Garcia GF, Hegsted DM: Hypervitaminosis D in new world monkeys, *Am J Clin Nutr* 1969;22:358-66.
- 3- Joffe P, Ladefoged SD, Cinton C, Jensen LT, Hyldstrup L. Acute effect of oral, intracitoneal, and intravenous 1 alpha, hydroxychole-calciferol on markers of bone metabolism. *Nephrol Dial Transplant* 1994;9:524-31.
- 4- Jenkins GN: The physiology and Biochemistry of the Mouth. Blackwell Sei Pub, *Oxford*, 1978:16-20.
- 5- Kent PS, Vawter FG, Dowben MR: Hypervitaminosis D in monkeys; *Am J Pathol* 1958;34:37-60.
- 6- Klein GL, Coburn JW: Total parenteral nutrition and its effect on bone metabolism. *Crit Rev Clin Lab Sei* 1994;31:135-67.
- 7- Krishnaswamy K, Theoh PC: Diseases of a Tropical Environment. In: Avery GS, ed, Drug treatment, Principles and Practice of Clinical Pharmacology and Thrapeutics. Churcil, Livingstone, Edinburgh and London 1980:1187.
- 8- Mewberne, PM: Nutritional and metabolic discsacs. In: benirschke K, Garner FM, Jones TC, eds Pathalogy of laboratory Animals. Vol.1, Springer Verlag, New York 1978.
- 9- Pitaru S, Blaushild N, Edelstein S: the effect of toxic doses of L25-d-Hydroxycholecalciferol on dental tissues in the rat. *Archs Oral Biol* 1982;27:915-9.
- 10- Reeve J: Therapeutic applications of vitamin D analogues. *Br Med J* 1979;2:888-90.
- 11- Weisman Y, Sapir R, Harell A, Edesiteain S: Maternal-perinatal interrelationsbips of vitamin D metabolism in rats. *Biochim Biophys Acta* 1976:428, 388-95.
- 12- Woodard IC, Montgomery CA: Musculoskeletal system. In: Bcnirsche K, Garner FM, Jones TC, Eds. Pathology of laboratory Animals. Vol I, Springer Verlag, New York 1979:745-6.
- 13- Yoshiki S, Yanagisawa T: The role of vitamin D in the mineralization of dentin in rats made rachitic by a diet low in calcium and deficient in vitamin D *Calc Tiss Res* 1975;15:295-302.

Yazışma adresi:

Prof Dr M. Sami Yıldırım
İ Ü Diş Hek Fak
Ağız Diş Çene Hastahkları ve
Cerrahisi Anabilim Dalı
34390 Çapa - İstanbul