

NANOPARTİKÜLLER VE PLEVRA

Dr. Öner DİKENSÖY

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye

Tel: +90 342 360 60 60 **e-mail:** dikensoy@yahoo.com

Nanoteknoloji mühendisliğin biyoloji, kimya ve fizik ile bütünleştirildiği son yılların endüstrideki en önemli gelişmelerinden biri olarak kabul edilmektedir (1). 2015 yılında bu alanda yapılan yatırımların trilyon dolarlar düzeyine ulaşacağı tahmin edilmektedir. Nanoteknoloji ile yapılmak istenen aynı materyalin minyatürize edilerek fiziksel özelliklerini değiştirmektir. Herhangi bir materyalin parçalanıp boyutları küçüldükçe fiziksel ve kimyasal özellikleri parçalanmamış şeklienden çok daha farklı olmaktadır (2).

Nanopartiküller boyutları 0,1nm ile 100nm arasında değişen partiküllere verilen genel addır (1). Bir partikülü nano ölçekli olarak adlandırabilmek için en az bir boyutunun 100 nm den küçük olması gerekmektedir. Bugün için insan sağlığına potansiyel zararları en çok araştırılan nanopartiküller ve nanoliflerdir. Çünkü önümüzdeki dönemde nanoteknolojinin en çok kullandığı nano ölçekli materyaller bunlar olacaktır. Yakın gelecekte nanopartikül veya liflerin kullanılması ile geliştirilecek teknolojiler arasında hedefe yönelik tedavi yöntemleri, ve vücuda yerleştirilecek implantlar vardır (1).

Son yıllarda birçok araştırmaya konu olan ve adı sıkça duyulan karbon nanotübler (KNT) ise yeni bir tür teknolojik kristalin karbon olup kendilerine özgü fiziksel ve kimyasal özellikleri ile elektronikten tıp alanına kadar çok geniş bir yelpazede kullanılmaktadır. Bugüne kadar KNT'lerin akciğerler de dahil bir çok organ üzerindeki etkileri çok sayıda çalışmaya konu olurken, plevra üzerindeki etkileri kısıtlı sayıda hayvan çalışması ve *invitro* çalışmanın konusu oldu (1).

KNT'ler hakkındaki en önemli şüphelerden birisi asbest benzeri bir trajediye yol açabilme potansiyeli taşımalarıdır. Bunun sebebi KNT'lerin asbest benzeri yapısal özelliklere sahip olmasıdır (lif veya çomak şeklinde olup uzunluk çap oranları asbest liflerine benzemektedir). Öte yandan Çin Halk Cumhuriyetinden yapılan çok yeni klinik bir çalışmada 5-17 ay boyunca fabrikada nanomateryale maruz kalan yedi kadın olgunun plevra sıvıları ve plevra materyalinin elektron mikroskopik incelemesinde 30nm boyutunda nanopartiküllere rastlanmış olması bu şüpheyi daha da güçlendirir niteliktedir (3). Bu olgular nanomateryallerin inhalasyon veya cilt yolu ile plevraya ulaşabileceklerini düşündürmektedir. Mevcut literatürde henüz primer insan mezotel hücrelerinin KNT'lere maruz kalmasının hücre proliferasyonuna yol açıp açmadığını, herhangi bir apoptotik yada antiapoptotik etkisinin olup olmadığını ve mezotel hücrelerinden proinflatuar sitokinlerin salınımına yol açıp açmadığını araştıran herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Malin mezotelyoma (MM) plevra gibi mezotelyal yüzeylerden türeyen çok agresif bir tümör olup başlıca asbest mineral liflerine maruziyet sonucunda oluşmaktadır (1). Ancak epidemiyolojik çalışmalar göstermiştir ki, MM oluşumu asbestiform denilen ve asbest benzeri veya asbest olmayan başka liflerin maruziyetine bağlı da olabilmektedir (4,5). Hatta hayvan çalışmalarında bazı insan yapımı vitroz liflere bağlı da MM olabileceği gösterilmiştir (6). Asbest türlerinin özellikle uzunluk çap oranının yüksek olması kanserojenik özelliğini arttırmaktadır (5,7,8). Günümüzde asbest maruziyetinin hangi mekanizmalar ile MM'ya yol açtığı ise tam olarak bilinmemektedir.

KNT'lerin mezotel hücreleri üzerindeki etkileri bugüne kadar yayınlanmış yedi çalışmaya konu edildi. Bunların üçü hayvan çalışması iken, dördü *in vitro* ortamda hücreler üzerinde yapılmıştır. Hayvan çalışmalarından birisinde KNT'lerin peritoneal injeksiyonu sonrası oluşan inflamatuvar yanıt ve patolojik değişiklikler araştırıldı (9). Araştırmacılar C57Bl/6 fareleri farklı boyut ve agregasyon evresindeki dört tür çok duvarlı karbon nanotüplere (ÇDKNT) maruz bıraktılar. Aynı zamanda iki amosit lif örneğini de test ettiler. Çalışmanın primer çıktısı inflamasyonun peritoneal lavaj ve diafragmanın incelenmesi ile kuantifiye edilmesiydi. Çalışmanın sonucunda görüldü ki sadece uzun ÇDKNT örnekleri ve amosit lifleri inflamasyona ve granülom oluşumuna yol açmaktadır. Histolojik analiz makrofajlarda engellenmiş (frustrated) fagositoz olduğunu gösterdi. Engellenmiş fagositoz ve granülom oluşumuna sadece uzun lif formları yol açmıştı. Tagaki ve ark. ÇDKNT lerin uzun dönem etkilerini araştırmaya yönelik bir hayvan çalışması yayınladılar. Bu çalışmada C57Bl/6 p53+/- farelerin periton boşluğuna ÇDKNT ler enjekte edilirken pozitif kontrol olarak da diğer bir gruba crocidolite asbest enjekte edildi. Bu farelerin bir allellerinde *Trp53 gen* mutasyonu olduğu için bunlar özellikle kanser geliştirmeye yatkın bir fare türüdür. Yirmi beş hafta sonunda yapılan otopsielerde her iki grupta da benzer oranda peritoneal MM oluştuğu görüldü (10). Çok yeni yapılan bir diğer çalışmada ÇDKNT ler yedi Fischer 344 sıçana intraskrotal olarak enjekte edilerek hayvanlar 52 hafta süre ile gözlemlendiler (11). ÇDKNT lerin %82 sinin çapı 70-110 nm arasında olup %72.5 unun uzunluğu 1-4 µm arasındaydı. Aynı zamanda 5 sıçan kontrol grubu olarak alınırken 7 sıçana da pozitif kontrol olarak crocidolite enjekte edilmişti. ÇDKNT enjekte edilen grupta mezotelyoma insidansı %86 olarak bulunurken kontrol gruplarında (crocidolite grubu dahil) hiçbir sıçanda mezotelyoma saptanmadığı bildirildi. Ancak bu çalışmalarda MM gelişiminin altında yatan mekanizmalar ve mezotel hücrelerinin bundaki rolü bilinmemektedir. Dolayısıyla bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu açıktır.

In vitro çalışmalara baktığımızda mevcut literatürde nanopartiküllerin mezotel hücreleri üzerindeki etkilerini araştıran bugüne kadar yapılmış sadece dört çalışma olduğu görülmektedir. Bu çalışmalardan birisinde normal mezotel hücre dizileri ve MM hücre dizileri tek duvarlı KNT lere maruz bırakılmıştı. Bu çalışmada araştırmacılar hem normal mezotel hücrelerinde hem de MM hücrelerinde DNA yıkımı ve tamiri olduğunu ve bunun yanında aktivatör protein (AP)-1, NF-κB ve Akt yoluyla hücre aktivasyonu olduğunu bildirdiler (12). Diğer bir çalışmada da yine nor-

mal insan mezotel hücre dizileri tek duvarlı KNT lere maruz bırakıldığında hücre canlılığında değişiklikler olduğu ve hücre proliferasyonunun azaldığı bulundu (13). Yapılan çalışmaların üçünde KNT lerin normal insan mezotel hücre dizileri, MM hücre dizileri ve TSV40-transforme edilmiş mezotel hücrelerine sitotoksik olduğu rapor edildi (12-14). Dikkat çekici olan aynı KNT materyalinin farklı derecelerde çözdürülmesi (disperse edilmesi) ile insan mezotelyoma hücre dizileri üzerinde farklı derecelerde sitotoksikite göstermiş olmasıydı (14). Bu çalışmada KNT demetlerinin (en iyi çözdürülmüş halde demet çapı yaklaşık 20 nm) sitotoksitesi KNT kümelerine (agregatlarına) göre (çapları µm düzeylerinde) daha az olarak bildirilmişti. *In vitro* çalışmalar, KNT'lerin farklı hücre tipleri tarafından hücre içine alınımı ('up take') gösterse de, bu çalışmalar arasında bazı çelişkiler sözkonusudur (15,16). Diğer yandan bazı çalışmalar bu partiküllerin hücreler tarafından alınmadığını bildirmişlerdir (17). Hücrenel alımın muhtemelen hücrenel reseptörler ve hücre yüzey fonksiyonları ile KNT'lerin yüzey reaktiviteleri arasındaki etkileşimlere bağlıdır (4). Hücre tipine bağlı olarak çok çeşitli hücre yüzey fonksiyonları bulunabilir (4). Ayrıca KNT'ler çeşitli reaktif gruplar taşıyor olabilirler. KNT leri çözdürmek için kullanılan farklı türdeki kimyasallar ve biyolojik moleküller KNT'lerin yüzeyini modifiye ediyor olabilir (4). Bu nedenle hücre KNT etkileşimleri çok sayıda intrensek ve ekstrensek parametreye bağlı gibi gözükmektedir. Asbest liflerinin yüzey modifikasyonunun hücre yanıtını değiştirmesi de söz konusudur (18-22). Makrofajlarda kollejenoz yapıyı temizleyici reseptörün (MARCO) inorganik partiküllere bağlı oluşan akciğer hasarında önemli rol oynadığı sanılmaktadır ve bu mekanizma ÇDKNT'ler ile makrofajların plazma membranı arasındaki etkileşiminde rol oynuyor olabilir (23,24). Mezotel hücrelerinde integrin reseptörlerin asbest lifleri ile etkileştiği bildirilmiştir (20,25). Son olarak ÇDKNT'e maruz bırakılan geniş TSV40-transforme edilmiş mezotel hücrelerinde (MeT-5A) sitotoksisiteye rağmen partikül internalizasyonu gözlenmemişti (13).

Sonuç olarak, bilim dünyasının son yıllardaki en popüler alanlarından biri olmasına rağmen KNT'lerin insan mezotel hücreleri üzerindeki etkilerini araştıran araştırma sayısı çok az olup yeni verilere ihtiyaç olduğu aşikardır. Ancak nanopartiküllerin insan plevrasında saptanmış olması, hayvan deneylerinde inhalasyon veya direk enjeksiyon yoluyla verilen nanopartiküllerin mezotelyomaya yol açtığına gösterilmesi bugün için gittikçe artan bir yoğunlukta hayatımıza girmekte olan nanoteknoloji hakkındaki şüpheleri arttırmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Lehn JM. Toward self-organization and complex matter. *Science* 2002; 295:2400-3.
2. Schmidt G, Decker M, Ernst H, Fuchs H, et al. Small dimensions and material properties. *Europäische Akademie Graue Reihe. In A definition of nanotechnology Bad Neuenahr*;2003:134.
3. Song Y, Li X, Du X. Exposure to nanoparticles is related to pleural effusion, pulmonary fibrosis and granuloma. *Eur Respir J*. 2009 Aug 20.
4. Jaurand MC, Renier A, Daubriac J. Mesothelioma: Do asbestos and carbon nanotubes pose the same health risk? *Part Fibre Toxicol*. 2009;6:16.
5. Dikensoy O. Mesothelioma due to environmental exposure to erionite in Turkey. *Curr Opin Pulm Med*. 2008;14:322-5.
6. IARC: Man-made mineral fibres. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* 2002; 81:1-381.
7. Toyooka S, Kishimoto T, Date H. Advances in the molecular biology of malignant mesothelioma. *Acta Med Okayama*. 2008;62:1-7.
8. Wagner JC, Sleggs CA, Marchand P. Diffuse pleural mesothelioma and asbestos exposure in the North Western Cape Province. *Br J Ind Med* 1960;17:260-71.
9. Poland CA, Duffin R, Kinloch I, et al. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestoslike pathogenicity in a pilot study. *Nat Nanotechnol* 2008;3:423-8.
10. Ichihara G, Castranova V, Tanioka A, Miyazawa K. Induction of mesothelioma in p53 +/- mouse by intraperitoneal application of multi-wall carbon nanotube. *J Toxicol Sci* 2008;33:381-2.
11. Sakamoto Y, Nakae D, Fukumori N, et al. Induction of mesothelioma by a single intrascrotal administration of multi-wall carbon nanotube in intact male Fischer 344 rats. *J Toxicol Sci* 2009; 34:65-76.
12. Pacurari M, Yin XJ, Zhao J, et al. Raw single-wall carbon nanotubes induce oxidative stress and activate MAPKs, AP-1, NF-kappaB, and Akt in normal and malignant human mesothelial cells. *Environ Health Perspect* 2008;116:1211-7.
13. Tabet L, Bussy C, Amara N, et al. Adverse effects of industrial multiwalled carbon nanotubes on human pulmonary cells. *J Toxicol Environ Health A* 2009; 72:60-73.
14. Wick P, Manser P, Limbach LK, et al. The degree and kind of agglomeration affect carbon nanotube cytotoxicity. *Toxicol Lett* 2007; 168:121-31.
15. Kaiser JP, Wick P, Manser P, Spohn P, Bruinink A. Single walled carbon nanotubes (swCNT) affect cell physiology and cell architecture. *J Mater Sci Mater Med* 2008; 19:1523-7.
16. Helland A, Wick P, Koehler A, Schmid K, Som C. Reviewing the environmental and human health knowledge base of carbon nanotubes. *Environ Health Perspect* 2007; 115:1125-31.
17. Shvedova AA, Kisin ER, Porter D, et al. Mechanisms of pulmonary toxicity and medical applications of carbon nanotubes: Two faces of Janus? *Pharmacol Ther* 2009; 121:192-204.
18. Wu J, Liu W, Koenig K, Idell S, Broaddus VC. Vitronectin adsorption to chrysotile asbestos increases fiber phagocytosis and toxicity for mesothelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279:L916-L923.
19. Donaldson K, Hill IM, Beswick PH. Superoxide anion release by alveolar macrophages exposed to respirable industrial fibres: Modifying effect of fibre opsonisation. *Exp Toxicol Pathol* 1995; 47:229-31.
20. Boylan AM, Sanan DA, Sheppard D, Broaddus VC. Vitronectin enhances internalization of crocidolite asbestos by rabbit pleural mesothelial cells via the integrin alpha5beta1. *J Clin Invest* 1995; 96:1987-2001.
21. Lu J, Keane MJ, Ong T, Wallace WE. In vitro genotoxicity studies of chrysotile asbestos fibers dispersed in simulated pulmonary surfactant. *Mutat Res* 1994;320:253-9.
22. Jaurand MC, Thomassin JH, Baillif P, Magne L, Touray JC, Bignon J. Chemical and photoelectron spectrometry analysis of the adsorption of phospholipid model membranes and red blood cell membranes on to chrysotile fibres. *Br J Ind Med* 1980; 37:169-74.
23. Thakur SA, Hamilton R Jr, Pikkarainen T, Holian A. Differential binding of inorganic particles to macrophages. *Toxicol Sci* 2009;107:238-46.
24. Hirano S, Kanno S, Furuyama A. Multi-walled carbon nanotubes injure the plasma membrane of macrophages. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 232:244-51.
25. Pande P, Mosleh TA, Aust AE. Role of alpha5beta1 integrin receptor in endocytosis of crocidolite and its effect on intracellular glutathione levels in human lung epithelial (A549) cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; 210:70-7.