

KRONİK TİNER İNHALASYONUNUN SIÇAN AKCİĞER VE KARACİĞER DOKULARI LİPİD PEROKSİDASYONLARINA ETKİSİ*

Emel ZENGİN ULAKOĞLU, Atilla SAYGI, M. Koray GÜMÜŞTAŞ, Erkan ZOR,
Asuman AKKAYA, Emine KÖKOĞLU

Background and Design.- We studied the effect of chronic thinner inhalation (during 5 weeks) on lipid peroxidation in the lung and liver of the rats. Additionally, we studied superoxide dismutase (SOD) activities and reduced glutathione (CSH) levels.

Results.- Significant increases were found in lipid peroxidation (TBA RS) levels of rats which had inhaled thinner compared to those of the control group ($p=0.000$). As opposed to increases in the TBA-RS levels, significant decreases in the SOD activities and GSH levels were observed when compared to the rats in the control group ($p=0.000$).

Conclusion.- Increases in peroxidative damage due to the reactive oxygen species generation and decreases in the antioxidant capacity may be the cause of some progressive dysfunction in these tissues.

Zengin Ulakoğlu E, Saygı A, Gümüştas MK, Zor E, Akkaya A, Kökoğlu E. The effect of chronic thinner inhalation on lipid peroxidation in rat lung and liver. *Cerrahpaşa J Med* 1998; 29 (2): 75-78.

GİRİŞ ▲

Sanayide yaygın kullanım alanı olan sellülozik tinerin son yıllarda ülkemizde, özellikle de adolesan çağındaki çocuklar arasında giderek artan uyuşturucu amaçlı kullanımı, ciddi sağlık ve sosyal sorun haline gelmiştir. Bakırköy Ruh ve Sinir Hastalıkları Hastanesi Alkol ve Madde Bağımlıları Araştırma ve Tedavi Merkezi'nin (AMATEM) kayıtlı verilerine göre, tiner bağımlılığı nedeniyle tedavi için başvuran çocuk sayısı 1995 yılı içine 529 olmuştur. İngiltere'de ise narkotik amaçla kullanılan uçucu bileşik inhalasyonunun yılda yaklaşık 100 ölüme yol açtığı bildirilmektedir.¹

Birçok uçucu bileşik ve/veya karışımların uzun süreli olarak kullanımının akciğer ve karaciğerde kalıcı hasarlara yol açtığı gösterilmiştir.^{2,3} Organik solventlerin hücre hasarındaki toksik etkilerini reaktif oksijen ürünleri (ROS) oluşumu yolu ile gösterdikleri de bildirilmiştir.⁴ Süperoksit anyonu, ferril ve hidroksil iyonları gibi reaktif oksijen ürünlerinin lipid peroksidasyonlarını başlattığı bilinmektedir. Geleneksel olarak dokularda ROS'un yaptığı hasar lipid peroksidasyonlarının ölçümü ile belirlenmektedir. Biyolojik membranlarda lipid peroksidasyonlarına yol açan ROS oluşumu membran fonksiyonlarının bozulmasına neden olmaktadır.⁵ Bazı organik solventlerin ve toluenin pulmoner alveoler makrofajlarda ve akciğer mikrozomlarında lipid peroksidasyonlarını başlattığı,^{6,7} karaciğerde ise ileri ROS oluşumunun hızlandırdığına ait deneysel çalışmalar mevcuttur.⁸ Tiner inhalasyonunun ise, akciğer ve karaciğer dokularının lipid peroksidasyonları üzerindeki değişimlerini yansıtan herhangi bir çalışmaya rastlamadık.

Çalışmamızın amacı, tiner bağımlılığının akciğer ve karaciğer dokuları lipid peroksidasyonlarında meydana getirdiği değişiklikleri incelemektir. Bu dokulardaki lipid

peroksidasyonlarını, malondialdehid (MDA) ile 4-hidroksi alkenallerin, (4-DHA) oluşturduğu TBA-RS (thiobarbituric acid reactive substance) düzeylerini ölçerek tayin etmeyi planladık. Ayrıca antioksidan savunmada görev yapan major enzim superoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri ile serbest tiyol gruplarının varlığı sayesinde hidrojen peroksit ve serbest oksijen radikallerinin indirgenmesini üstlenen indirgenmiş glutatyon (GSH) düzeylerini de incelemeyi amaçladık.

YÖNTEM VE GEREÇLER ▲

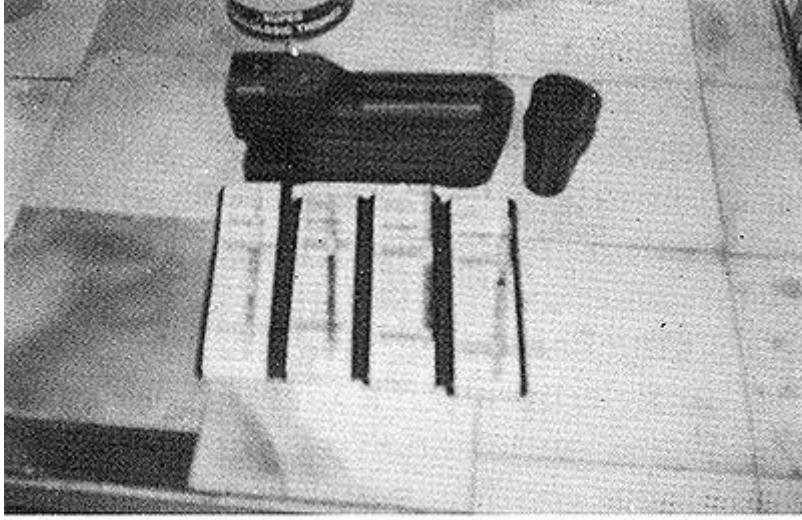
Deney Hayvanları ve İnhalasyon

Çalışmada 100-140 g (6-8 haftalık) ağırlığında 30 adet Wistar Albino sıçan kullanıldı. Araştırma sabit hacim (140.000 cm³), sabit sıcaklık (20-22°C) ve sabit basınçta (deniz seviyesi 760 mmHg) yapıldı. Kontrol grubu dışındaki sıçanlara 5 hafta süre ile günde 2 kez olmak üzere 1'er saat hava vantilasyonlu cam kafeslerde (50x50x35 cm) tiner inhale ettirildi. (Şekil 1). Çalışmada sanayide en çok kullanılan toluen (63%), aseton (13%), isobutil asetat (10%), isobutanol (7.5%) ve butil glikol (6.5%) içerikli selülozik tiner** kullanıldı.



Şekil 1. Kafes içindeki ratlara tiner inhale ettirilmesi

Kafes içine sabit basınçta millipor pompa ile püskürtülen tinerin bileşimindeki solventlerin solunan havadaki konsantrasyonları Drager gaz detektörü (Dragerwerk, Almanya) ile günde iki kez ayrı ayrı ölçüldü. Toluene 100/a, Acetone 100/b, Acetaldehyde 100/a ve Alcohol 25/a Drager gaz detektör tüpleri kullanıldı (Şekil 2). Solventlerin kafes içindeki konsantrasyonları, toluen 3000 ppm, aseton 500 ppm, isobutil asetat 7000 ppm, isobutanol 6000 ppm olacak şekilde standardize edildi. Butil glikol konsantrasyonu özel gaz detektör tüpü bulunmadığından ölçülemedi.



Şekil 2. Tiner bileşimindeki solventlerin ölçümünün yapıldığı Drager gaz detektör tüpleri.

Doku Çalışmaları

İnhalasyon süresi bitiminde sıçanlar dekapite edilerek akciğer ile karaciğer dokuları çıkarıldı, -70°C 'da kimyasal analizler başlayıncaya kadar bekletildi.

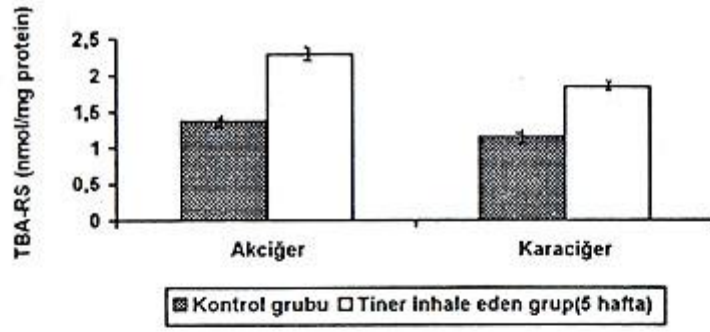
Doku homojenatları, dokular tartıldıktan sonra buz içinde teflon uçlu homojenizator ile 20 mM Tris-HCl tamponunda (pH 7.4) homojenize edilerek 1/10 (w/v) olacak şekilde, hazırlandı. Bu homojenatlar buz içinde 30 saniyelik aralıklarla 3 kez sonikasyona uğratıldı (MSE sonikator, güç çıkışı 38 wat). Daha sonra homojenatlar $2000 \times \text{g}$ devir ve 4°C 'da 30 dak. santrifüj edildi.

Süpernatantlar bekletilmeden alınarak derhal lipid peroksidasyon ürünleri (MDA+4-DHA) tiyobarbitürik asid yöntemi kullanılarak tayin edildi.⁹ Homojenatta SOD aktiviteleri Sun'ın nitroblue tetrazolium yöntemi ile,¹⁰ GSH düzeyleri ise DTNB [5,5'-Ditiyobis (2-nitrobenzoik asid)] ile renklendirme esasına dayanan yöntem ile çalışıldı.¹¹ Protein miktarları Lowry yöntemi ile tayin edildi.¹²

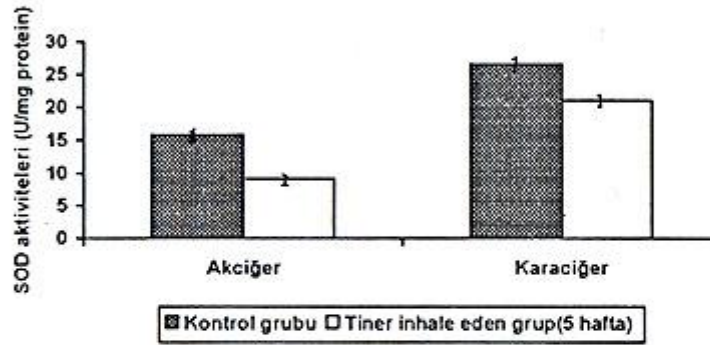
İstatistiksel değerlendirmelerde "eşli t' testi kullanıldı.

BULGULAR ▲

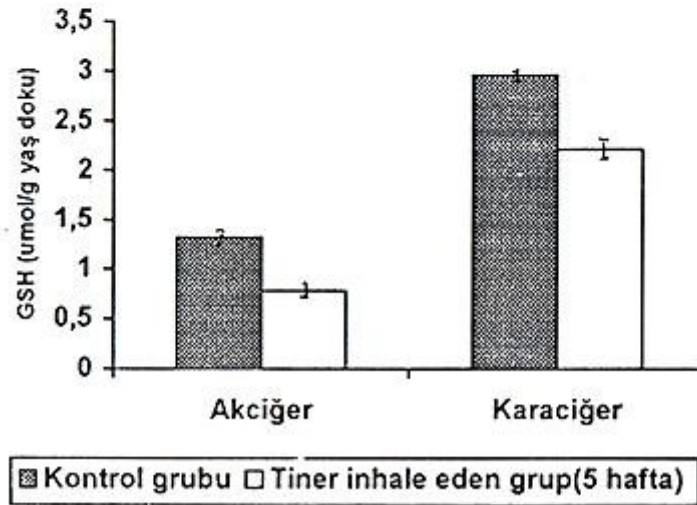
Kronik tiner inhalasyonunun sıçan akciğer ve karaciğer dokuları lipid peroksidasyonları düzeylerinde meydana getirdiği artmalar ile SOD aktiviteleri ve GSH düzeylerindeki azalmaların ortalama değerleri ve $\pm\text{SD}$ 'ları kontrol gruplarına ait olanlarla birlikte Şekil 3, 4 ve 5'de gösterilmektedir.



Şekil 3. Sıçan akciğer ve karaciğer dokusu TBA-RS (MDA+4-DHA) düzeyleri



Şekil 4. Sıçan akciğer ve karaciğer dokusu superoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri



Şekil 5. Sıçan akciğer ve karaciğer dokusu indirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyleri.

Kontrol grubu akciğer ve karaciğer dokuları TBA-RS düzeyleri sırasıyla 1.37 ± 0.03 nmol/mg protein ve 1.15 ± 0.04 nmol/mg protein'den 5 hafta inhalasyon sonunda 2.29 ± 0.07 nmol/mg protein ve 1.84 ± 0.06 nmol/mg protein'e yükselmiştir ($p=0.000$). Akciğer ve karaciğer dokuları SOD aktiviteleri ise sırasıyla 15.73 ± 1.35 U/mg protein ve 26.63 ± 1.72 U/mg protein olan normal düzeylerinden 9.12 ± 1.72 U/mg protein ve 21.02 ± 2.26 U/mg protein düzeylerine düşmüştür ($p:0.000$). Buna paralel olarak akciğer ve karaciğer dokuları GSH düzeyleri de normal değerleri olan 1.32 ± 0.05 μ mol/g yaş doku ve 2.97 ± 0.06 μ mol/g yaş doku

düzeylerinden 0.78 ± 0.05 $\mu\text{mol/g}$ yaş doku ve 2.22 ± 0.08 $\mu\text{mol/g}$ yaş doku düzeylerine inmiştir (p:0.000).

TARTIŞMA ▲

Uçucu bileşikler etkisiyle, biolojik membranların yapısında, ilerleyen dejenerasyon ve aktivite kayıplarının meydana geldiği bilinmektedir.²

Organik solventlerin ROS yolu ile doku hasarı patogeneziindeki değişikliklerini inceleyen çalışmaların ise sayısı çok fazla değildir. Membranlarda lipid peroksidasyonlarına yol açan ROS oluşması membran fonksiyonlarının bozulmasına: akışkanlık azalması, membrana bağlı proteinlerin inaktivasyonu, hücre-içi Ca^{2+} düzeyi artışı ve $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ ATP-az aktivitesi artışları, neden olur.^{4,5}

Mattia ve arkadaşları, in vivo ve in vitro çalışmalarında, intraperitoneal olarak uyguladıkları toluen etkisiyle beyin, karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında ROS oluşumunun hızlandığını ve lipid peroksidasyonlarının arttığını bildirmişlerdir.^{4,8,13} Aynı araştırmacılar toluen ile birlikte metabolizma ürünleri olan benzil alkol ve benzaldehidin de karaciğer mitokondri fraksiyonlarında ileri düzeyde ROS oluşumunu hızlandığını göstermişlerdir.⁸ Toluenin bu etkisini, karışık fonksiyonlu oksidaz ve aldehid dehidrogenaz tarafından katabolizmaya uğratılırken, açığa çıkan süperoksit anyonunun artışına bağlamışlardır.^{8,14}

Çalışmamızda kullandığımız tiner bileşiminin en yoğun kısmını oluşturan (63%) ve dolayısıyla toksik etkisinin de en yüksek olduğunu düşündüğümüz toluen inhalasyonu sonucunda elde ettiğimiz lipid peroksidasyonu bulguları Mattia ve arkadaşlarının toluen ile yaptıkları çalışmalara uymaktadır. Ancak solventlerin karışım halinde bulduklarında çok düşük konsantrasyonlarda bile olsalar, birbirleriyle sinerjik etki gösterdiklerini ve hatta birbirlerinin toksik etkilerini arttırdıklarını de göz önünde bulundurmalıdır.¹⁵ Bununla birlikte bizim çalışmamızdaki asıl gayemiz bir organik solvent karışımı olan başlıca tinerin solunum sistemi yolu ile akciğer ve karaciğer dokuları lipid peroksidasyonlarını ne derecede etkilediğini araştırmaktır. Literatür araştırmamızda bu amaçla yapılan herhangi bir çalışmaya rastlamadık.

Kronik tiner inhalasyonunun sıçan akciğer ve karaciğer dokularında meydana getirdiği SOD aktivite kayıplarının ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyon düzeylerindeki artışların ROS oluşumunun hızlanmasıyla ilişkili olduğunu düşünmekteyiz. GSH düzeylerindeki azalmalar ise antioksidan savunma için artmış olan utilizasyona bağlanabilir.

Peroksidatif hasarlarda artmalar, antioksidan kapasitelerde ise azalmalar, yüksek doz tiner inhalasyonunun doğurduğu önemli komplikasyonlardır. Bunlar gibi diğer hayati organlarda da kalıcı ve ölümcül olabilecek hasarların ortaya çıkarabileceği düşünülerek, ülkemizde gençler arasında hızla yaygınlaşmakta olan tiner ve benzeri maddelerin uyuşturucu amaçlı kullanımının eğitimsel ve yasal önlemlerle engellenmesini umut etmekteyiz.

ÖZET ▲

Sanayide yaygın olarak kullanılarak tinerin, gençler tarafından narkotik amaçla kullanılmasının giderek artması ciddi sağlık bozuklukları yanında sosyal problemlerin de gelişmesine yol açmaktadır. Birçok uçucu bileşik ve tiner gibi organik madde karışımları, deney hayvanlarına çeşitli yollarla tatbik edilerek, bazı organ lipid peroksidasyonları

üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada yüksek doz tiner koklatılan sıçanların akciğer ve karaciğer dokularında lipid peroksidasyon (TBA-RS) düzeyleri, glutatyon (GSH) düzeyleri ve süperoksid dismutaz (SOD) aktiviteleri incelenmiştir. Araştırmada 30 adet Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Bunlardan 15 tanesine 5 hafta süre ile günde iki kez 1'er saat özel cam kafeslerde tiner inhale ettirilmiş, inhalasyon süresi tamamlandığında akciğer ve karaciğer dokuları incelenmeye alınmıştır. Doku homojenatlarında TBA-RS düzeyleri (MDA+4-DHA) tiyobarbiturik asid yöntemi, GSH düzeyleri Fairbanks'in DTNB yöntemi, SOD aktiviteleri ise Sun'in nitroblue tetrazolium yöntemine uygun olarak çalışılmıştır. Kontrol grubu ve tiner inhale eden sıçan grupları karşılaştırıldığında TBA-RS düzeylerinde artma (p: 0.000) GSH düzeyleri ve SOD aktivitelerinde ise azalma (p: 0.000) kaydedilmiştir. Kronik tiner inhale eden sıçan grubunda serbest radikal oluşumunun artması, SOD aktivitelerinde düşmelere ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyon düzeylerinde yükselmelere yol açmaktadır. GSH düzeylerindeki azalmalar ise artmış olan ütilizasyona bağlanabilir.

KAYNAKLAR ▲

1. Flanagan RJ, Ruprah M, Meredith TJ, Ramsey JD. An introduction to the clinical toxicology of volatile substances. *Drug Saf* 1990; 5: 359-383.
2. Marjot R and McLeod AA. Chronic non-neurological toxicity from volatile substance abuse. *Human Toxicol* 1989; 8: 301-306.
3. Al-Alousi LM. Pathology of volatile substance abuse: a case report and a literature review. *Med Sci Law* 1989; 29: 189-208.
4. Mattia CJ, LeBel CP and Bondy SC. Effects of toluene and its metabolites on cerebral reactive oxygen species generation. *Biochem Pharmacol* 1991; 42: 879-882.
5. LeBel CP, Schatz RA. Altered synaptosomal phospholipid metabolism after toluene. Possible relationship with membrane fluidity, Na⁺, K⁺ -adenosine triphosphate and phospholipid methylation. *J Pharmacol Exp Ther* 1990; 253: 1189-1197.
6. Suleiman SA. Petroleum hydrocarbon toxicity in vitro: Effects of n-alkanes, benzene and toluene on pulmonary alveolar macrophages and lysosomal enzymes of the lung. *Arch Toxicol* 1987; 59: 402-407.
7. Stickney JA, Roberts AE, Silverman DM, Schatz RA. The effect of m-xylene on rat lung benzo [a] pyrene metabolism and microsomal membrane lipids: Comparison with p-xylene. *Toxicol* 1989; 58: 155-165.
8. Mattia CJ, Adams JD, Bondy SC. Free radical induction in the brain and liver by products of toluene catabolism. *Biochem Pharmacol* 1993; 46: 103-110.
9. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, Narayanan K, Kuhns DB, Basford RE, Futrell JW. The critical relationship between free radicals and degrees of ischemia. Evidence for tissue intolerance of marginal perfusion. *Plast Reconstr Surg* 1988; 81: 233-239.
10. Sun Y, Patterson TE, McCormick ML, Oberley LW, Osborne JW. Improved superoxide dismutase assay for clinical use. *Clin Chem* 1989; 35: 1265-1266.
11. Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspects of hematology, in *Textbook of Clinical Chemistry*. NW Tietz (ed) Philadelphia, Saunders Company, 1986; 1508-1510.
12. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
13. Mattia CJ, Ali SF and Bondy SC. Toluene-induced oxidative stress in several brain regions and other organs. *Mol Chem Neuropathol* 1993; 18: 313-328.
14. Bondy SC, Naderi S. Contribution of hepatic cytochrome P450 systems to the generation of reactive oxygen species. *Biochem Pharmacol* 1994; 48: 155-159.
15. Allen R, Kidd H, Lyons G, Templer S, Hannat M. Solvents, in *Chemical Safety Data Sheets*. D. Walsh (ed). Newcastle-Upon-Tyne, UK, Athenaueum Press, 1992;1-4, 190-195, 303-305.

-
- *Anahtar Kelimeler:* Tiner, Akciğer, Karaciğer, Lipid peroksidasyonu, Süperoksid dismutaz, Glutatyon; *Key Words:* Thinner, Lung, Liver, Lipid peroxidation, Superoxide dismutase, Glutathione; *Alındığı Tarih:* 30 Aralık 1997; Doç. Dr. Emel Zengin Ulakoğlu, Doç. Dr. M. Koray Gümüştas, Dr. Asuman Akkaya, Prof. Dr. Emine Kökoğlu: İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı; Uzm. Dr. Atilla Saygi, Uzm. Dr. Erkan Zor: Heybeliada Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Merkezi. *Yazışma*

Adresi (Address): Dr. E. Zengin Ulakoğlu, İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakóltesi Biyokimya Anabilim Dalı
34303. Cerrahpaşa, İstanbul.

- ** Türk Standartları Enstitüsü, Tiner-Sellülozik TS 9720/Ocak, 1992