

## Trakeadan Verilen Silika Partiküllerinin Sıçan Akciğerinde Oluşturduğu Histopatolojik Değişikliklerin Değerlendirilmesi\*

Ercüment Ege\*\*, Tekin Atak\*\*\*, Nihat Özyardımcı\*\*\*\*, R.Oktay Gözü\*\*\*\*\*,  
Şahsine Tolunay\*\*\*\*\*

**ÖZET.** Akut deneysel silikozisde akciğerlerde meydana gelen histopatolojik değişiklikleri kontrol grubu ve zamana göre incelemek amacıyla bir çalışma planlandı. Deney hayvanı olarak kullanılan sıçanlara tek doz 0.3 ml. serum fizyolojik içinde silika (DQ-12), kontrol grubuna 0.3 ml serum fizyolojik intratrakeal olarak verildi. Daha sonra kontrol ve silika grubundan 10'ar adet sıçan 1.,3.,5. aylarda rastgele seçilerek akciğerleri histopatolojik olarak incelendi. Silika grubunda 1. aydan itibaren belirgin silikotik nodül oluşumu görüldü. Kontrol grubundaki hiçbir sıçanda fibrozis yada nodül saptanmadı. Kontrol grubuyla silikotik nodül oluşumu bakımından 1. ve 5. aylarda istatistiki anlamlı fark saptandı. Silika grubundaki sıçanlarda silikotik nodül oluşumu açısından 1., 3. ve 5. aylar arasında istatistiki anlamlı fark saptanmadı.

**Anahtar Kelimeler .Deneysel silikozis.**

### The Evaluation of the Histopathological Changes in Rat Lungs After the Administration of Silici Particules From Trachea

**SUMMARY.** We planned a study aiming to investigate histopathologic change in the acute experimental silicosis, according the time and control group. We gave a single dose of silica (DQ-12) in the 0.3 ml sterile saline by the intratracheal route to rats in experiment group and also gave 0.3 ml steril saline by same route to rats in control group. Later on ten rats from each group were choosed randomly and lungs of rats were investigated histopathologically in the first, third and fifth months. In silica group the occurrence of significant silicotic nodul following the first month has been seen. Either a nodul or firosis was not found in any rats from control group. Then we compared both of groups according to occurrence of nodul, we found statistically significant difference between two groups in the first and fifth month. But in rats from silica group here were not any statistically significant difference according to the silicotic nodul occurrence between the first, third and fifth months.

**Key Words .Experimental silikosis.**

Silikozis, silika veya silikon dioksit (SiO<sub>2</sub>) olarak adlandırılan mineralin inhalasyonu sonucu oluşan ve sonuçta masif pulmoner fibrozis ile sonuçlanan bir pnömokonyozdur. Silikon dioksit doğada amorf yada kristal şeklinde bulunmaktadır. Kristal form

quartz, cristobalit ve tridmite olarak adlandırılır. Silikozis oluşumunda en önemli olan quartz'tır. Yer kabuğunun % 60'ı silisyumlu maddelerden oluşmaktadır. Yeraltından çıkarılan her maden cevherinde ve çeşitli amaçlarla açılan tünellerde bunun dışında birçok endüstri dalında bu mineral bol miktarda bulunmaktadır. Bu tip işlerde çalışanlarda yıllar içinde silikozis gelişmektedir<sup>1,2,3,4</sup>.

Silikozis patogenezi günümüzde moleküler düzeyde tam olarak aydınlatılamamıştır. Silika partiküllerinin inhalasyonunu takiben akciğerlerde aşağıdaki değişiklikler saptanmaktadır<sup>4</sup>.

\* Çalışma U.Ü. Tıp Fak. Göğüs Hast. ABD tarafından yürütülmüştür.

\*\* Doç. Dr.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Göğüs Hast. ABD

\*\*\* Araş. Gör.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Göğüs Hast. ABD

\*\*\*\* Prof. Dr.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Göğüs Hast. ABD Bşk.

\*\*\*\*\* Prof. Dr.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Göğüs Hast. ABD

\*\*\*\*\* Doç. Dr.; Uludağ Ü. Tıp Fak. Patoloji ABD

Geliş Tarihi: 7.12.1993

Kabul Tarihi: 22.2.1994



1- Alveollere kadar ulaşan partiküller makrofajlarca fagosite edilirler. Ancak kısa sürede lizozomal membran hasarı ile makrofajlarda otoliz oluşmaktadır.

2- 1.maddedeki reaksiyon yeni makrofajlarca tekrarlanmaktadır.

3- Tip II alveoler epitel hücreleri hioplaziyeye uğrar ve lipid salgırlar (Buna bağlı olarak hayvan deneylerinde ve silikozisli insanlarda alveoler lipoproteinozis lezyonları saptanabilmektedir).

4- Tip I alveoler epitel hastarı oluşmaktadır.

5- İnteristisyumda muhtemelen kollojen yapım ve yıkımındaki dengenin bozulmasına bağlı olarak kollojen akümülyasyonu oluşmaktadır.

6- Silikozisin sistemik reaksiyonu sonucu oluşan immunglobulin derivelere birikmesine bağlı olabileceği düşünülen kollajen hyalinizasyonu görülmektedir.

Sonuçta, fibrozisle sonuçlanan silikozisin temelinde immunolojik reaksiyonların sorumlu olduğu düşünülmektedir. İmmun reaksiyonlar sonucunda özellikle makrofaj-fibroblast etkileşimi nedeniyle sekonder olarak doku reaksiyonlarının ortaya çıktığı öne sürülmektedir<sup>3,4</sup>. Silikozis oluşumundan sonra günümüzde küratif bir tedavi yöntemi yoktur. Ayrıca oluşmuş pulmoner fibrozisin tam olarak durdurulması da mümkün değildir. Deneysel silikozis çalışmalarında çeşitli deney hayvanları kullanılarak insanlardaki silikozis modeli oluşturulabilmektedir. Bu çalışmaların çoğunluğu değişen silikozis oluşum teorilerine paralel olarak patogenezi araştırmak üzere yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarda değişik deney hayvanlarında farklı sonuçlar alınmasına rağmen silikotik nodüller oluşturulmaktadır<sup>5,6,7,8</sup>.

Biz bu çalışmayı sıçanlarda oluşabilecek silikozisin zamanla ilişkisini, değişimini ve fibrozisi önlemeye yönelik tedavi rejimlerinin saptanmasına ilişkin ileride yapılacak çalışmalara temel oluşturabilmek amacıyla planladık.

### Gereç ve Yöntem

**Silika:** Çalışmada kullanılan silika (DQ-12) Institute Of Occupational Medicine, Edinburgh'tan temin edildi. Boyutları 5 um.'den küçük partiküllerden oluşmaktaydı ve daha önce aynı amaçla başarı ile kullanılmıştı. silika kullanımdan önce sterilizasyon amacıyla etüvde 250°C'da 2 saat bekletildi. Daha sonra kültür ile bakteriyel kontaminasyon kontrol edildi. Herhangi bir üreme saptanmadı.

**Deney Hayvanları:** Deney hayvanı olarak Wistar türü erkek sıçanlar kullanıldı. Ağırlıkları 180-220 gram arasında, 6-8 haftalık sıçanlar % 99.99 homojenitede idiler. Uludağ Üniversitesi Tıp

Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezinden temin edildiler ve çalışma süresince aynı laboratuvarında bakımları yapıldı. Sıçanlar rastgele iki gruba ayrıldılar; 1. grup kontrol grubu, 2. grup silika grubu.

**Silika Uygulanışı:** Sıçanlara 40 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak thiopentone sodium uygulanarak anestezi sağlandı. Daha sonra baş kısımları 45° yukarıda olacak şekilde yatırılarak trakea üzerindeki cilt ve cilt altı doku 1-1.5 cm'lik bir kesi ile açıldı ve trakea görünür hale getirildi. PPD enjektörü (0.45x13 mm, 26 Gx1/2) kullanılarak kontrol grubuna 0.3 ml. serum fizyolojik, silika grubuna 0.3 ml. serum fizyolojik içinde daha önceden hazırlanmış olan 35 mg. silika intratrakeal olarak enjekte edildi. İnsizyon yerleri (3/0) ipek ile suture edilerek işlem sonlandırıldı. Bu uygulama her sıçan için bir kez yapıldı ve bir daha tekrarlanmadı. Kontrol ve silika grubundaki sıçanlar kulak işaretleri ile ayrı ayrı numaralandırıldı. Daha sonra her iki gruptaki sıçanlar farklı kafeslerde sekizerli gruplar halinde normal yaşamlarına bırakıldılar.

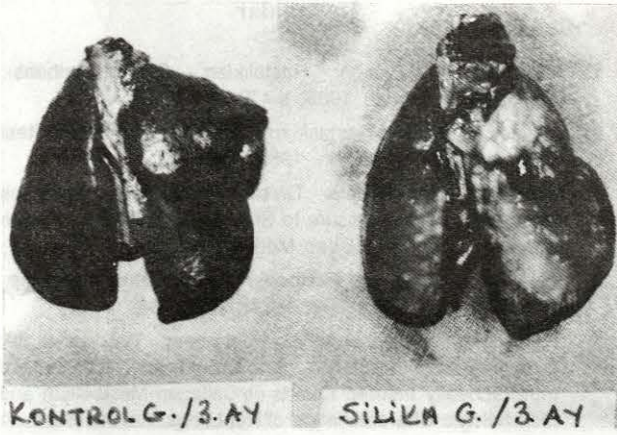
**Histopatolojik Çalışma:** Histopatolojik çalışma Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı. Her iki gruptan 10'ar adet sıçan rastgele seçilerek 1., 3. ve 5. aylarda sakrifiye edildi. Torokotomi ile akciğerler ve trakea tam olarak çıkarıldı ve hemen % 10 formaldehit solusyonuna konuldu. Histopatolojik çalışmaya kadar alınan materyal bu solusyonda saklandı. Makroskopik olarak yapılan incelemeden sonra her sıçanın tüm akciğer loblarından birer kesit yüzeyi alınarak 5 um.'luk parafin kesitler yapıldı. Tüm preparatlar önce hematoksilen eozin ile daha sonra Von Gisson, Masson Trichrom ve retikulum için Gomori yöntemi ile boyanarak mikroskopik inceleme yapıldı.

### Bulgular

1., 3. ve 5. aylarda olmak üzere kontrol ve silika grubundan 10'ar adet sıçan akciğeri makroskopik ve mikroskopik olarak incelemeye alındı. Makroskopik olarak tüm aylarda kontrol grubunda belirgin bir lezyon saptanmadı. Silika grubunda her iki akciğer alanında değişik boyutlarda, gri renkli, sert kıvamda nodüller lezyonlar 1. aydan itibaren görüldü. Aynı lezyonlar kesit yüzeylerinde de saptandı.

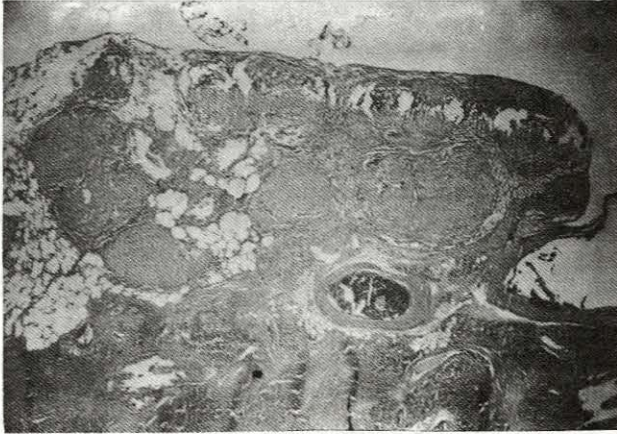
Mikroskopik incelemede kontrol grubu sıçanların hiçbirinde pulmoner fibrozis bulgusu saptanmadı. Ancak hemen her sıçanda kronik bronşit, amfizem, bronşektazi, bazılarında fokal apse odakları ve kollaps saptandı. Kronik bronşit ve amfizeme ait mikroskopik bulgular silika grubundaki sıçanların hepsinde saptanan bulgulardandı. Silika grubundaki





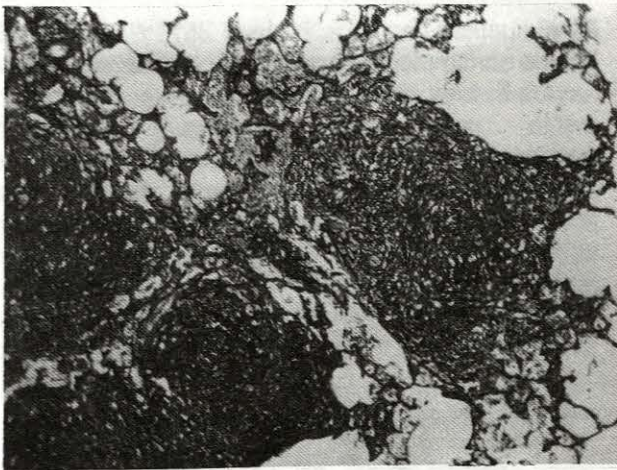
Resim: 1

Kontrol grubu ve silika grubu sıçanların akciğer lezyonlarının makroskopik görünümü



Resim: 2

Silicotik nodüllerin topografik görünümü, H.Ex25



Resim: 3

Silicotik nodüllerin retikulum boyası ile görünümü, Gomori boyasıx100

sıçanlarda 1. aydan itibaren belirgin silicotik nodül oluşumu saptandı. Aynı silicotik nodül oluşumu daha da artmış olarak 3. ve 5. aylarda da saptandı. Silika grubunda 1. ayda 4, 3. ayda 2 ve 5. ayda 5 sıçanda belirgin silicotik nodül oluşumu mevcuttu.

Tablo I'de kontrol ve silika grubunda aylara göre silicotik nodül saptanan deney hayvanı sayıları görülmektedir.

Tablo: I- Silicotik nodül gelişimi saptanan kontrol ve silika grubu sıçan sayıları

Zaman	Kontrol Grubu		Silika Grubu	
	Silicotik Nodül		Silicotik Nodül	
	görülen	görülmeyen	görülen	görülmeyen
1. ay	0	10	4	6
3. ay	0	10	2	8
5. ay	0	10	5	5
Toplam	0	30	11	19

1. ve 5. aylarda silicotik nodül oluşumu açısından kontrol grubu ve silika grubu karşılaştırıldığında ( $p=0.04$  ve  $p=0.01$ ) olmak üzere istatistiki olarak anlamlı bir sonuç elde edilmektedir. 3. ayda kontrol grubuna göre silika grubunda istatistiki olarak anlamlı olabilecek bir silicotik nodül oluşumu saptanmadı ( $p=0.23$ ). 1. 3. ve 5. aylarda silicotik nodül oluşumu saptanan deney hayvanı sayısı arasında da istatistiki olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p=0.36$ ).

### Tartışma

DeneySEL silikozis çalışmalarında silika enjeksiyonunu takip eden 1. günde akciğerler mikroskopik olarak incelendiğinde terminal bronşöller etrafında fokal inflamasyon, alveollerde selüler eksuda izlenmektedir. Nötrofiller hakim hücrelerdir. 3. günden sonra nötrofillerin yerini mononükleer hücreler almaktadır. Alveoler septalarda kalınlaşma tespit edilmektedir. Silika partiküllerinin makrofajlarca fagosite edildiği görülebilmektedir. Tip II alveoler epitel hücrelerinde hiperplazi oluşmaktadır. 7. günde interstisyumda mononükleer hücre infiltrasyonu belirginleşmekte ve kollojen depolanması da gösterilebilmektedir<sup>5,6,7,9,10</sup>.

Bizim çalışmamızda kullandığımız silika ile yapılmış olan benzer bir çalışmada 7. ve 15. günlerde mikroskopik olarak hücreden zengin granülom oluşumları gösterilmiştir. Ramos ve arkadaşları daha ilerideki günlerde kollojen depolanmasının arttığını ve granülomların hücreden fakirleştiğini bildirmektedirler<sup>10</sup>. Çalışmamızda 1. ayda tipik silicotik nodül görünümü 10 deney hayvanından 4'ünde tespit edildi. Silika uyguladığımızı takip eden



## Kaynaklar

1. ayda tipik silikotik nodül saptanması literatür verileri ile uyumlu görüldü. 5. aya kadar sürdürdüğümüz çalışmada silikotik nodüllerin 5. ayda daha geniş alanları kaplamış olarak devam ettiğini tespit ettik. Benzer bir çalışmada 12 aya kadar izlenen sıçanlarda kollajen depolanmasının daha önceki aylara oranla 12. ayda artarak devam ettiği gösterilmiştir<sup>5</sup>. Öte yandan silika enjeksiyonu üzerinden geçen zamanla silikozis gelişen sıçan sayısında bir değişiklik olup olmadığı araştırıldı. 1., 3. ve 5. aylarda silikozis gelişen sıçan sayıları arasında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p=0.23$ ). Sıçanların hepsinde fibrozis ve silikotik nodül oluşmaması, silikozisin immünolojik reaksiyonlar sonucu oluştuğu savını destekler nitelikte bulunmuştur.

Sonuç olarak çalışmamızda 1. aydan itibaren literatür verileri ile uyumlu olarak sıçanlarda bir kez intratrakeal silika uyguladığımızı takiben tipik silikotik nodül oluşumu saptanmıştır. Silika enjeksiyonundan sonra geçen zamana göre fibrotik nodüllerde artış olmaktadır. Ancak silikozis gelişen deney hayvanı sayısında istatistiki olarak anlamlı bir farklılık olmamaktadır. Bu çalışmada elde edilen sonuçların deneysel silikozisin gelişimini durdurabilecek yada engelleyebilecek tedavi rejimlerinin saptanmasına ilişkin araştırmalara yararlı olabileceği kanısına varılmıştır.

Doç. Dr. Ercüment EGE  
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Göğüs Hastalıkları ABD  
Tel: 4428400 / 1103  
16059 Görükle / BURSA

1. Gazioğlu K: Akciğer Hastalıkları, Sanal Matbaası, Cağaloğlu, İstanbul, 1985, s.473-76
2. Vidinel I: Akciğer Hastalıkları, 3.Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova/İzmir, 1989, s. 353-57
3. Silicosis and Silicate Disease Committee: Diseases Associated With Exposure to Silica and Nonfibrous Silicate Minerals, Arch Pathol Lab Med 112:673-718, 1988
4. Murray JF, Nadel A: Textbook of Respiratory Medicine, W.B. Saunders Company, 1988, p.1561-64
5. Reiser KM, Hasch WM, Hesterberg TW, Last JA: Experimental Silicosis, II. Long-Term Effects of Intratracheally Instilled Quarts on Collagen Metabolism and Morphologic Characteristics of Rat Lungs, Am Journal Path 30-40, 1983
6. Lugano EM, Dauber JH, Daniele PP: Acute Experimental Silicosis, Lung Morphology, Histology and Macrophage Chemotaxin Secretion. Am Journal Path 27-36, 1982
7. Adamson IYR, Bowden DH: Role of Polymorphonuclear Leucocytes In Silica Induced Pulmonary Fibrosis, Am Journal Path 37-43, 1984
8. Bowden DH, Adamson IYR: The Role of Cell Injury and The Continuing Inflammatory Response In The Generation of Silicotic Pulmonary Fibrosis, Journal of Path 144:149-61, 1984
9. Bissonnette E, Dobois C, Rola-Pleszozynski M: Changes In Lymphocyte Function and Lung Histology During the Development of Asbestosis and Silicosis In The Mouse, Resarch Com Chem Path and Pharm, 65(2):211-227, 1989
10. Ramos C, Montano M, Gonzales G, Vadillo F: Collagen Metabolism In Experimental Lung Silicosis. A Trimodal Behavior of Collegenolysis, Lung, 166:347-353, 1988