

MICHAŁ DROBNIK

OCENA DZIAŁANIA BIOLOGICZNEGO WÓD FLUORKOWYCH STOSOWANYCH W POSTACI KURACJI PITNYCH U ZWIERZĄT DOŚWIADCZALNYCH

EVALUATION OF THE BIOLOGICAL ACTION OF THE FLUORIDE WATERS APPLIED IN THE FORM OF THE POTABLE CURE IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Zakład Tworzy Uzdrawiskowych
Państwowy Zakład Higieny
60-821 Poznań, ul. Słowackiego 8/10
Kierownik: dr *T. Latour*

W badaniach doświadczalnych na zwierzętach określono niektóre właściwości farmakodynamiczne naturalnej wody fluorkowej oraz wodnego roztworu NaF. Stwierdzono oddziaływanie tych wód na gospodarkę lipidową i wodno-elektrolitową, równowagę kwasowo-zasadową oraz perystaltykę jelita cienkiego.

WSTĘP

Znaczna zawartość fluorków w niektórych wodach leczniczych stosowanych do kuracji pitnych wymaga oceny ich wpływu na organizm [1, 11]. Oddziaływanie to może być związane m.in. ze zdolnością fluorków do tworzenia trudno rozpuszczalnych związków lub kompleksowania wielu pierwiastków odgrywających ważną rolę w procesach fizjologicznych, zwłaszcza Ca, Mg, Cu, Fe, Zn, a tym samym zmiany siły lub kierunku ich działania, a także przyswajalności fluoru w ustroju [2, 3, 9, 10, 12].

Postanowiono zatem porównać w warunkach doświadczalnych na zwierzętach, wpływ na podstawowe procesy przemiany materii fluoru, obecnego w naturalnej wodzie fluorkowej oraz wody zawierającej czysty fluorek sodu, zastosowanych w formie kuracji pitnej.

MATERIAŁ I METODYKA

Material

1. Słabo mineralizowana woda ze źródła „Zdzisław” w Łądku Zdroju, zawierająca 10 mg F/l (0,02% woda hipertermalna, fluorkowa, radocznyna, siarczkowa).
2. Wodny roztwór fluorku sodu cz.d.a. o stężeniu 10 mg F/l.
3. Zwierzęta doświadczalne:
 - szczury rasy *Wistar*, samce wagi 210-230 g,
 - świnki morskie szczepu laboratoryjnego, płci obojga, wagi 350-400g,
 - króliki.

Zakres badań

1) W trakcie trwania badań obserwowano zachowanie się szczurów, kontrolowano ilość wypitej wody oraz co 5 dni przyrosty masy ciała.

2) Działanie moczopędne oceniano na 4 grupach szczurów po 12 sztuk. Przed badaniem zwierzęta głodzono przez 12 godzin, przy dostępie do wody wodociągowej *ad libitum*. Zwierzętom poszczególnych grup podawano sondą dożołądkowo badaną wodę¹⁾ w jednorazowych dawkach 3, 6 i 10 ml/kg m.c. (masy ciała) i umieszczano w kłatkach metabolicznych. Grupę kontrolną stanowiły szczury otrzymujące wodę wodociągową w takich samych dawkach. Objętość wydalonego moczu mierzono co godzinę, przez okres 5 godzin.

3) Działanie żółciopędne oceniano na świnkach morskich metodą *Supniewskiego i Hano*. Zwierzęta narkotyzowano uretanem etylowym w dawce 1,4 g/kg m.c. Ilość żółci wypływającej z przewodu żółciowego odczytywano co 15 minut w ciągu godziny przed podaniem wody. Następnie zwierzętom podano dożołądkowo badane wody w ilości 3,6, 7,1 i 14,3 ml/kg m.c. i nadal mierzono ilość wydalanej żółci co 15 minut w ciągu dwóch godzin. Grupę kontrolną stanowiły świnki morskie otrzymujące wodę wodociągową w tych samych dawkach jak zwierzęta grup badanych.

4) Wpływ na mięśnie gładkie przewodu pokarmowego badano na izolowanych wycinkach jelita cienkiego królika metodą *Magnusa*. Wycinki jelita długości ok. 3 cm umieszczano w aparacie do narządów izolowanych, w 50 ml płynu odżywczego *Tyrode'a* o temperaturze 38°C. Ruchy perystaltyczne jelita rejestrowano na okopconej taśmie kimografu. Badane wody dodawano do stale napowietrzanego płynu odżywczego w stosunku 1:9, 1:4 oraz 2:3.

5) Niżej przedstawione badania podstawowe we krwi przeprowadzono na szczurach, które otrzymywały karmę bezfluorkową. Przed badaniem zwierzęta podzielono na 5 grup po 15 sztuk. Szczurom dwóch grup podawano badane wody sondą dożołądkowo, w jednorazowej dawce dziennej 14,3 ml/kg m.c., przez okres 20 dni. Zwierzęta następnych dwóch grup otrzymywały te wody do picia *ad libitum* w tym samym okresie czasu. Szczury ostatniej grupy (kontrolnej) otrzymywały wodę wodociągową, zawierającą 0,3 mg F/l.

Po zakończeniu cyklu badań, do oznaczeń biochemicznych pobierano krew z prawej komory serca zwierząt znajdujących się w narkozie wywołanej pentobarbitem sodowym.

Wykonano oznaczenia:

- gazometryczne krwi za pomocą analizatora równowagi kwasowo-zasadowej typu 206 firmy Plastomed;
- sodu i potasu za pomocą mikroanalizatora biologicznego zasad typu OP-266/1 firmy Radelkis;
- frakcji białkowych metodą elektroforezy żel-aragoza, odczyt densytometrem DS-1 firmy Cormay;
- hematokrytu metodą mikrohematokrytową;
- oraz za pomocą zestawów diagnostycznych: kwasu mlekowego (firmy „Boehringer-Mannheim”), kwasu pirogronowego („Sermognost”), cholesterolu całkowitego, frakcji HDL cholesterolu, lipidów całkowitych, glukozy, magnezu, wapnia, białka całkowitego („POCh-Gliwice”), trójglicerydów („Lachema”), hemoglobiny (Wytwórnia Surowic i Szczepionek – Kraków);
- rozmaz krwi obwodowej i szpiku kostnego barwiono metodą *Pappenheima*.
- Otrzymane wyniki weryfikowano statystycznie dla poziomu istotności $P \leq 0,05$, stosując dla oceny różnic pomiędzy poszczególnymi średnimi test *t-Studenta*.

¹⁾ określenie wody badanej obejmuje roztwór NaF oraz wodę leczniczą ze źródła „Zdzisław”.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

W trakcie 20-dniowej obserwacji nie stwierdzono w żadnej grupie badanych szczurów zmian w ruchliwości oraz wyglądzie zewnętrznym. W grupach szczurów, mających swobodny dostęp do badanych wód, obserwowano w pierwszych 10 dniach badań, stopniowy wzrost (80–100%) ilości spożywanej wody, który utrzymywał się na stałym poziomie przez dalszą część doświadczenia. Zwiększone pragnienie u szczurów wyniku podawania do picia wody zawierającej fluorki stwierdzono również w innych pracach [4, 5]. U szczurów otrzymujących wodę ze źródła „Zdzisław” obserwowano także zmianę konsystencji kału. Występujące zaburzenia w obrębie przewodu pokarmowego można wiązać z obecnością w tej wodzie siarkowodoru, który jest czynnikiem przyspieszającym motorykę jelita grubego, co w efekcie prowadzi do częstszych wypróżnień.

Badane wody, podane szczurom w dawce 3,6 ml/kg m.c., nie powodowały istotnych zmian w ilości wydalanego moczu w porównaniu ze zwierzętami grupy kontrolnej. Statystycznie znamiennej wzrost wydalania moczu powodowały obydwie wody zastosowane w dawce 10,7 ml/kg m.c., przy czym silniejsze działanie moczopędne wykazuje woda ze źródła „Zdzisław”.

Podanie badanych wód w dawce 3,6 oraz 7,1 ml/kg m.c. świnkom morskim nie powodowało różnic w ilości wydalanej żółci w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt. Badane wody, zastosowane w dawce 14,3 ml/kg m.c. w jednakowym stopniu wpływały na nieznaczny wzrost wydalania żółci.

Woda ze źródła „Zdzisław” i roztwór NaF, zastosowane w rozcieńczeniu 1:9 oraz 1:4 płynem odżywczym, wywoływały bezpośrednio po podaniu nieznaczny wzrost napięcia tonicznego mięśni z równoczesnym zmniejszeniem średnio o 50% amplitudy skurczów mięśni gładkich jelita izolowanego. Amplituda skurczów w miarę trwania doświadczenia ulegała stopniowemu zmniejszaniu, a w trzeciej minucie od podania badanej wody zanikała zupełnie. Wody zastosowane w rozcieńczeniu 2:3, powodowały natychmiast po podaniu skurcz spastyczny jelita z równoczesnym i całkowitym zniesieniem jego ruchów perystaltycznych. We wszystkich przypadkach, po przemyciu jelita płynem odżywczym *Tyrode'a*, stan napięcia jelita oraz amplituda jego skurczów powracały do stanu wyjściowego.

Wartości oznaczonych wskaźników gospodarki tłuszczowej zestawiono w tabeli I.

Jak wynika z tego zestawienia, badane wody podawane szczurom, przez okres 20 dni, niezależnie od wielkości dawki, wpływały w sposób istotny na gospodarkę tłuszczową ustroju. Powodowały one statystycznie znamiennej spadek poziomu cholesterolu, trójglicerydów i lipidów całkowitych w surowicy krwi szczurów, przy czym większe zmiany obserwowano po zastosowaniu wód w ilości *ad libitum*. Po obydwu wodach, poziom frakcji HDL cholesterolu obniżył się do ok. 75% wartości oznaczonej w grupie kontrolnej zwierząt. Należy zwrócić uwagę, że wzrastał jednak stosunek stężenia lipoprotein o wysokiej gęstości do stężenia cholesterolu całkowitego (z wartości 0,45 w grupie kontrolnej zwierząt do 0,55 przy zastosowaniu wody ze źródła „Zdzisław” oraz 0,65 po roztworze NaF). Zmiany te świadczą o korzystnym wpływie badanych wód zawierających fluorki na metabolizm tłuszczu. Obserwowane silniejsze oddziaływanie wody ze źródła „Zdzisław” na poziom trójglicerydów i lipidów całkowitych tłumaczyć można zawartymi w naturalnej wodzie fluorkowej innymi składnikami. *Markiewicz i*

Tabela I. Poziom tłuszczów w surowicy krwi szczurów po 20-dniowym stosowaniu wody fluorkowej ze źródła „Zdzisław” oraz roztworu NaF (wartości średnie i odchylenia standardowe).

The level of fats in the blood serum of rats after 20-day application of fluoride water from the spring „Zdzisław” and of the NaF solution (mean values and standard deviations).

Grupa	Rodzaj wody	Cholesterol całkowity mmol/l	HDL mmol/l	Trójglicerydy mmol/l	lipidy całkowite g/l
	Dawka				
kontrolna	wodociągowa <i>ad libitum</i>	2,28 ± 0,30	1,03 ± 0,16	1,19 ± 0,20	5,9 ± 0,9
badana	„Zdzisław” 14,3 ml/kg	1,46* ± 0,21	0,80* ± 0,13	0,83* ± 0,17	3,2* ± 0,8
	„Zdzisław” <i>ad libitum</i>	1,42* ± 0,19	0,78* ± 0,19	0,75* ± 0,12	2,6* ± 0,6
	roztwór NaF 14,3 ml/kg	1,24* ± 0,22	0,81 ± 0,17	0,86* ± 0,10	3,5* ± 0,7
	roztwór NaF <i>ad libitum</i>	1,20* ± 0,20	0,78* ± 0,18	0,78* ± 0,09	3,0* ± 0,8

* różnice statystycznie istotne dla $P \leq 0,05$

Tabela II. Poziom elektrolitów w surowicy krwi szczurów po 20-dniowym stosowaniu wody fluorkowej ze źródła „Zdzisław” oraz roztworu NaF (wartości średnie i odchylenia standardowe).

The level of electrolytes in the blood serum of rats after 20-day application of fluoride water from the spring „Zdzisław” and of the NaF solution (mean values and standard deviations).

Grupa	Rodzaj wody	Na+ mmol/l	K+ mmol/l	Mg ⁺² mmol/l	Ca ⁺² mmol/l
	Dawka				
kontrolna	wodociągowa <i>ad libitum</i>	119 ± 2	6,4 ± 0,3	1,0 ± 0,1	1,82 ± 0,28
badana	„Zdzisław” 14,3 ml/kg	116* ± 2	8,5* ± 0,4	1,0 ± 0,1	2,72* ± 0,20
	„Zdzisław” <i>ad libitum</i>	114* ± 1	8,8* ± 0,3	0,8* ± 0,1	2,98* ± 0,26
	roztwór NaF 14,3 ml/kg	118 ± 1	6,7 ± 0,3	1,0 ± 0,1	1,82 ± 0,36
	roztwór NaF <i>ad libitum</i>	116* ± 1	7,9* ± 0,4	0,9* ± 0,1	2,06* ± 0,40

* różnice statystycznie istotne dla $P \leq 0,05$

wsp. [6, 7, 8] obserwowali obniżenie poziomu tłuszczu całkowitych u chorych, u których stosowano kurację pitną wodami radoczynnymi.

W tabeli II przedstawiono wyniki ilustrujące ocenę wpływu badanych wód na poziom elektrolitów w surowicy krwi szczurów.

Przedstawione dane wskazują, że wody te powodowały obniżenie poziomu sodu i magnezu oraz wzrost potasu i wapnia w surowicy. Powstałe zmiany (z wyjątkiem NaF w dawce 14,3 ml/kg m.c.) były statystycznie znamienne. Większe zmiany w stężeniach oznaczanych kationów obserwowano po wodzie ze źródła „Zdzisław”.

Badane wody, niezależnie od wielkości zastosowanej dawki, w sposób zasadniczy niekorzystnie wpływały na równowagę kwasowo-zasadową krwi. Pod wpływem wody ze źródła „Zdzisław” obserwowano zmiany świadczące o wystąpieniu niewyrównanej kwasicy oddechowej, natomiast po zastosowaniu NaF, zmiany o charakterze niewyrównanej zasadowicy oddechowej.

W oznaczeniach poziomu glukozy i jej metabolitów, białka całkowitego, albumin i globulin, składu morfologicznego krwi oraz w rozmazie krwi obwodowej i szpiku kostnego szczurów, w wyniku podawania badanych wód w sposób, dawkach i czasie jak wyżej, nie obserwowano istotnych różnic pomiędzy uzyskanymi wartościami grup badanych, a grupą kontrolną zwierząt.

W podsumowaniu wykonanych badań należy stwierdzić, że zarówno woda lecznicza fluorkowa, jak również roztwór NaF o stężeniu 10 mg F/l wpływają istotnie na parametry gospodarki tłuszczowej, elektrolitowej, na mięśnie gładkie jelita cienkiego. Działają również moczopędnie, powodując wzrost obrotu wody w organizmie.

Mimo zbieżnego kierunku oddziaływania na ustrój badanych wód, większe zmiany wystąpiły w grupie zwierząt mających dostęp do naturalnej wody fluorkowej, niż roztworu NaF.

WNIOSKI

1. Naturalna woda fluorkowa ze źródła „Zdzisław” oraz roztwór NaF, stosowane dożołądkowo u szczurów przez okres 20 dni, powodowały statystycznie znamienne spadki poziomu cholesterolu całkowitego, frakcji HDL cholesterolu, lipidów całkowitych, trójglicerydów, sodu, magnezu oraz wzrost poziomu potasu i wapnia w surowicy krwi.
2. Stosowanie badanych wód w dawce *ad libitum* zwiększa obrót wody w organizmie.
3. Długotrwałe stosowanie wody ze źródła „Zdzisław” może prowadzić do powstania kwasicy oddechowej niewyrównanej, a roztworu NaF – zasadowicy oddechowej niewyrównanej.
4. Badane wody w określonej dawce wykazują działanie moczopędne u szczurów, działają spastycznie na mięśnie gładkie jelita cienkiego.
5. Wyniki badań porównawczych działania fluoru zawartego w słabo zmineralizowanej wodzie fluorkowej oraz jego soli sodowej, stosowanych w formie kuracji pitnej na zwierzętach, wykazały zbieżny kierunek jego działania biologicznego.

W. Drobnik

EVALUATION OF THE BIOLOGICAL ACTION OF FLUORIDE WATERS APPLIED IN THE FORM OF THE POTABLE CURE IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Summary

Basing on the carried out investigations it has been shown that the fluoride water from the spring „Zdzisław” from Łądek Zdrój and the aqueous solution of NaF in the F^- concentration like that in the curative water, used in rats intragastrically in a single daily dose of 14.3 ml/kg of body weight or *ad libitum* for a period of 20 days, brought about a statistically significant decrease of whole cholesterol, of the HDL fraction of cholesterol, of whole lipids, triglicerydes, sodium and magnesium and about an increase of potassium and calcium in the blood serum as compared with the control group of animals. Observed at the same time were changes that testified to the occurrence of respiratory decompensated acidosis and alkalosis.

No essential influence of the investigated waters on the protein, carbohydrate metabolism, smear and the morphological composition of the peripheral blood and on the bone marrow smear could be stated.

The investigated waters acted spastically on the smooth muscles of the small intestine of the rabbit, they were showing diuretic action in the rats and caused an increased water turnover in the organism.

PIŚMIENNICTWO

1. *Banaszkiewicz W., Drobnik M.*: Niektóre właściwości farmakodynamiczne wody „Marysieńka” ze źródła w Cieplicach Zdroju. Roczn. PZH 1998, 49, 213–218.
2. *Gumińska M.*: Biochemiczne mechanizmy działania fluoru na żywy organizm. Folia Med. Cracov. 1981, 23, 305–321.
3. *Kabata-Pendias A., Pendias H.*: Biogeneza pierwiastków śladowych. PWN, Warszawa, 1993, 266.
4. *Kahl S.*: Wpływ fluoru na fizjologię tarczycy. Metabolizm fluoru (red. Z. Machoy). PWN, Warszawa, 1982, 14.
5. *Machoy Z.*: Fluor – pytania oczekujące na odpowiedź. Roczn. PZH 1984, 35, 499–503.
6. *Markiewicz K.*: Wpływ leczenia balneologicznego w Łądku Zdroju na lipidy surowicy krwi u chorych na chorobę wieńcową serca. Baln. Pol. 1975, 20, 9–13.
7. *Markiewicz K., Grabowski D., Szatkowski J.*: Wpływ leczenia balneologicznego w Łądku Zdroju na stężenie cholesterolu dyfuzyjnego w surowicy krwi chorych na miażdżycę. Baln. Pol. 1975, 20, 323–326.
8. *Markiewicz K.*: Badania nad balneologicznym i klimatycznym leczeniem miażdżycy w uzdrowisku Łądku. Probl. Uzd. 1978, 3, 59–63.
9. *Nikonorow M., Urbanek-Karłowska B.*: Toksykologia żywności. PZWL, wyd. II, Warszawa, 1989, 393.
10. *Seńczuk W.*: Toksykologia. PZWL, Wyd. II, Warszawa, 1994, 379.
11. *Waldotta G.L.*: Fluoride in clinical medicine. Int. Archives of Allergy and Applied Immunology. Supl. 1962, 1, 20–24.
12. *Witkowska J., Czerwińska D., Kiepurki A., Roszkowski W.*: Pierwiastki szkodliwe a żelazo, cynk i miedź. Cz. I. Rtęć, cyna, nikiel, selen, fluor, glin. Roczn. PZH, 1991, 42, 15–23.

Otrzymano: 1999.04.28