

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Калюжная Е.Э., Просеков А.Ю., Волобаев В.П.

Генотоксические свойства фторид-иона (обзор литературы)

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет», 650000, Кемерово

Введение. Избыточное содержание в среде обитания человека и профессиональный контакт с фтором являются актуальной и недооценённой проблемой. Фторид-ион способен вытеснять гидроксильную группу из гидроксипатитов кальция, формируя устойчивые кристаллы смешанной формы апатита, индуцируя патологию костной ткани – флюороз. Несмотря на большую распространённость флюороза, имеются лишь единичные работы, обсуждающие способность фторид-иона индуцировать повышение уровня генотоксических эффектов. В то же время подобные исследования актуальны в связи с прямой корреляцией между генетической нестабильностью и риском канцерогенеза.

Материал и методы. Был проведён поиск литературы по следующему запросу: «фтор, фториды, фторид-ион, повреждение ДНК, генетические повреждения, генотоксичность». Поиск проведён по базам данных PubMed, MEDLINE, Embase и Google Scholar для различных статей (все публикации до июня 2018 г.). Все публикации были проанализированы и включены в этот обзор.

В обзоре рассматриваются результаты исследований, направленных на изучение способности фтора индуцировать повреждения ДНК, опубликованные с 50-х годов XX века по настоящее время. Рассматривается совокупность данных о генотоксических и в том числе мутагенных свойствах фтора, наблюдаемых в результате *in vitro* и *in vivo* исследований. Резюмируется, что при концентрациях в питьевой воде более 1 мМ фторид-ион обладает способностью индуцировать повреждения ДНК и увеличивать частоту кластогенных эффектов у человека и больших обезьян. В то же время для значимого увеличения генотоксических эффектов у грызунов требуются большие концентрации фторидов. Описываются основные гипотезы о механизмах генотоксических свойств элемента.

Заключение. С учётом анализа результатов опубликованных работ можно отметить, что фторид-ион, очевидно, обладает рядом генотоксических характеристик и может обладать мутагенными свойствами при хроническом контакте с клеточными объектами. Нераскрытым остаётся вопрос о генотоксических рисках и канцерогенных, которым может подвергаться человек при различном контакте с фтористыми соединениями.

К л ю ч е в ы е с л о в а : фтор; фторид-ион; генотоксический риск; мутагенность; обзор.

Для цитирования: Калюжная Е.Э., Просеков А.Ю., Волобаев В.П. Генотоксические свойства фторид-иона (обзор литературы). Гигиена и санитария. 2020; 99(3): 253-258. DOI: <https://doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-3-253-258>

Для корреспонденции: Волобаев Валентин Павлович, младший научный сотрудник научно-инновационного управления ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», 650000, Кемерово. E-mail: volobaev.vp@gmail.com

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Эта работа была поддержана грантом РФФИ и администрации Кемеровской области №18-44-420012_p_a (Соглашение с АКО № 8 от 28.06.2018 г.) и стипендией президента Российской Федерации для молодых учёных.

Участие авторов. Все авторы в равных долях внесли вклад в работу, доработку и исправление текста публикации.

Поступила: 11.12.2018

Принята к печати: 12.12.2019

Опубликована: 20.04.2020

Kalyuzhnaya E.E., Prosekov A. Yu., Volobaev V.P.

Genotoxic properties of fluorines (review)

Kemerovo State University, Federal state budgetary educational institution of higher education, Kemerovo, 650000, Russian Federation

Introduction. Consistency of fluoride excess in the human environment and professional contact with fluoride is an actual and underestimated problem. Fluoride ion is able to displace the hydroxyl group in calcium hydroxyapatites, forming stable crystals of mixed form of apatites, inducing bone pathology, fluorosis. Despite the high prevalence of fluorosis, there are only a few studies discussing the ability of fluoride ion to increase the level of genotoxic effects. At the same time, such studies are in high demand in connection with a direct correlation between genetic instability and the risk of carcinogenesis.

Material and methods. A literature search was conducted according the following queries: “fluoride, fluoride ion, fluorides, DNA damage, genetic damage, genotoxicity.” The search was conducted on the databases PubMed, MEDLINE, Embase and Google Scholar for various articles (all publications until June 2018). All publications were analyzed and included in this review.

Results. The present review examines the results of studies aimed at investigation of the ability of fluoride to induce DNA damage, published since the 50-s of 20th century to the present. The analyse of data about genotoxic and mutagenic properties of fluorine observed in *In vitro* and *In vivo* studies is provided. It is summarized that at concentrations of sodium fluoride in drinking water of more than 1 mM, fluoride ion has the ability to induce DNA damage and increase the frequency of clastogenic effects in humans and large monkeys. At the same time, for a significant increase in genotoxic effects in rodents, large concentrations of fluorides are required. The main hypotheses about the mechanisms of the fluoride genotoxic properties are described.

Conclusion. Considering results published nowadays, it can be noted that fluoride ion obviously shows a number of genotoxic features and can have mutagenic properties in case of chronic and direct contact with cellular objects. It remains questionable issue about genotoxic risk accompanied human contact with fluoride compounds.

К е у в о р д с : fluoride; fluoride ion; genotoxic risk; mutagenicity; review.

For citation: Kalyuzhnaya E.E., Prosekov A. Yu., Volobaev V.P. Genotoxic properties of fluorines (review). *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2020; 99(3): 253–258. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-3-253-258>

For correspondence: Valentin P. Volobaev, MD, junior researcher of the department of the «Kemerovo State University», Kemerovo, 650000, Russian Federation E-mail: volobaev.vp@gmail.com

Information about the authors:

Kalyuzhnaya E.E., <https://orcid.org/0000-0001-8376-1064>; Prosekov A.Y., <https://orcid.org/0000-0002-5630-3196>; Volobaev V.P., <https://orcid.org/0000-0001-7355-9882>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. This work was supported by a grant from the RFBR and the administration of the Kemerovo region No. 18-44-420012 (the Agreement with the ACO N 8 of June 28, 2013) and the scholarship of the President of the Russian Federation for young scientists.

Contribution: concept and design of the study – Kalyuzhnaya E.E., Prosekov A. Yu., Volobaev V.P.; collection and processing of material – Kalyuzhnaya E.E., Prosekov A.Yu., Volobaev V.P.; statistical processing – Kalyuzhnaya E.E., Prosekov A. Yu., Volobaev V.P.; writing a text – Kalyuzhnaya E.E., Prosekov A. Yu., Volobaev V.P.; editing – Kalyuzhnaya E.E., Prosekov A. Yu., Volobaev V.P.; approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

Received: December 11, 2018
Accepted: December 12, 2019
Published: April 20, 2020

Введение

Избыточное содержание фтора в среде обитания человека, а также бытовой и профессиональный контакт с фтором и его соединениями являются актуальной и недооценённой проблемой. Фториды всё более часто встречаются в среде обитания человека и действуют при этом как химический фактор малой интенсивности. Наряду с географическими зонами, характеризующимися естественным сверхнормативным уровнем фторид-иона в питьевых водах, с каждым годом растёт число районов, заражённых фтористыми отходами промышленных производств, например, алюминиевых заводов, использующих электролизный тип выплавки металла. Кроме средового типа воздействия, возможен контакт со значительными уровнями соединений фтора в бытовых продуктах, таких как зубная паста с фтором и фторированная вода. Острая токсичность плавиковой кислоты и её растворимых солей предположительно объясняется способностью свободных ионов фтора связывать биологически важные ионы кальция и магния в нерастворимые соли. Фториды, растворяясь в воде, диссоциируют с образованием фторид-иона (в дальнейшем при упоминании биологических свойств фтора имеются в виду свойства фторид-иона, в форме которого фтор в большинстве случаев находится в биологических и культуральных жидкостях). Фторид-ион превосходит все прочие ионы по своей способности замещать ОН- благодаря близости их ионных радиусов, одинаковому заряду и степени гидратации, равной двум. Признанным является только одно патогенетическое последствие хронического контакта с соединениями фтора, выражающееся в вытеснении гидроксильной группы из кальциевых гидроксипатитов фторид-ионом с формированием устойчивых кристаллов смешанной формы апатита, что индуцирует заболевание, называемое флюороз [1]. Высока вероятность того, что при хроническом контакте свойство фторид-иона замещать гидроксил может проявляться в иных тканях, а также активных центрах ферментов, с чем, возможно, связаны сообщения о других негативных свойствах фтора, ранее не описываемых [2], в том числе генотоксических и канцерогенных. Возможная значимость фтора как генотоксиканта и канцерогена наряду с его высокой распространённостью в среде обитания человека актуализирует исследования в данной сфере. Данные о генотоксичности фтора в мировой литературе в большей степени противоречивы и нуждаются в анализе и систематизации, в связи с чем целью данной работы является анализ литературы, посвящённой проблеме изучения генотоксических свойств фторид-иона.

Материал и методы

Был проведён поиск литературы по следующим запросам: «фтор, фториды, фторид-ион, повреждение ДНК, генетические повреждения, генотоксичность». Поиск проведён по базам данных PubMed, MEDLINE, Embase и Google Scholar для различных статей (все публикации до июня 2018 г.). Все публикации были проанализированы и включены в этот обзор.

Способность фторид-иона воздействовать на целостность генома активно изучается и является спорным вопросом, начиная с 50-х годов XX века. В ранний период были выдвинуты четыре основные идеи: 1. фторид-ион генотоксичен; 2. фторид-ион является мутагеном; 3. фторид-ион оказывает синергетическое или антагонистическое действие при одновременном воздействии иных генотоксикантов; 4. фторид-ион может обладать генотоксическими и мутагенными свойствами. В современный период большинство авторов сходятся на мнении о наличии генотоксических свойств у фтора [3–9], в то же время существуют и альтернативные мнения [10–12].

Фторид-ион как генотоксикант

Наиболее ранние исследования потенциальной генотоксичности фторид-иона проводились на растениях. Так, в 1957 г. Kihlman не нашёл никаких доказательств того, что фторид-ион может вызывать повышение частоты хромосомных aberrаций (ХА) в эксперименте на *Vicia faba* [22], однако эксперименты Mohamed и его коллег показали обратное. При обработке семян бобовых растений, лука и томатов фторидом натрия или фтороводородом и их дальнейшем проращивании авторы наблюдали повышение уровня ХА различного типа, в связи с чем пришли к выводу, что фтор генотоксичен, и предположили, что ион фтора способен блокировать репликацию ДНК [23–25].

С середины 70-х годов большинство работ, посвящённых генотоксичности фтора, проводились *in vitro* на клетках млекопитающих. Ряд авторов изучали способность фтористого натрия в концентрациях от 0 до 100 мМ вызывать повреждение ДНК методами оценки её фрагментации. Было определено, что воздействие фторид-иона может приводить к повреждению ДНК в клеточной линии остеосаркомы крысы [26], первичных мышечных гепатоцитах [27, 28] и первичных клетках почки крысы [29]. Другие авторы изучали способность фтора индуцировать кластогенные эффекты. Культивирование клеток в присутствии

фторид-иона приводило к увеличению частоты ХА и сестринских хроматидных обменов (СХО) в культурах клеток эмбриона сирийского хомячка [30–31], индийского мунгжака [32], красного костного мозга, нейронах гиппокампа и эпителия трахеи [7, 33, 34] крыс. В ряде экспериментов было определено, что *NaF* в концентрации 1 мМ индуцирует хромосомные aberrации в клетках человека и больших обезьян, но не в клетках большинства грызунов [35], что определило актуальность тестирования генотоксических свойств фтора преимущественно на клеточных линиях человека. *In vitro* эксперименты на клеточных линиях человека показали значительную генотоксичность фторид-иона в малых концентрациях в моделях человеческих тканей. Отмечена способность фторид-иона индуцировать повреждения ДНК и повышать частоту кластогенных эффектов в человеческих лейкоцитах [36–38], буккальных эпителиоцитах [39], фибробластах [40], фибробластах крайней плоти JHU-1 [41], линии клеток человеческой лейкемии HL-60 [42] и в человеческих первичных гепатоцитах [43]. Результаты этих исследований находятся в противоречии с рядом других работ, в которых генотоксический потенциал фторид-иона не подтвердился при экспериментах на первичных клетках мышей, овец, коров [35, 44] и лейкоцитах человека [45].

Ряд экспериментов был проведён на лабораторных животных. При оценке воздействия фторида натрия на организм личинок *Drosophila melanogaster* определена способность фтора ингибировать активность АСhЕ, ферментов-маркёров окислительного стресса, ферментов системы биотрансформации ксенобиотиков фазы I и фазы II и усиливать фрагментацию ДНК [4].

Значительное количество экспериментов *in vivo* было проведено в сочетании с последующей оценкой частоты генотоксических эффектов в клетках красного костного мозга. Авторы объясняют выбор мишени способностью фтора в виде аниона накапливаться в костной ткани. Краткосрочное интенсивное пероральное поступление раствора *NaF* в концентрации от 0,45 мг/л у мышей приводило к значительному увеличению уровня хромосомных aberrаций в клетках красного костного мозга и яичек [46]. В другом эксперименте поступление раствора *NaF* в течение 30 дней приводило к увеличению частоты микроядер в полихроматических эритроцитах и уровня ХА в клетках костного мозга у мышей [5]. E. Zeiger и соавт. в своём эксперименте на мышах не выявили влияния фторид-иона на уровень хромосомных перестроек в лейкоцитах периферической крови мышей в период метафазы и анафазы клеточного цикла, но отметили увеличение уровня микроядер в клетках костного мозга [47]. Некоторыми авторами было отмечено снижение уровня генотоксических эффектов в клетках красного костного мозга после замены в рационе воды с содержанием *NaF* на воду без генотоксиканта [5, 48].

Имеются данные о значительных генотоксических эффектах, возникающих в клетках иных тканей лабораторных животных под воздействием фторид-иона: гепатоцитах [5, 49, 50] и клетках почек [5, 51]. Также имеются исследования, в которых авторы не нашли никаких доказательств генотоксичности фторид-иона *in vivo*. В данных работах генотоксические эффекты изучались в клетках буккального эпителия крыс [52], гепатоцитах мыши [53] и тестикулярных клетках крысы [54].

Следует отметить, что подавляющее большинство исследований, посвящённых изучению генотоксичности фтора фторид-иона, как *in vitro*, так и *in vivo*, проведено на клетках, не контактирующих с костной тканью, в которой фтор непосредственно аккумулируется. Исключением являются клетки красного костного мозга. В то же время не изучено генотоксическое влияние фторид-иона на остеобласты и хондробласты. Целесообразно проведение серии экспериментов *in vitro* для устранения данного «белого пятна».

Фторид-ион как мутаген

На мутагенные свойства фтора было указано рядом авторов. При проведении тестирования с помощью метода учёта частоты доминантных летальных мутаций у *Drosophila melanogaster* было отмечено, что воздействие на самцов фторида натрия приводит к значимому увеличению летальных мутаций и числа стерильных особей [13–16]. В одном из современных исследований для оценки мутагенного потенциала *NaF* был проведён соматический мутационный и рекомбинационный тест *Drosophila melanogaster* (SMART). Авторы определили, что *NaF* обладает генотоксическим и токсическим эффектами при концентрациях 5 и 10 мкг/мл [17]. В то же время применение теста Эймса давало отрицательные результаты в отношении мутагенности фторидов [18–20]. Следует отметить, что, хотя анализ мутаций на бактериях имеет высокое предсказательное значение для мутагенности, многие известные мутагены млекопитающих не обнаруживают мутагенных свойств по стандартному протоколу теста Эймса [21]. Ввиду противоречивости данных и недостатка современных публикаций на тематику мутагенности фторидов необходимо проведение дополнительных исследований. В случае проведения теста Эймса целесообразно увеличение уровня воздействия относительно ранее проведённых экспериментов.

Антигенотоксические и синергические свойства фторид-иона

Отдельного внимания заслуживает ряд публикаций, в которых рассматриваются способности фторид-иона модулировать генотоксические эффекты, возникающие под влиянием иных генотоксикантов. В ранее упомянутой работе Mukherjee и Sobels исследовано влияние двух ингибиторов гликолиза *NaF* и иодацетамида на продуцирование рецессивных летальных мутаций рентгеновскими лучами у зрелой спермы дрозофилы. Было отмечено, что совместное воздействие фторид-иона и рентгеновского излучения синергически влияет на уровень мутаций в зрелых сперматозоидах [55]. В работе N.V. Luchnik и соавт. проводилось культивирование лейкоцитов человека в условиях воздействия фторид-иона и дальнейшее облучение гамма-радиацией. Культивация лейкоцитов с *NaF*, так же как и одновременное воздействие фторид-иона и гамма-радиации, привела к значимому увеличению частоты хромосомных aberrаций по сравнению с неэкспонированным контролем и культурой, подвергшейся только облучению. Авторы обеих работ объяснили наблюдающийся синергизм способностью фторид-иона ингибировать деятельность системы репарации ДНК [56].

В эксперименте E. Vogel был определён сильный антимутагенный эффект фторид-иона при одновременном воздействии на *Drosophila melanogaster* полифункциональных алкилирующих агентов тренимона и 1-фенил-3,3-диметилтриазенома [14]. В работе Obe и Slacik-Erben первичные культуры клеток человека подвергались обработке алкилирующими агентами (AI39, тренимон, ТЕВ) и/или *NaF*. Во всех случаях повышенное содержание фторид-иона в ростовой среде значительно снижало уровень хроматидных разрывов и транслокаций по сравнению с пробами, содержащими только алкилирующие агенты [57]. В другой публикации авторов описан эксперимент на человеческих лейкоцитах, культивируемых с тренимоном и *NaF*. Предварительная, одновременная и поздняя обработка *NaF* значительно снижала уровень aberrантных метафаз и увеличивала синтез ДНК в клетках, обработанных тренимоном. Авторы пришли к выводу о способности фторид-иона снижать алкилирование ДНК, что в свою очередь объясняет наблюдаемый антимутагенный эффект [58]. В более современной публикации S. Podder также была отмечена способность фторид-иона противодействовать алкилированию ДНК. В этом

эксперименте мыши получали различные концентрации *NaF* с водой в течение 30 дней и одновременное воздействие митомицина С. Авторы отметили, что повышенные концентрации фторид-иона в отсутствие митомицина дозозависимо приводят к значительному увеличению уровня аберрантных метафаз и хроматидных разрывов в клетках красного костного мозга. Совместное воздействие фторид-иона и митомицина привело к значительному снижению уровня аберрантных метафаз по сравнению с группой, обработанной только митомицином [8]. Рассматривая все имеющиеся данные, можно резюмировать, что фториды в зависимости от ситуации могут оказывать синергичное промутагенное действие и антимутагенное действие при воздействии алкилирующих агентов. Следует отметить ограниченность проведённых исследований. Изучалось параллельное воздействие фтора и некоторых типов генотоксикантов, таких как ионизирующее излучение и алкилирующие агенты. Ультрафиолетовое излучение, окислители, интеркалирующие красители, цитостатики изучены не были. Во всех рассмотренных случаях мутагенное действие фторид-иона могло маскироваться токсическими эффектами, что имеет смысл принимать во внимание при исследовании мутагенных эффектов сочетанного действия.

Генотоксические эффекты фторид-иона в человеческих популяциях

Изучение генотоксических последствий хронического воздействия фторид-иона также проводилось на человеческих популяциях. В работе R. Jackson и соавт. было показано, что хроническое потребление воды с содержанием фторид-иона 4 мг/л приводит к статистически значимому повышению уровня СХО в лейкоцитах крови по сравнению с группами, в чей рацион входит вода с концентрациями *NaF* 0,2 и 1 мг/л [59]. Иной результат был получен Y. Li и соавт., которые изучали риски развития генотоксических эффектов, возникающие в популяциях людей при длительном потреблении фтора с питьевой водой. Было отмечено, что поступление фторид-иона в указанных пределах не влияет на частоту сестринских хроматидных обменов в лимфоцитах крови [60]. При исследовании уровня генотоксических эффектов в лейкоцитах крови лиц, больных остеопорозом и подвергающихся фтористой терапии, генотоксические эффекты фторид-иона также не наблюдались [61, 62]. Следует отметить недостаточную изученность проблемы генотоксического воздействия фтора на человеческие популяции. Изучены сравнительно малые популяционные выборки, и в качестве материала для исследования авторы ограничивались лейкоцитами крови. Не подлежит сомнению факт увеличения концентрации фторид-иона в плазме крови при хронической фтористой интоксикации. В то же время необходимо проведение исследования клеточных объектов, непосредственно контактирующих с фторидами как на входе (буккальный эпителий), так и в местах депонирования (красный костный мозг). В связи с противоречивостью данных целесообразно проведение дополнительных исследований лейкоцитов крови в популяциях, подверженных хронической фтористой интоксикации. Во всех случаях необходимо изучение не только кластогенных эффектов, но и анеугенных, а также уровня первичного повреждения ДНК.

Механизмы генотоксичности фторид-иона

Все опубликованные данные свидетельствуют о том, что генотоксичность, свойственная фтору, связана со способностью фторид-иона индуцировать митохондриальные повреждения и окислительный стресс. Такие события могут завершаться клеточной смертью через активацию про-

апоптотической каспазы (каспазы 3, 9 и др.) или некроз. Некоторые авторы продемонстрировали, что фтор при низких концентрациях индуцирует окислительный стресс, приводящий к апоптозу на лимфоцитах человека *in vitro* [63]. Похожие наблюдения были сделаны на эмбриональных гепатоцитах крыс [43]. По другим данным, воздействие фторид-иона способствует выработке активных форм кислорода с помощью индукции SIRT1/аутофагии через сигнализацию N-концевой киназы c-Jun в амелобластах. Также было отмечено выделение цитохрома С, ослабление синтеза АТФ и фосфорилирование γ H2AX [64]. С учётом того, что обработка клеточной линии, подвергающейся воздействию фторид-иона каталазой, значительно снижала гибель клеток, версию об АФК-опосредованной генотоксичности фтора можно считать приоритетной [68]. Существуют данные о способности фторид-иона ингибировать активность ферментов систем биотрансформации ксенобиотиков I и II фазы и ферментов-маркёров окислительного стресса [4]. Также было показано, что фторид-ион при низких концентрациях может влиять на прогрессирование клеточного цикла [63] и через активацию каспазы 3 приводить к последующей фрагментации ДНК [69].

Обсуждение

Большинство экспериментов *in vitro* и *in vivo* дали положительные результаты в отношении генотоксичности фторидов. Природа генотоксического потенциала фторид-иона, вероятно, ассоциирована с его способностью вызывать митохондриальные повреждения и окислительный стресс [27, 63–66, 68], а также ингибировать активность ферментов антиоксидантной системы [5, 67]. Существуют версии о возможном влиянии фторид-иона на активность систем репарации ДНК [56], ферментов системы биотрансформации ксенобиотиков [4] или его способности запускать эпигенетические механизмы, приводящие к генотоксическим последствиям [70]. Данные гипотезы в будущем заслуживают пристального внимания. Результаты обзора согласуются с выводами, к которым пришли авторы иных обзорных публикаций, затрагивающих проблему генотоксичности фтора [2, 70]. В отличие от упомянутых трудов текущая работа охватывает весь период изучения проблемы, но в то же время в ней детально не рассматривается способность фторид-иона вызывать окислительный стресс.

Заключение

С учётом анализа результатов опубликованных работ можно отметить, что фторид-ион, очевидно, обладает рядом генотоксических характеристик и может обладать мутагенными свойствами при хроническом и непосредственном контакте с клеточными объектами. В связи со способностью фторидов депонироваться в костной ткани и наличием корреляции между содержанием иона фтора в костной ткани и концентрацией фторид-иона в биологических жидкостях можно предположить, что фторид-ион при хроническом воздействии способен представлять сильную генотоксическую угрозу для человеческих популяций. Значительная часть населения Земли проживает в регионах с превышенным ПДК фтористых соединений в питьевых водах. Приведённые в обзоре данные дают основания полагать, что такие популяции могут характеризоваться повышенным уровнем генотоксических эффектов. Стоит отметить отсутствие достоверных цитогенетических исследований групп людей, проживающих в зонах риска, в связи с чем проведение таких исследований крайне актуально. Для получения объективных выводов возможно создание международных исследовательских групп из представителей стран, наиболее затронутых проблемой.

Литература / References

- Pramanik S., Saha D. The genetic influence in fluorosis. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2017; 56: 157–62. DOI: <https://10.1016/j.etap.2017.09.008>.
- Perumal E., Paul V., Govindarajan V., Panneerselvam L. A brief review on experimental fluorosis. *Toxicol Lett.* 2013; 223 (2): 236–51. DOI: <https://10.1016/j.toxlet.2013.09.005>.
- Campos-Pereira F.D., Lopes-Aguiar L., Renosto F.L. et al. Genotoxic effect and rat hepatocyte death occurred after oxidative stress induction and antioxidant gene downregulation caused by long term fluoride exposure. *Chem Biol Interact.* 2017; 264: 25–33. DOI: <https://10.1016/j.cbi.2017.01.005>.
- Dutta M., Rajak P., Khatun S., Roy S. Toxicity assessment of sodium fluoride in *Drosophila melanogaster* after chronic sub-lethal exposure. *Chemosphere.* 2017; 166: 255–266. DOI: <https://10.1016/j.chemosphere.2016.09.112>.
- Sinha S., Ghosh M., Mukherjee A. Evaluation of multi-endpoint assay to detect genotoxicity and oxidative stress in mice exposed to sodium fluoride. *Mutat Res.* 2013; 751 (1): 59–65. DOI: <https://10.1016/j.mrgentox.2012.11.006>.
- Thangapandiyar S., Miltonprabu S. Epigallocatechin gallate effectively ameliorates fluoride-induced oxidative stress and DNA damage in the liver of rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2013; 91 (7): 528–37. DOI: <https://10.1139/cjpp-2012-0347>.
- Zhang M., Wang A., Xia T., He P. Effects of fluoride on DNA damage, S-phase cell-cycle arrest and the expression of NF-kappaB in primary cultured rat hippocampal neurons. *Toxicol Lett.* 2008; 179 (1): 1–5. DOI: <https://10.1016/j.toxlet.2008.03.002>.
- Podder S., Chattopadhyay A., Bhattacharya S. *In vivo* suppression by fluoride of chromosome aberrations induced by mitomycin-C in mouse bone marrow cells. *Fluoride.* 2008; 41 (1): 40–3.
- He L.F., Chen J.G. DNA damage, apoptosis and cell cycle changes induced by fluoride in rat oral mucosal cells and hepatocytes. *World J Gastroenterol.* 2006; 12 (7): 1144–8.
- Leite A.L., Santiago J.F.Jr., Levy F.M. et al. Absence of DNA damage in multiple organs (blood, liver, kidney, thyroid gland and urinary bladder) after acute fluoride exposure in rats. *Hum Exp Toxicol.* 2007; 26 (5): 435–40.
- Ribeiro D.A., Salvadori D.M.F., Assis G.F., Marques M.A. Does fluoride cause DNA damage? An *in vitro* evaluation using rats oral mucosa cells. *Braz J Oral Sci.* 2003; 2: 268–71.
- Ribeiro D.A., Alves de Lima P.L., Marques M.E., Salvadori D.M. Lack of DNA damage induced by fluoride on mouse lymphoma and human fibroblast cells by single cell gel (comet) assay. *Braz Dent J.* 2006; 17 (2): 91–4.
- Gerdes R.A., Smith J.D., Applegate H.G. The effects of atmospheric hydrogen fluoride upon *Drosophila melanogaster*. II. Fecundity, hatchability and fertility. *Atmos Environ.* 1971; 5 (3): 117–22.
- Vogel E. Strong antimutagenic effects of fluoride on mutation induction by Trenimon and 1-phenyl-3,3-dimethylthiazene in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Res.* 1973; 20: 339–52.
- Mendelson D. Lack of effect of sodium fluoride on a maternal repair system in *Drosophila* oocytes. *Mutat Res.* 1976; 34 (2): 245–50.
- Mukherjee R.N., Sobels F.H. The effects of sodium fluoride and iodoacetamide on mutation induction by x-irradiation in mature spermatozoa of *Drosophila*. *Mutat Res.* 1968; 6 (2): 217–25.
- Erciyas K., Sarikaya R. Genotoxic evaluation of sodium fluoride in the Somatic Mutation and Recombination Test (SMART). *Food Chem Toxicol.* 2009; 47 (11): 2860–2. DOI: <https://10.1016/j.fct.2009.09.008>.
- Srb V., Mracková G., Kubzová E. et al. Genotoxic activity test of sodium fluoride *in vitro*. *Sb Ved Pr Lek Fak Karlovy Univerzity Hradci Kralove Suppl.* 1992; 35 (3): 219–42.
- Nikiforova V.I. Mechanism of the mutagenic action of fluorine. *Tsitol Genet.* 1982; 16 (6): 40–2.
- Martin G.R., Brown K.S., Matheson D.W. et al. Lack of cytogenetic effects in mice or mutations in *Salmonella* receiving sodium fluoride. *Mutation Res.* 1979; 66: 159–67.
- WHO/IPCS Publication, Environmental Health Criteria 51. Guide to short-term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals. Geneva; 1985.
- Kihlman B.A. Experimentally induced chromosome aberrations in plants. I. The production of chromosome aberrations by cyanide and other heavy metal complexing agents. *J Biophys Biochem Cytol.* 1957; 3: 363–80.
- Mohamed A.H., Smith J.D., Applegate H.G. Cytological effects of hydrogen fluoride on tomato chromosomes. *Can J Genet Cytol.* 1966; 8: 575–6.
- Mohamed A.H. Cytogenetic Effects Of Hydrogen Fluoride Treatment In Tomato Plants. *J Air Pollut Control Assoc.* 1968; 18: 6: 395–8. DOI: <https://10.1080/00022470.1968.10469145> <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00022470.1968.10469145>
- Mohamed A.H. Chromosomal changes in maize induced by hydrogen fluoride gas. *Can J Genet Cytol.* 1970; 12 (3): 614–20.
- Hirano S., Ando M. Fluoride mediates apoptosis in osteosarcoma UMR 106 and its cytotoxicity depends on the pH. *Arch Toxicol.* 1997; 72: 52–8.
- Das J., Ghosh J., Manna P., Sil P.C. Taurine provides antioxidant defense against NaF-induced cytotoxicity in murine hepatocytes. *Pathophysiology.* 2008; 15: 181–90. DOI: <https://10.1016/j.pathophys.2008.06.002>.
- Ghosh J., Das J., Manna P., Sil P.C. Cytoprotective effect of arjunolic acid in response to sodium fluoride mediated oxidative stress and cell death via necrotic pathway. *Toxicol In Vitro.* 2008; 22: 1918–26. DOI: <https://10.1016/j.tiv.2008.09.010>.
- Jia L., Zhang Z., Zhai L., Zhang Y., Sun G. DNA damage induced by fluoride in rat kidney cells. *Fluoride.* 2008; 41: 297–300.
- Aardema M.J., Gibson D.P., LeBoeuf R.A. Sodium fluoride-induced chromosome aberrations in different stages of the cell cycle: a proposed mechanism. *Mutat Res.* 1989; 223 (2): 191–203.
- Tsutsui T., Suzuki N., Ohmori M. Exchanges, and unscheduled DNA synthesis in cultured Syrian transformation, chromosome aberrations, sister chromatid sodium fluoride-induced morphological and neoplastic hamster embryo cells. *Cancer Res.* 1984; 44 (3): 938–41.
- He W., A. Liu, H. Bao, Y. Wang, W. Cao. Effect of sodium fluoride and fluoroacetamide on sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in cultured Red Muntjac (*Muntjac muntjac*) cells. *Acta Scient Circumst.* 1983; 3: 94–100.
- Khalil A.M. Chromosome aberrations in cultured in bone marrow cells treated with inorganic fluorides. *Mutat Research.* 1995; 343: 67–74.
- Lee T.C., Jan K.Y., Wang T.C. Induction of sister chromatid exchanges by arsenite in primary rat tracheal epithelial cells. *Bull Inst Zool Acad Sinica.* 1988; 27: 105–10.
- Kishi K., Ishidab T. Clastogenic activity of sodium fluoride in great ape cells. *Mutat Res.* 1993; 301 (3): 183–8.
- Tiwari H., Rao M.V. Curcumin supplementation protects from genotoxic effects of arsenic and fluoride. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48: 1234–8. DOI: <https://10.1016/j.fct.2010.02.015>.
- Pant H.H., Rao M.V. Evaluation of *in vitro* anti-genotoxic potential of melatonin against arsenic and fluoride in human blood cultures. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2010; 73 (6): 1333–7. DOI: <https://10.1016/j.ecoenv.2010.05.004>.
- Jachimczak D., Skotarczak B. The effect of fluoride and lead ions on the chromosomes of human leukocytes *in vitro*. *Genet Polon.* 1978; 19: 353–7.
- Kleinsasser N.H., Weissacher H., Wallner B.C. et al. Cytotoxicity and genotoxicity of fluorides in human mucosa and lymphocytes. *Laryngorhinootologie.* 2001; 80 (4): 187–90.
- Scott D. Cytogenetic effects of sodium fluoride in cultured human fibroblasts. In: *Proceedings of the 4th International Conference on Environmental Mutagens.* Stockholm; 1985.
- Hayashi N., Tsutsui T. Cell cycle dependence of cytotoxicity and clastogenicity induced by treatment of synchronized human diploid fibroblasts with sodium fluoride. *Mutat Res.* 1993; 290: 293–302.
- Anuradha C.D., Kanno S., Hirano S. Fluoride induces apoptosis by caspase-3 activation in human leukemia HL-60 cells. *Arch Toxicol.* 2000; 74: 226–30.
- Wang A., Xia T., Chu Q. et al. Effects of fluoride on lipid peroxidation, DNA damage and apoptosis in human embryo hepatocytes. *Biomed Environ Sci.* 2004; 17: 217–22.
- Jagiello G., Lin J.S. Sodium fluoride as potential mutagen in mammalian eggs. *Arch Environ Health.* 1974; 29: 230–5.
- Thomson E.J., Kilanowski F.M., Perry P.E. The effect of fluoride on chromosome aberration and sister chromatid exchange frequencies in cultured human lymphocytes. *Mutat Res.* 1985; 144: 89–92.
- Mohamed A.H., Chandler M.E. Cytological effects of sodium fluoride on mice. In: *Proceedings of the conference earings before subcommittee on the committee on Government operation, House of Representatives, 95th Congress, 1st session.* Washington; 1977: 42–60.
- Zeiger E., Gulati D.K., Kaur P., Mohamed A.H., Revazova J., Deaton T.G. Cytogenetic studies of sodium fluoride in mice. *Mutagenesis.* 1994; 9 (5): 467–71.
- Podder S., Chattopadhyay A., Bhattacharya S. Reduction in fluoride-induced genotoxicity in mouse bone marrow cells after substituting high fluoridecontaining water with safe drinking water. *J Appl Toxicol.* 2011; 31: 703–5.
- Thangapandiyar S., Miltonprabu S., Can J. Epigallocatechin gallate effectively ameliorates fluoride-induced oxidative stress and DNA damage in the liver of rats. *Physiol Pharmacol.* 2013; 91 (7): 528–37. DOI: <https://10.1139/cjpp-2012-0347>.
- Song G.H., Huang F.B., Gao J.P. et al. Effects of fluoride on DNA damage and caspase-mediated apoptosis in the liver of rats. *Biol Trace Elem Res.* 2015; 166 (2): 173–82. DOI: <https://10.1007/s12011-015-0265-z>.
- Song G.H., Gao J.P., Wang C.F. et al. Sodium fluoride induces apoptosis in the kidney of rats through caspase-mediated pathways and DNA damage. *J Physiol Biochem.* 2014; 70 (3): 857–68. DOI: <https://10.1007/s13105-014-0354-z>.
- Ribeiro D.A., Marques M.E., de Assis G.F. et al. No relationship between subchronic fluoride intake and DNA damage in Wistar rats. *Caries Res.* 2004; 38 (6): 576–9. DOI: <https://10.1159/000080590>.
- Leite Ade L., Santiago J.F.Jr., Levy F.M. et al. Absence of DNA damage in multiple organs (blood, liver, kidney, thyroid gland and urinary bladder) after acute fluoride exposure in rats. *Hum Exp Toxicol.* 2007; 26 (5): 435–40. DOI: <https://10.1177/0960327107076288>.
- Skare J.A., Wong T.K., Schrotel K.R. Lack of genotoxic activity of sodium fluoride in an *in vitro* DNA repair assay and an *in vivo* DNA damage assay. *Environ Mutagen.* 1985; 7 (3): 72. DOI: [https://10.1016/0165-1218\(86\)90085-6](https://10.1016/0165-1218(86)90085-6).

55. Mukherjee R.N., Sobels F.H. The effects of sodium fluoride and iodoacetamide on mutation induction by x-irradiation in mature spermatozoa of *Drosophila*. *Mutat Res.* 1968; 6 (2): 217–25.
56. Luchnic N.V., Poryadkova N.A., Izmailova N.N. The influence of inhibitors of cellular respiration on the production of structural mutations in human lymphocytes irradiated during different stages of the mitotic cycle. *Genetika*. 1985; 21: 252–61.
57. Obe G., Slacik-Erben R. Suppressing activity by fluoride on the induction of chromosome aberrations in human cells with alkylating agents *in vitro*. *Mutat Res.* 1973; 19: 369–71.
58. Slacik-Erben R., Obe G. The effect of sodium fluoride on DNA synthesis, mitotic indices and chromosomal aberrations in human leukocytes treated with Trenimon *in vitro*. *Mutat Res.* 1976; 37: 253–66.
59. Jackson R.D., Kelly S.A., Noblitt T.W. et al. Lack of Effect of Long-Term Fluoride Ingestion on Blood Chemistry and Frequency of Sister Chromatid Exchange in Human Lymphocytes. *Environ Mol Mutagen.* 1997; 29: 265–71.
60. Li Y., Liang C.K., Katz B.P. et al. Long-term exposure to fluoride in drinking water and sister chromatid exchange frequency in human blood lymphocytes. *J Dent Res.* 1995; 74 (8): 1468–74.
61. van Asten P., Darroudi F., Natarajan A.T. et al. Cytogenetic effects on lymphocytes in osteoporotic patients on long-term fluoride therapy. *Pharm World Sci.* 1998; 20 (5): 214–8.
62. Jackson R., Kelly S., Noblitt T. et al. The effect of fluoride therapy on blood chemistry parameters in osteoporotic females. *Bone Miner.* 1994; 27: 13–23.
63. Jothiramajayam M., Sinha S., Ghosh M. et al. Sodium fluoride promotes apoptosis by generation of reactive oxygen species in human lymphocytes. *J Toxicol Environ Health A.* 2014; 77 (21): 1269–80. DOI: <https://doi.org/10.1080/15287394.2014.928658>.
64. Suzuki M., Bandoski C., Bartlett J.D. Fluoride induces oxidative damage and SIRT1/autophagy through ROS-mediated JNK signaling. *Free Radic Biol Med.* 2015; 89: 369–78. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.08.015>.
65. Liu L., Zhang Y., Gu H., Zhang K., Ma L. Fluorosis induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis in osteoblasts *in vivo*. *Biol Trace Elem Res.* 2015; 164 (1): 64–71. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12011-014-0192-4>.
66. Deng H., Kuang P., Cui H. et al. Sodium fluoride (NaF) induces the splenic apoptosis via endoplasmic reticulum (ER) stress pathway *in vivo* and *in vitro*. *Ageing (Albany NY)*. 2016; 8 (12): 3552–67. DOI: <https://doi.org/10.18632/aging.101150>.
67. Zhou B.H., Zhao J., Liu J. et al. Fluoride-induced oxidative stress is involved in the morphological damage and dysfunction of liver in female mice. *Chemosphere.* 2015; 139: 504–11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.08.030>.
68. Nguyen Ngoc T.D., Son Y.O., Lim S.S., Shi X., Kim J.G., Heo J.S. et al. Sodium fluoride induces apoptosis in mouse embryonic stem cells through ROS-dependent and caspase- and JNK-mediated pathways. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012; 259 (3): 329–37.
69. Karube H., Nishitai G., Inageda K., Kurosu H., Matsuoka M. NaF activates MAPKs and induces apoptosis in odontoblast-like cells. *J Dent Res.* 2009 88 (5): 461–5.
70. Ribeiro D.A., Yujra V.Q., da Silva V.H.P., Claudio S.R., Estadella D., de Barros Viana M. et al. Putative mechanisms of genotoxicity induced by fluoride: a comprehensive review. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2017; 24 (18): 15254–9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9105-3>.