

TOLUEN BİLEŞİKLERİNİN TOKSİK ETKİLERİNİN 4 OTOPSİ OLGUSU ÜZERİNDEN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yrd. Doç. Dr. Nil ÇOMUNOĞLU¹, Yrd. Doç. Dr. A. Işın DOĞAN EKİCİ¹, Uz. Dr. Bülent EREN², Uz. Dr. Nursel TÜRKMEN², Doç. Dr. Recep FEDAKAR², Prof. Dr. A. Sedat ÇÖLOĞLU¹

¹ Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul

² Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı, Adli Tıp Kurumu Bursa Grup Başkanlığı, Bursa

Özet

Toluen solunum yoluyla alınan ve akciğerlerden hızla emilerek sistemik dolaşıma geçen aromatik bir hidrokarbondur. Toluene maruz kalan insan ve hayvanlarda hem lokal hem de sistemik hasarlar oluşabildiği bilinmektedir. Toluenin organ ve sistemlerdeki histopatolojik etkileri daha çok hayvan deneylerinde araştırılmış ve bildirilmiştir. İnsanlarda ise genellikle klinik, radyolojik ve biyokimyasal parametrelerin değerlendirildiği araştırmalar bulunmaktadır. **Özellikle toluenin santral sinir sisteminde serebral, serebellar korteks, korpus kallosum, beyin sapında beyaz cevherde atrofi, demyelinizasyon ve aksonal dejenerasyon yaptığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir.** Otopsi olgularında genellikle biyokimyasal ve kimyasal toksikolojik veriler bildirilmiş olup histopatolojik bulgularını içeren az sayıda otopsi olgu sunumu bulunmaktadır.

Bu çalışmada toluene maruz kaldıkları toksikolojik incelemelerle kanıtlanmış olan 4 otopsi olgusuna ait patolojik bulgular retrospektif olarak tekrar değerlendirilmiştir. Bunlara ek olarak santral sinir sistemindeki gliosis, nöron kaybı ve demyelinizasyonu değerlendirmek amacıyla GFAP, Neu-N ve Luxol fast blue uygulanmıştır.

Tüm iç organların histopatolojik incelenmesinde birinci olguda beyinde fokal abseleşmeler ve nekroz alanları izlendi; yaygın nekroz ve iltihap varlığı nedeniyle bu olguda GFAP ve Neu-N uygulanamadı. İkinci olgunun immünohistokimyasal çalışmalarında, beyinde GFAP ile fokal alanlarda yoğunlaşan pozitiflikte boyanan gliosis izlendi; Neu-N ile nöronlarda boyanma izlenmedi. Üçüncü olguda beyinde Neu-N ile nöronal kayıp ve vakuolizasyon saptandı. Serebellumda GFAP ile pozitif boyanan astrositlerde belirgin artış ve purkinje hücreleri haricindeki nöronlarda Neu-N ile pozitif boyanma saptandı. Dördüncü olguda ise beyinde Neu-N ile nöronların korunmuş olduğu görüldü. **Olguların hiçbirinde demyelinizasyon saptanmadı.** Olgularımızda, santral sinir sisteminin yanısıra solunum sistemi etkilenmeleri de gözlenmiştir.

Literatür verileri ve kendi bulgularımız ışığında, toluene maruz kalan kişilerde yapılacak adli otopsilerde kemik iliği, dalak, adrenal bez ve testis örneklerinin de histopatolojik incelemesinin ileriye yönelik çalışmalar için yararlı olacağı, histopatolojik incelemeye ek olarak özellikle santral sinir sisteminde immünohistokimyasal olarak GFAP, Neu-N ve **Luxol fast blue** çalışmalarının santral sinir sistemi hasarını belirlemede yardımcı yöntemler olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Otopsi, Santral Sinir Sistemi, Toluen, GFAP, Neu-N

HISTOPATHOLOGIC EVALUATION of FOUR AUTOPSY CASES in CHRONIC INHALATION of TOLUENE COMPOUNDS

Summary

Toluene is an aromatic hydrocarbon which is rapidly absorbed and enters systemic circulation after inhalation. It is known that both local and systemic injury may occur in toluene exposed animal and human. In animal studies, the histopathologic effects of toluene in organs and tissues were mainly investigated and reported. There are few studies among human in clinical, radiological and

biochemical aspects. **Demyelination and axonal degeneration in central nervous system, cerebral and cerebellar cortex, corpus callosum, brain stem and white matter due to toluene were reported in several studies.** In autopsy cases biochemical and toxicological findings were reported chiefly. However, there were few autopsy cases reporting the histopathological findings of toluene exposure.

In this study, toluene exposed 4 autopsy cases were studied in macroscopic and histopathologic aspects **retrospectively**. In addition immunohistochemical expressions of GFAP and Neu-N in central nervous system were investigated in order to evaluate gliosis, neuronal loss and demyelination in central nervous system.

The histopathologic evaluation of the first case was rendered focal abscess and diffuse necrosis of brain, GFAP and Neu-N were not stained in this case. Focal gliosis characterized by intense immunohistochemical expression of GFAP was found in brain sections of the second case. This case showed no expression of Neu-N in neurons. Neu-N immunohistochemistry was rendered neuronal loss and vacuolization in the third case. The number of cerebellar astrocytes was increased and they were positive for GFAP. Neu-N immunohistochemistry was rendered no neuronal loss in the fourth case. Demyelination was not detected in any case. In addition to the central nervous system findings, respiratory system findings were also detected.

According to the literature and our findings, it is concluded that additional histopathologic evaluation of bone marrow, spleen, adrenal gland and testes would be helpful in forensic autopsies of toluene exposed cases. Besides entire histopathologic evaluation, luxol fast blue stain, GFAP and Neu-N immunohistochemistry of central nervous system would be useful for the future studies.

Key Words: Autopsy, Central Nervous System, Toluene, GFAP, Neu-N

Giriş

Toluen, metilbenzen olarak da bilinen bir aromatik hidrokarbondur. Yapıştırıcılarda bulunan ve yapıştırıcı inhale eden kişilerdeki etkileriyle bağımlılık yapan, sanayide yaygın olarak kullanılan bir maddedir. Özellikle son yıllarda adölesan çağındaki çocuklar tarafından uyuşturucu amaçlı kullanımı giderek artmış, oldukça önemli bir toplumsal sorun ve sağlık sorunu haline gelmiştir (1).

Toluenin lokal ve sistemik zararlı etkileri vardır. Gözlerde, solunum sisteminde ve deride iritatif etkileri bulunmaktadır. Akut ya da kronik olarak düşük dozda maruz kalındığında santral sinir sisteminde baskılanma ve bellek azalmasına neden olmaktadır. Belirtileri genellikle baş ağrısı, baş dönmesi, yorgunluk, kaslarda zayıflık, güçsüzlük, yürüme bozuklukları, parestezi, hematemez, karın ağrısı, distal renal tübüler asidoz, kollaps ve koma şeklindedir (2-4).

Toluenin organ ve sistemlerdeki histopatolojik etkileri daha çok hayvan deneylerinde araştırılmış ve bildirilmiştir. İnsanlarda ise genellikle klinik, radyolojik ve biyokimyasal parametrelerin değerlendirildiği araştırmalar bulunmaktadır. Otopsi olgularında ise genellikle biyokimyasal ve kimyasal toksikolojik veriler bildirilmiş olup histopatolojik bulguların bildirildiği az sayıda otopsi olgu sunumu bulunmaktadır (5-11).

Toluenin sinir sisteminde toksik etkisini değerlendirmek için insanlarda yapılan radyolojik çalışmalarda ve bir otopsi çalışmasında santral sinir sisteminde serebral, serebellar korteks, korpus kallosum ve beyin sapında beyaz cevherde atrofi yaptığı bildirilmiştir (12, 13). Ayrıca toluenin nörotoksisite mekanizmasını araştıran çalışmalarda toluenin dopamini, kolinerjik aktiviteyi artırarak, GABA reseptörlerine bağlanarak ve NMDA reseptörlerine karşı nonkompetitif antagonist bir etki göstererek etki gösterdiği saptamıştır (14). Toluenin kronik olarak kullanımında demyelinizasyon ve aksonal degenerasyon yapabileceği bildirilmiştir (15). Ratlarda yapılan çalışmalarda ise oksidatif strese neden olarak reaktif oksijen ürünlerini artırarak nöronal hasar yapıp gliozise neden olduğu belirtilmiştir. Gliozisin santral sinir

sisteminde (SSS) daha çok hipokampus, korteks ve serebellum bölgelerinde olduğu belirtilmiştir.

Gliyal fibriler asidik protein (GFAP), SSS hasarının belirleyicisi olarak immunhistokimyasal çalışmalarda kullanılmaktadır. Rat çalışmalarında da toluenin neden olduğu gliozisin belirlenmesinde kullanılmıştır (16,17).

Neu-N ise özellikle matür nöronal hücrenin belirleyicisidir. Nöronal hasarın değerlendirilmesinde kullanılır. Özellikle iskemiye bağlı nöronal değişikliklerin ve nörogenezisin değerlendirilmesinde nöronal hasar olan bölgelerdeki boyanma kaybı değerlendirme kriterlerinde belirleyici olarak kullanılmaktadır (18,19).

Luxol fast blue (LFB) daha çok demyelinizasyonu göstermek amacıyla kullanılan histokimyasal bir boyadır.

Çalışmamızda toluenin toksik etkilerini belirlemek amacıyla immunhistokimyasal olarak GFAP, Neu-N ve histokimyasal olarak LFB boyalarını nöronal hasarı ve gliozisi belirlemek amacıyla yardımcı yöntem olarak uyguladık.

Materyal ve Metod

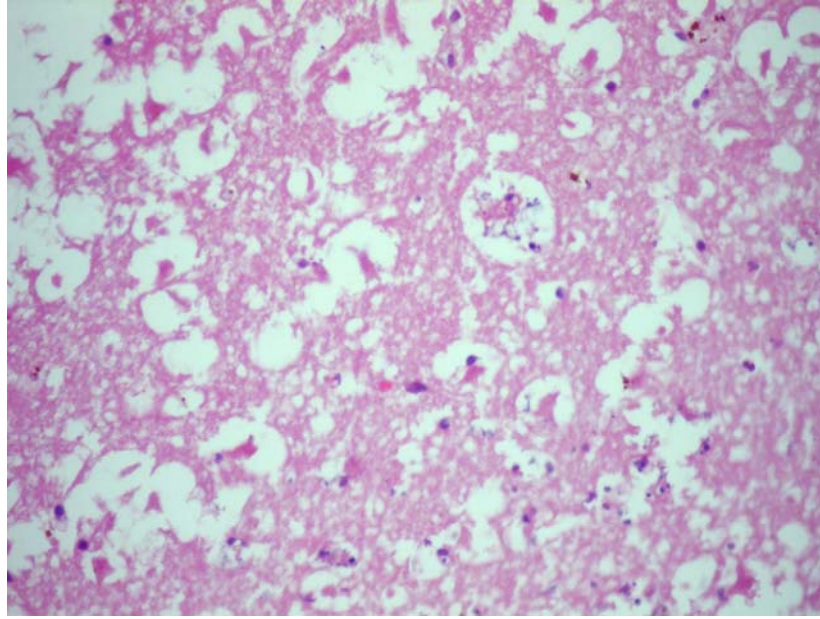
Çalışmamızda, toluene maruz kaldıkları toksikolojik incelemelerle kanıtlanmış olan 4 otopsi olgusuna ait histopatolojik bulguların retrospektif olarak değerlendirildiği bir çalışmadır. Olgularımızda tüm iç organlar sistemlere ayrılarak tartışılmıştır. **Özellikle SSS örnekleme yapılrken standart otopsi tekniğiyle örnekleme korteks ve serebelluma ait kesitler incelenmiştir. Çalışmamızda özellikle toluenin SSS üzerindeki toksik hasarını değerlendirmede histopatolojik incelemelere ek olarak immunhistokimyasal olarak glial fibriler asidik protein (GFAP, kullanıma hazır dilüe, Labvision, CA, USA) Neu-N (Neu-N, 1:100, Chemicon International Inc., Temecula, CA, USA) ve histokimyasal olarak Luxol fast blue (LFB, Biogenex Laboratories Inc., San Ramon, CA, USA) boyalarını nöronal hasarı, gliozisi ve demyelinizasyonu belirlemek amacıyla yardımcı yöntem olarak uygulanmıştır.**

Bulgular

Olgu-1: 17 yaşında, 180 cm boyunda, 70 kg ağırlığında erkek cesedi. Tıbbi geçmişinde toluen bağımlılığı nedeniyle uygulanan psikiyatrik tedavi sırasında intihar amaçlı yüksek doz antipsikotik aldığı, ilaç intoksikasyonu nedeniyle yoğun bakıma yatırıldığı, yapılan medikal tedaviye yanıt veremeyerek yaşam fonksiyonlarının durduğu belirtilmiştir. Yoğun bakımdaki tedavisi sırasında yapılan kranial bilgisayarlı tomografi (BT) incelemesinde kortikal sulkuslarda silinme ve subaraknoid kanama saptanmıştır.

Yapılan tüm vücut otopsisinde, kranium açıldığında beyin ile serebellumun yumuşak ve ileri derecede ödemli olduğu izlendi. Kesitlerde subaraknoidal alanda küçük damarlar çevresinde kanama alanları görüldü. Toraks incelemesinde akciğerlerde ödem ve akciğer alt loblarda alacalı görünüm saptandı. Toraks boşluğundaki diğer organlarda herhangi bir patolojik bulgu mevcut değildi. Mide mukozasında peteşiyal kanamalar izlendi. Dalak ve böbrek konjesyone görünümdeydi. Karın boşluğundaki diğer organlarda makroskopik bir patolojik bulgu saptanmadı.

Tüm iç organların histopatolojik incelenmesinde; beyinde fokal abseleşmeler ve nekroz alanları izlendi (Resim-1); yaygın nekroz ve iltihap varlığı nedeniyle bu olguda GFAP ve Neu-N uygulanamadı (Tablo-1). **Olgumuzda görülen beyin abselerinin nedeni sepsise bağlı değişiklikler olarak yorumlandı.** Akciğerlerde hemorajik nekroz, kalpte damarlarda konjesyon saptandı. Dalak, karaciğer, pankreas, böbrek ve adrenal bezlerde konjesyon dışında patolojik bulgu saptanmadı. Midede eroziv gastrit bulguları mevcuttu. İnce barsak ve kolonda hafif otolitik değişiklikler izlendi.



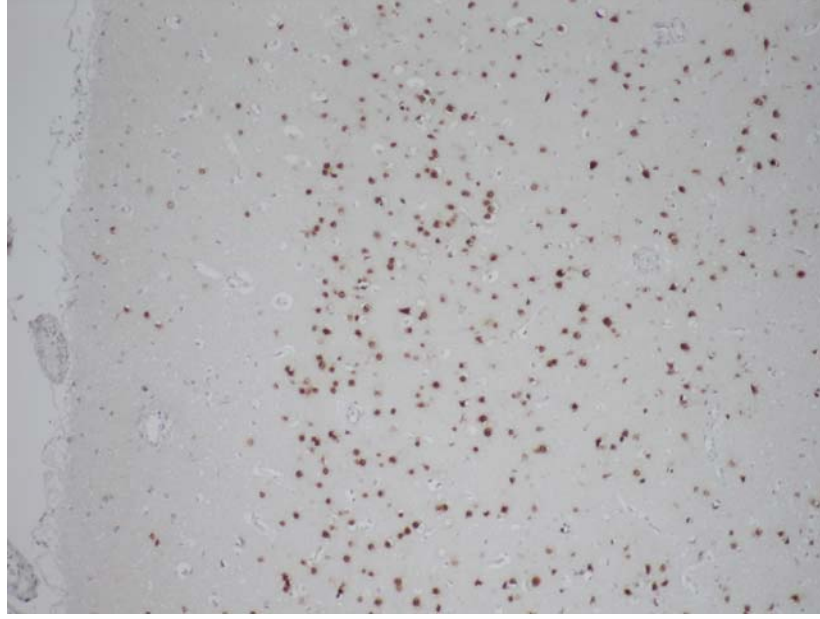
Resim 1. 1. olguda beyinde izlenen nekroz alanı (H&E, x100)

Olgu-2: 16 yaşında, 145 cm boyunda, 40 kg ağırlığında erkek cesedi. Ölüm öncesine ait öyküsüne ulaşılammıştır. **Adli tahkikat ve polis kayıtlarında olgumuzun toluen kullandığı saptanmıştır.** Otopsi sırasında örneklenen kan, idrar ve iç organlarının kimyasal incelemesinde 39.19 µg/ml Toluen saptanmıştır.

Dış muayenede ense sol orta hizasından sağ aurikulanın 2 cm altına kadar uzanan 22 cm uzunlukta her iki karotis arter ve juguler ven ile trakea ve özofagusun tamamen kesildiği, servikal vertebra ön yüzlerinin görüldüğü kesici alet yarası izlendi. Bu yara dışında haricen başka bir patolojik bulgu saptanmadı. Kranium açıldığında beyin ve serebellumda soluk ve ödemli görünümdeydi. Toraks kavitesi açıldığında akciğerlerin ileri derecede antrakotik görünümde olduğu ve sol akciğerde fissürler arasında yapışıklık olduğu izlendi. Akciğer kesitlerinde belirgin makroskopik patolojik bulgu saptanmadı. Kalp ve perikardda özellik izlenmedi, aortada sarı renkli aterosklerotik plaklar belirlendi. Abdominal kavitedeki organlardan dalak, karaciğer, böbrek ve mide soluk görünümdeydi. Karın boşluğundaki diğer organlarda makroskopik bir patolojik bulgu saptanmadı.

Tüm iç organların histopatolojik incelenmesinde; beyinde ödem ve kortikal nöronlarda balonlaşma ve arada kırmızı dejenerasyon gösteren iskemik nöronlar, serebellumda ise ödem izlendi. İmmünohistokimyasal çalışmalarda, beyinde GFAP ile fokal alanlarda yoğunlaşan pozitiflikte boyanan gliosis vardı (Resim-2); Neu-N ile nöronlarda boyanma görülmedi. Serebellumda GFAP ile pozitif boyanan astrositlerde belirgin artış dikkati çekti (Resim-3); purkinje hücreleri haricindeki nöronlarda Neu-N ile pozitif boyanma saptandı. **Histokimyasal luxol fast blue boyası ile demyelinizasyon izlenmedi** (Tablo-1).

Akciğerlerde bir odakta fibrozis, lenfosit artışı, diğer alanlarda konjesyon, ödem ve histiyositler içinde antrakotik pigment varlığı izlendi. Kalpte aortada intimada aterosklerotik plaklar saptandı. Diğer iç organların histopatolojik incelemesinde patolojik bir özellik bulunmadı.



Resim 2. 2. olguda GFAP ile beyinde fokal olarak yoğun pozitiflikte izlenen gliozis alanları (GFAP, x100)



Resim 3. 2. olguda serebellumda GFAP ile pozitif boyanan astrositlerde izlenen belirgin artış-gliozis (GFAP, x100)

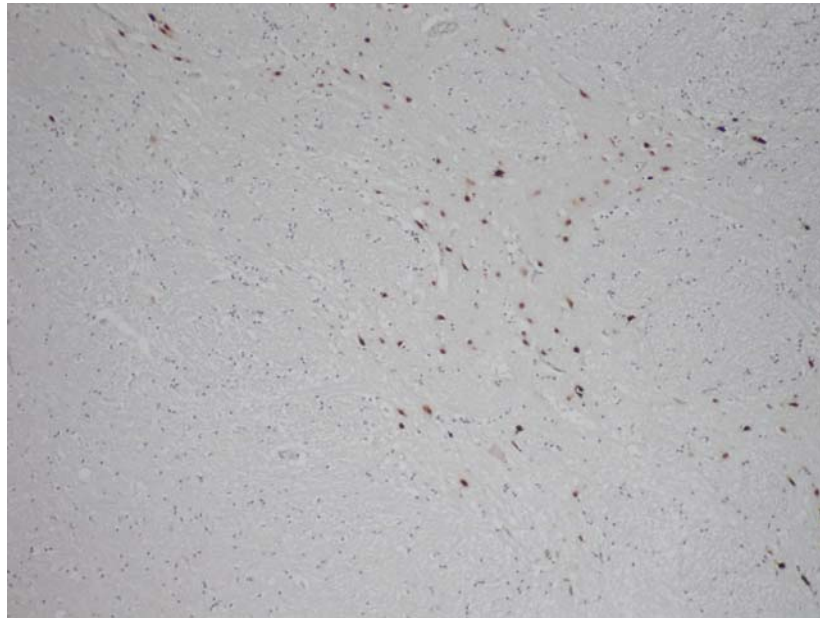
Olgu-3: 26 yaşında, 182 cm boyunda, 90 kg ağırlığında erkek cesedi. Ölüm öncesine ait öyküsüne ulaşılammıştır. **Adli tahkikat ve polis kayıtlarında olgumuzun toluen kullandığı saptanmıştır.** Otopsi sırasında örneklenen kan, idrar ve iç organlarının toksikolojik rutin kimyasal incelemesinde Toluene, Hekzan ve Heptan (Bally bileşenleri) saptanmıştır.

Dış muayenede el ve ayak tırnak yataklarında, göğüs üst kısmında pelerin tarzında siyanoz ve dış solunum yolunda kan ve mide içeriği varlığı izlendi. Perinazal ve perioral bölgede kurumuş yapıştırıcı (Bally?) özelliğindeki bir maddeye ait artıklar gözlemlendi. Kranium açıldığında beyin ve serebellumda konjesyon ile ödem belirlendi.

Akciğerler şişkin ve kesit yüzeyleri kanamalıydı. Perikardda kanama alanları izlendi. Kalpte belirgin başka bir özellik görülmedi. Abdominal kavitedeki organlardan dalak, karaciğer ve böbrek konjesyone görünümdeydi. Diğer iç organlarda makroskopik patolojik bir bulgu saptanmadı.

Tüm iç organların histopatolojik incelenmesinde; beyinde ödem ve nöronlarda balonlaşma, serebellumda ödem izlendi. Uygulanan immünohistokimyasal çalışmalarda beyinde GFAP ile gliosis bulunamadı. Neu-N ile nöronal kayıp ve vakuolizasyon (Resim-4), serebellumda GFAP ile pozitif boyanan astrositlerde belirgin artış ve purkinje hücreleri haricindeki nöronlarda Neu-N ile pozitif boyanma saptandı. **Histokimyasal luxol fast blue boyası ile demyelinizasyon izlenmedi** (Tablo-1).

Akciğerlerde yaygın intra-alveolar ve interstisyel kanama ile ödem izlendi. Karaciğerde konjesyon ve özellikle portal alanlarda lenfoplazmositer hücrelerde hafif artış gözlemlendi. Diğer iç organlarda yaygın postmortem değişiklikler ve otoliz bulguları saptandı.



Resim 4. 3. olguda beyinde Neu-N ile izlenen nöronal kayıp ve vakuolizasyon. Arada seyrek olarak Neu-N ile pozitif boyanan korunmuş nöronlar izlenmekte (Neu-N, x100)

Olgu-4: 11 yaşında, 137 cm boyunda, 30 kg ağırlığında erkek cesedi. Ölüm öncesine ait öyküsünde ulaşılammıştır. Otopsi sırasında örneklenen kan, idrar ve iç organlarının kimyasal incelemesinde 5.5 µg/ml tolüen ve kanda %28 HbCO (karboksihemoglobin) saptanmıştır.

Dış muayenede yüz sol yarısında, sol göğüs ön duvarında, sol omuz ve sağ kol lateral bölgesinde ikinci derece yanık izlendi. Sol auriküler bölgeden oksipital bölgeye uzanan 10 cm uzunlukta ezici nitelikte yara saptandı.

Skalpte, saçlı deri altında kraniumda sağ temporal kemikten frontale uzanan kırık hattı izlendi. Kranium açıldığında beyinde her iki temporal ve oksipital lob ile serebellumda yaygın subaraknoidal kanama gözlemlendi. Sol temporal lobun anteriorunda ve her iki oksipital lobda posteriora kontüzyon saptandı. Kesitlerde serebrum lateral ventrikülleri içinde kanama izlendi. Baziste sella tursikada kırık hattı bulundu. Toraks kavitesi açıldığında akciğer plevral yüzeylerinde yaygın kanama görüldü. Akciğer kesitlerinde belirgin kanama dikkati çekti. Kalpte ve perikardda özellik izlenmedi. Abdominal kavitedeki organlardan dalak, karaciğer, böbrek ve mide soluk görünümdeydi. Karın boşluğundaki diğer organlarda makroskopik bir patolojik bulgu saptanmadı.

Tüm iç organların histopatolojik incelenmesinde; beyinde ödem, intraparenkimal ve subaraknoidal kanama, serebellumda ödem izlendi. Uygulanan immünohistokimyasal çalışmalarda beyinde GFAP ile

gliosis saptanmadı. Beyinde Neu-N ile nöronların korunmuş olduğu görüldü. Serebellumda GFAP ile pozitif boyanan astrosit izlenmedi; purkinje hücreleri haricindeki nöronlarda Neu-N ile pozitif boyanma saptandı. **Histokimyasal luxol fast blue boyası ile demyelinizasyon izlenmedi** (Tablo-1).

Akciğerlerde yaygın intra-alveolar ve interstisyel kanama mevcuttu. Diğer iç organların histopatolojik incelemesinde patolojik bir özellik bulunmadı.

Tablo 1. Santral sinir sistemine ait immünohistokimyasal-histokimyasal bulgular

Olgular	Beyin			Serebellum		
	GFAP	Neu-N	Luxol-fast blue	GFAP	Neu-N	Luxol-fast blue
1	Uygulanamadı*	Uygulanamadı*	Uygulanamadı*	Uygulanamadı*	Uygulanamadı*	Uygulanamadı*
2	Fokal yoğun pozitif (fokal gliosis saptandı)	Nöron kaybı saptandı	Demyelinizasyon görülmeydi.	Pozitif boyanan astrositlerde sayıca artış (gliosis izlendi)	Nöron kaybı saptanmadı	Demyelinizasyon görülmeydi.
3	Gliosis izlenmedi	Nöronal kayıp ve nöronlarda vakuolizasyon saptandı	Demyelinizasyon görülmeydi.	Pozitif boyanan astrositlerde belirgin artış (gliosis izlendi)	Nöron kaybı saptanmadı	Demyelinizasyon görülmeydi.
4	Gliosis saptanmadı	Nöron kaybı saptanmadı	Demyelinizasyon görülmeydi.	Pozitif boyanan astrosit izlenmedi (astrosit kaybı izlendi)	Nöron kaybı saptanmadı	Demyelinizasyon görülmeydi.

* Yaygın nekroz ve iltihap varlığı nedeniyle

Tartışma

Toluen, solunum yoluyla alınan ve akciğerlerden hızlı bir şekilde emilerek sistemik dolaşıma geçen bir aromatik hidrokarbondur. Sistemik etkileri kandaki konsantrasyonu ile ilişkilidir. Literatürde, histopatolojik olarak toluene bağlı olduğu bildirilen değişiklikler ve olgularımızda sistemlere göre izlediğimiz bulgular aşağıda verilmiştir.

Solunum yolları:

Matheson ve ark. (20) yaptıkları deneysel çalışmada, toluen etkisinde kalan farelerin akciğerlerinde, trakea ve burun mukozalarında yoğun nötrofil, lenfosit ve makrofajlardan oluşan inflamasyon, siliya kaybı, goblet hücre metaplazisi saptadıklarını bildirmişler; bronşlarda ve alveollerde ise makrofaj ve nötrofillerden oluşan inflamatuvar reaksiyon izlemişlerdir. Lange ve ark. (21) insan akciğer epitel hücrelerinde yaptıkları invitro çalışmada toluenin mukus içinde konsantrasyonunun arttığını, siliyer hareketi bozduğunu ve hücrelerde sitotoksiteyi gösteren piknoz ve DNA parçalanmasına yol açtığını elektron mikroskopisi ile göstermişlerdir.

Literatürdeki otopsi olgularında ise pulmoner ödem, kanama, pnömoni bulguları bildirilmiştir (5, 6). Ayrıca bir olguda toluene bağlı astım hastalığı saptanmıştır. Bu olgunun histopatolojik değerlendirilmesinde solunum epitelinde dökülme, bazal membranda kalınlaşma, lamina propriada nötrofillerden lökosit ve eozinofillerden oluşan inflamatuvar reaksiyon ile bronşiolde diffüz mukus tıkaçları gösterilmiştir (11). Bizim olgularımızda ise 1. olguda akciğerde hemorajik nekroz, 2. olguda akciğerlerde bir odakta fibrozis, lenfosit artışı, diğer alanlarda konjesyon, ödem ve histiyositler içinde antrakotik pigment varlığı, 3. ve 4. olgularda akciğerlerde yaygın intra-alveolar ve interstisyel kanama

ile ödem vardı. Bu bulgular liteartürdeki otopsi olgularının akciğerlerinde bildirilen değişikliklerle benzer niteliktedir.

Kardiyovasküler sistem:

Riecke ve ark. (22) toluene maruz bırakılan maymunlar üzerinde yaptıkları çalışmada, kalpte ekstrasellüler matrikste kollajen, fibronektin ve laminin artışı saptamışlardır. Otopsi olgularında ise koroner arter spazmi ve ventriküler fibrilasyona sekonder olarak gelişen myokard infarktı, ventriküler fibrilasyon, rabdomyoliz ve kalp yetmezliği bildirilmiştir (23, 24). Bizim olgularımızda ise; 1. olguda kalpte damarlarda konjesyon, 3. olguda perikardda kanama izlendi. 2. ve 4. olgularda ise kalpte patolojik bulgu saptanmadı.

Gastrointestinal sistem, karaciğer ve pankreas:

Sıçanlarda yapılan çalışmalar toluenin daha çok karaciğer üzerindeki toksik etkilerine yöneliktir ve histopatolojik olarak kollajen sentezinde artış, hepatosit çapında büyüme ve vakuolizasyon bildirilmiştir (25, 26). Elektron mikroskopik düzeyde ise, sıçan karaciğerinde mitokondri sayısında artış, düz endoplazmik retikülumda proliferasyon, artmış nükleus yoğunluğu ve artmış nükleositol plazmik oran bildirilmiştir (27, 28).

Toluene maruz kalan insanlarda ise karaciğerde hafif perisantral yağlanma, reaktif hepatit ve odaksal nekroz saptanmıştır (29, 30).

Literatürde, gerek hayvan deneylerinde gerekse otopsi ya da insanlarda yapılan araştırmalarda, karaciğer dışındaki gastrointestinal sistemin diğer organlarıyla ilgili histopatolojik bulgular literatürde mevcut değildir. Bizim olgularımızdaki kaciğer örneklerinde, 1. ve 3. olguda konjesyon, 2. olguda solukluk izlenirken; 4. olgumuzda herhangi bir özellik saptanmamıştır. 1. olgumuzda midede eroziv gastrit bulguları, ince barsak ve kolonda hafif otolitik değişiklikler izlenmiştir. Diğer 3 olgumuzda karaciğer haricindeki diğer gastrointestinal sistem organlarında belirgin histopatolojik özellik saptanmamıştır.

Hematopoietik sistem:

Sıçanlarda yapılan çalışmalarda dalak ağırlığında artış, histopatolojik olarak belirgin konjesyon ve özellikle beyaz pulpada artış bildirilmiştir (31). Sıçanlarda yapılan bir başka çalışmada, doza bağlı olarak dalakta sarkom gelişimi ve güçlü fibrozis belirtilmektedir (32). Olgularımızda dalakta konjesyon (1. ve 3. olgu) saptanmıştır; 2. ve 4. olguda makroskopik olarak patolojik bulgu saptanmamıştır.

Literatürde, insan ve hayvan çalışmalarında, toluenin bildirilmiş kemik iliği ve periferik kandaki bulgularının başlıcaları; aplastik anemi (33), myelofibrozis (34), toplam T lenfosit sayısının azalması ve B lenfosit sayısının artışıdır (35, 36). Olgularımızda dalak ve kemik iliğinin histopatolojik örnekleme yapılmamıştır.

Ürogenital sistem:

Rabdomyolize bağlı akut renal yetmezlik (37), fokal segmental glomerüloskleroz (38), tübülointerstisyel nefrit, ekstrakapiller proliferatif glomerülonefrit, membranöz nefropati ve mezangioproliferatif glomerülonefrit (39) gibi patolojik bulgular olgu sunumları şeklinde bildirilmiştir.

1. ve 3. olgumuzda böbreklerde konjesyon, 2. ve 4. olgumuzda böbreklerde solukluk gözlenmiştir. Histopatolojik olarak belirgin bir patoloji görülmemiştir. Mesane incelemelerinde belirgin patolojik bulgu saptanmamıştır. Son zamanlarda yapılan sıçan deneylerinde toluenin spermatogeneze belirgin etkisi olmadığı belirtilmiştir (40). Olgularımızın tamamı erkektir ve otopsi sırasında testisler örneklenmemiştir.

Endokrin sistem:

Toluenin endokrin sistem üzerinde bildirilmiş olan etkisi adrenal bezlerde gözlenen hemorajidir (8). Literatürde, diğer endokrin organlara ait tanımlanmış toluen kaynaklı histopatolojik bir bulgu tanımlanmamıştır. Bizim olgularımızda ise 1. olguda adrenal bezde konjesyon izlenmiş, öteki olgularda endokrin sisteme özgü belirgin histopatolojik değişiklik gözlenmemiştir.

Santral sinir sistemi:

Çeşitli hayvan deneylerinde, santral sinir sisteminin toluene bağlı toksik hasarlarında ilk belirgin hücresel yanıtın astrositler tarafından verildiği bildirilmiştir. **Eisenberg DP toluenin nörotoksik etkisini oluştururken: dopaminin kolinerjik aktiviteyi artırarak, GABA reseptörlerine bağlanıp NMDA reseptörlerine karşı nonkompetitif antagonist bir etki gösterdiğini saptamıştır (14). Sakai T ve ark. 10 yıldır toluen kullanan bir olguda MR bulgularıyla, toluenin kronik olarak kullanımında demyelinizasyon ve aksonal dejenerasyon yapabileceğini bildirmişlerdir (15). Toluen kullanımına bağlı izlenen astrosit aktivasyonu, toluen kullananlarda saptanan nörofizyolojik değişikliklerde astrositlerin de bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Özellikle ratlarda yapılan çalışmalarda toluenin oksidatif strese neden olarak reaktif oksijen ürünlerini artırarak nöronal hasar yapıp gliozise neden olduğu belirtilmiştir. Rat çalışmalarında da toluenin neden olduğu gliozisin belirlenmesinde GFAP kullanılmıştır. Gliozisin özellikle hippokampus, korteks ve serebellum bölgelerinde belirgin olarak arttığı belirtilmiştir (16,17).**

Neu-N ise özellikle matür nöronal hücrenin belirleyicisi olup, nöronal hasarın değerlendirilmesinde kullanılır. Özellikle iskemiye bağlı nöronal değişikliklerin ve nöroenezisin değerlendirilmesinde nöronal hasar olan bölgelerdeki boyanma kaybı değerlendirme kriterlerinde belirleyici olarak birçok çalışmada kullanılmıştır (18,19).

Çalışmamızda, santral sinir sisteminin histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmesinde olgularımızdan birisinde (olgu 2) beyinde GFAP ile fokal alanlarda yoğunlaşan gliozis izlenirken, iki olguda (olgu 3 ve 4) gliozis saptanmamıştır. Serebellumda ise olgularımızın ikisinde (olgu 2 ve 3) GFAP ile artmış gliozis görülürken, birinde (olgu 4) glial hücre saptanmamıştır. Neu-N ile yapılan nöronal hasar değerlendirilmesinde iki olguda (olgu 2 ve 3) beyinde nöronal hasar ve dejenerasyon izlenirken, bir olguda nöronal hasar saptanmamıştır (olgu 4). Serebellumda ise Neu-N uygulanan her üç olgumuzda nöronal kayıp görülmemiştir. **Neu-N nöronal hücre tespit etmek kullanılmasına rağmen purkinje hücrelerini boyamamaktadır. Bu nedenle olgularımızda serebellumda purkinje hücrelerinde boyanma olmamıştır. İnsanlar üzerinde toluen kullanımına bağlı santral sinir sistemi bulgularının araştırıldığı çalışmalar daha çok klinik ve radyolojik çalışmalar niteliğindedir (12, 41, 42). Toluenin toksik etkisini değerlendirmek için insanlarda yapılan radyolojik çalışmalarda ve bir otopsi çalışmasında santral sinir sisteminde serebral, serebellar korteks, korpus kallosum ve beyin sapında beyaz cevherde atrofi yaptığı bildirilmiştir (12, 13). Çalışmamız toluen toksikasyonu olan vakaların özellikle SSS bulgularının retrospektif olarak değerlendirildiği bir çalışma olması nedeniyle yalnızca korteksten ve serebellumdan alınan örnekler üzerinde değerlendirme yapılabilmektedir. Literatürde toluen kullanımına bağlı GFAP ile gliozisin artışı ve Neu-N ile nöronal hasarın araştırıldığı başka bir otopsi çalışmasına rastlanmamıştır.**

İlk olgumuzda görülen beyin abselerinin nedeni septik şoka bağlı santral sinir sistemi bulgusu olarak yorumlanmıştır. Yapılan çalışmalarda septik şok nedeniyle ölen hastalarda mikroabse oluşumu %9 olarak bildirilmiştir. Ayrıca hemorajiler, hiperkoagülabilité sendromları ve multifokal nekrotizan ensefalopatiler bildirilen diğer santral sinir sistemi bulgularıdır. Özellikle yoğun bakım ünitelerinde yatan hastalarda üste gram negatif, gram pozitif bakteriyel, viral, fungal veya mikrobiyal toksinlerin eklenmesiyle oluşmaktadır (43, 44).

Sonuç olarak; çalışmamızda toluenin özellikle santral sinir sisteminde yaptığı temel hasar olan astrosit aktivasyonu ve gliozisi insan otopsisinde immünohistokimyasal yöntemlerden faydalanarak iki olgumuzda belirgin olarak gözlemiş bulunmaktayız. Toluenin diğer organlarda yaptığı hasarlar santral sinir sistemi yanısıra solunum sisteminde de saptanmıştır. Literatürde, toluenin özellikle kemik iliği, dalak, adrenal bezler, testis dokusu, karaciğer, solunum ve santral sistemi üzerinde belirgin zararları olduğu vurgulanmaktadır. Bu nedenle toluen etkisinde kalan olgulara yapılacak adli otopsilerde kemik iliği, dalak, adrenal bez ve testis dokularının da histopatolojik inceleme için örneklenmesinin faydalı

olacağını, özellikle santral sinir sisteminde immünohistokimyasal olarak GFAP ve Neu-N çalışmalarının yardımcı yöntemler olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Ulakoğlu EZ, Saygı A, Gümüştaş MK, Zor E, Akaya A, Kökoğlu E. Kronik tiner inhalasyonunun sıçan akciğer ve karaciğer dokuları lipid peroksidasyonlarına etkisi. Cerrahpaşa Tıp Derg. 1998; 29 (2): 75-78.
2. Kamijima M, Nakazawa Y, Yamakawa M, Shibata E, Hisanaga N, Ono Y, Toida M, Takeuchi Y. Metabolic acidosis and renal tubular injury due to pure toluene inhalation. Arch Environ Health. 1994; 49 (5): 410-3.
3. US Environmental Protection Agency, Toluene, Health and Environmental Effects Profile No:160, Washington, D.C., Office of Solid Waste. April 30, 1980
4. Streicher HZ, Gabow PA, Moss AH, Kono D, Kaehny WD. Syndromes of toluene sniffing in adults. Ann Intern Med. 1981; 94 (6): 758-62.
5. Takamiya M, Niitsu H, Saigusa K, Kanetake J, Aoki Y. A case of acute gasoline intoxication at the scene of washing a petrol tank. Leg Med (Tokyo). 2003; 5 (3): 165-9. (Özet)
6. Harada K, Ichijima T, Ikeda H, Yoshida K. A fatal case of oral ingestion of benzene. Am J Forensic Med Pathol. 1999; 20 (1): 84-9.
7. Moriya F, Hashimoto Y. Medicolegal implications of drugs and chemicals detected in intracranial hematomas. J Forensic Sci. 1998; 43 (5): 980-4.
8. Kamijo Y, Soma K, Hasegawa I, Ohwada T. Fatal bilateral adrenal hemorrhage following acute toluene poisoning: a case report. J Toxicol Clin Toxicol. 1998; 36 (4): 365-8.
9. Arai H, Yamada M, Miyake S, Yamashita S, Iwamoto H, Aida N, Hara M. [Two cases of toluene embryopathy with severe motor and intellectual disabilities syndrome]No To Hattatsu. 1997; 29; (5): 361-6. (Özet)
10. Kitamura O. Immunohistochemical investigation of hypoxic/ischemic brain damage in forensic autopsy cases. Int J Legal Med. 1994;107(2):69-76.
11. Fabbri LM, Danieli D, Crescioli S, Bevilacqua P, Meli S, Saetta M, Mapp CE. Fatal asthma in a subject sensitized to toluene diisocyanate. Am Rev Respir Dis. 1988; 137 (6): 1494-8.
12. Yamanouchi N, Okada S, Kodama K, Hirai S, Sekine H, Murakami A, Komatsu N, Sakamoto T, Sato T. White matter changes caused by chronic solvent abuse. AJNR Am J Neuroradiol. 1995; 16 (8): 1643-9.
13. Caldemeyer KS, Armstrong SW, George KK, Moran CC, Pascuzzi RM. The spectrum of neuroimaging abnormalities in solvent abuse and their clinical correlation. J Neuroimaging. 1996; 6 (3): 167-73
14. Eisenberg DP. Neurotoxicity and mechanism of Toluene abuse. Quart J Biol Med. 2003;19:150-159.
15. Sakai T, Honda S, Kuzuhara S. Encephalomyelopathy demonstrated on MRI in a case of chronic toluene intoxication. Rinsho Shinkeigaku. 2000 Jun; 40 (6): 571-5. (Özet)
16. Gotohda T, Tokunaga I, Kubo S, Morita K, Kitamura O, Eguchi A. Effect of toluene inhalation on astrocytes and neurotrophic factor in rat brain. Forensic Sci Int. 2000; 11; 113 (1-3): 233-8.
17. Janeczko K. Co-expression of GFAP and vimentin in astrocytes proliferating in response to injury in the mouse cerebral hemisphere. A combined autoradiographic and double immunocytochemical study. Int J Dev Neurosci. 1993 ;11 (2): 139-47.
18. Cowell RM, Xu H, Galasso JM, Silverstein FS. Hypoxic-ischemic injury induces macrophage inflammatory protein-1alpha expression in immature rat brain. Stroke. 2002; 33 (3): 795-801.
19. Jiang W, Gu W, Brannstrom T, Rosqvist R, Wester P. Cortical neurogenesis in adult rats after transient middle cerebral artery occlusion. Stroke. 2001; 32 (5): 1201-7
20. Matheson JM, Lange RW, Lemus R, Karol MH, Luster MI. Importance of inflammatory and immune components in a mouse model of airway reactivity to toluene diisocyanate (TDI). Clin Exp Allergy. 2001; 31 (7): 1067-76.
21. Lange RW, Lantz RC, Stolz DB, Watkins SC, Sundareshan P, Lemus R, Karol MH. Toluene diisocyanate colocalizes with tubulin on cilia of differentiated human airway epithelial cells. Toxicol Sci. 1999; 50 (1): 64-71.
22. Riecke K, Grimm D, Shakibaei M, Kossmehl P, Schulze-Tanzil G, Paul M, Stahlmann R. Low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo- p-dioxin increase transforming growth factor beta and cause myocardial fibrosis in marmosets (Callithrix jacchus). Arch Toxicol. 2002; 76 (5-6): 360-6.
23. Streicher HZ, Gabow PA, Moss AH, Kono D, Kaehny WD. Syndromes of toluene sniffing in adults. Ann Intern Med. 1981; 94 (6): 758-62.
24. Cunningham SR, Dalzell GW, McGirr P, Khan MM. Myocardial infarction and primary ventricular fibrillation after glue sniffing. Br Med J (Clin Res Ed). 1987; 21; 294 (6574): 739-40
25. Rana SV, Kumar S. Effect of xylene, toluene and methyl alcohol on liver collagenesis in rats. Indian J Exp Biol. 1993; 31 (9): 782-4.

26. Robertson LW, Andres JL, Safe SH, Lovering SL. Toxicity of 3,3',4,4'- and 2,2',5,5'-tetrabromobiphenyl: correlation of activity with aryl hydrocarbon hydroxylase induction and lack of protection by antioxidants. *J Toxicol Environ Health*. 1983; 11 (1): 81-91.
27. Rydzynski K, Korsak Z, Jedlinska U, Sokal JA. The toxic effects of combined exposure to toluene and m-xylene in animals. IV. Liver ultrastructure after subchronic inhalatory exposure. *Pol J Occup Med Environ Health*. 1992; 5 (1): 35-42. (Özet)
28. Ungvary G, Hudak A, Bors Z, Folly G. The effect of toluene on the liver assayed by quantitative morphological methods. *Exp Mol Pathol*. 1976; 25 (1): 49-59.
29. Guzelian P, Mills S, Fallon HJ. Liver structure and function in print workers exposed to toluene. *J Occup Med*. 1988; 30 (10): 791-6.
30. Dossing M, Arlien-Soborg P, Milling Petersen L, Ranek L. Liver damage associated with occupational exposure to organic solvents in house painters. *Eur J Clin Invest*. 1983; 13 (2): 151-7.
31. Guastadisegni C, Mantovani A, Ricciardi C, Stazi AV, Maffi D, Salvati AM. Hematotoxic effects in the rat of a toluene dinitro derivative after short-term exposure. *Ecotoxicol Environ Saf*. 1989; 17 (1): 21-9.
32. Goodman DG, Ward JM, Reichardt WD. Splenic fibrosis and sarcomas in F344 rats fed diets containing aniline hydrochloride, p-chloroaniline, azobenzene, o-toluidine hydrochloride, 4,4'-sulfonyldianiline, or D & C red No. 9. *J Natl Cancer Inst*. 1984; 73 (1): 265-73.
33. Powars D. Aplastic anemia secondary to glue sniffing. *N Engl J Med*. 1965; 23; 273 (13): 700-2.
34. Bosch X, Campistol JM, Montoliu J, Revert L. Myelofibrosis and focal segmental glomerulosclerosis associated with toluene poisoning. *Hum Toxicol*. 1988; 7 (4): 357-61.
35. Tanigawa T, Araki S, Nakata A, Yokoyama K, Sakai T, Sakurai S. Decreases of natural killer cells and T-lymphocyte subpopulations and increases of B lymphocytes following a 5-day occupational exposure to mixed organic solvents. *Arch Environ Health*. 2001; 56 (5): 443-8.
36. Moszczynsky P, Lisiewicz J. Occupational exposure to benzene, toluene and xylene and the T lymphocyte functions. *Haematologia (Budap)*. 1984; 17 (4): 449-53. (Özet)
37. Mizutani T, Oohashi N, Naito H. Myoglobinemia and renal failure in toluene poisoning: a case report. *Vet Hum Toxicol*. 1989; 31 (5): 448-50.
38. Taverner D, Harrison DJ, Bell GM. Acute renal failure due to interstitial nephritis induced by 'glue-sniffing' with subsequent recovery. *Scott Med J*. 1988; 33 (2): 246-7.
39. Ehrenreich T. Renal disease from exposure to solvents. *Ann Clin Lab Sci*. 1977; 7 (1): 6-16.
40. Ishigami A, Tokunaga I, Kubo S, Gotohda T. Immunohistochemical study of rat spermatogenesis after toluene-inhalation. *Leg Med (Tokyo)*. 2005; 7 (1): 42-6. (Özet)
41. Filley CM, Halliday W, Kleinschmidt-DeMasters BK. The effects of toluene on the central nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2004; 63 (1): 1-12.
42. Damasceno BP, de Capitani EM. Cerebellar atrophy related to chronic exposure to toluene. Case report. *Arq Neuropsiquiatr*. 1994; 52 (1): 90-2.
43. Sharshar T, Hopkinson NS, Orlikowski D, Annane D. Science review: The brain in sepsis--culprit and victim. *Crit Care*. 2005; 9 (1): 37-44.
44. Tsiotou AG, Sakorafas GH, Anagnostopoulos G, Bramis J. Septic shock; current pathogenetic concepts from a clinical perspective. *Med Sci Monit*. 2005; 11 (3): 76-85.

İletişim Adresi: Yrd. Doç. Dr. Nil ÇOMUNOĞLU
Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul