

KAYISI KÜKÜRTLEMESİNDE ÇALIŞAN İŞÇİLERDE KÜKÜRT DİOKSİT MARUZİYETİNE BAĞLI LİPİD PEROKSİDASYONUNUN NEDEN OLDUĞU BRONKOKONSTRİKSİYON

Zeki YILDIRIM*
Hatice Canan HASANOĞLU*
Nurhan KÖKSAL*
Münire GÖKİRMAK*
Nihayet MEHMET**
Ahmet ÇİĞİLİ**

ÖZET

Kükürt dioksit (SO₂) inhalasyonu serbest radikaller oluşturarak hücrel lipid peroksidasyonuna neden olabilir. Kuru kayısı elde etmek için yapılan kayısı kükürtlemesi sırasında yüksek konsantrasyonda SO₂ gazı açığa çıkar ve bu işte çalışanlar mesleksel olarak SO₂'e maruz kalırlar. Literatürde mesleki SO₂ maruziyetinin superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPX), katalaz enzimleri ve bir lipid peroksidasyon ürünü olan malonydialdehide (MDA) seviyelerine etkisini gösteren çalışma bildirilmemiştir. Bu çalışmada kayısı kükürtleme işinde çalışan 40 işçide, SO₂ maruziyetinin solunum fonksiyon testleri (SFT) ve SOD, GPX, katalaz ve MDA aktivitesi üzerine etkisi araştırıldı ve enzim aktiveteleri 20 kişiden oluşan kontrol grubunun sonuçlarıyla karşılaştırıldı. SO₂ maruziyetini takiben antioksidan enzim aktiveteleri, kayısı işçilerinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. SOD; 2.2 ± 0.1 U/L karşın 3.2 ± 0.1 U/L, GPX; 0.6 ± 0.1 U/L karşın 1.0 ± 0.1 U/L ve katalaz; 107.6 ± 4.3 U/L karşın 152.6 ± 4.2 U/L (p< 0.001). MDA aktivitesi ise işçilerde kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek bulundu (4.1 ± 0.2

nM karşın 1.9 ± 0.1 nM) (p< 0.001). SO₂ maruziyeti sonrasında, FVC, FEV₁, FEF_{25-75%} değerlerinde anlamlı azalma görüldü (p< 0.001), azalma miktarı sırasıyla; 0.22 ± 0.4 L, 0.44 ± 0.3 L ve 0.9 ± 0.82. Bu sonuçlar kayısı işçilerinde mesleksel SO₂ maruziyetinin hava yollarında hücrel lipid peroksidasyonuna neden olarak bronkokonstriksiyona yol açtığını düşündürmektedir. **Anahtar Kelimeler:** Kükürt dioksit, Superoxide dismutase, Glutathione peroxidase, Catalase Malonydialdehide, Solunum fonksiyon testleri.

SUMMARY

BRONCHOCONSTRUCTION CAUSED BY LIPIDPEROXIDATION DUE TO SULFUR DIOXIDE EXPOSURE IN WORKERS INVOLVED APRICOT

Sulfur dioxide (SO₂) could generate free radicals and, therefore it might cause cellular lipid peroxidation. Occupational exposure to higher concentrations of SO₂ emerges during the processes of apricot sulfurization to obtain dried apricot in the city of Malatya. There is no report regarding the effect of occupational SO₂ exposure on the levels of the superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase GPX, catalase enzymes and malonydialdehide (MDA). In this study, we evaluated the effect of SO₂ exposure on the SOD, GPX, catalase and MDA activities and on the pulmonary function tests in 40 "workers involved in apricot sulfurization" (WIS) and also SOD, GPX, catalase and MDA activities were compared with 20 control subjects. We found that the activities of SOD (2.2 ± 0.1 U/L vs. 3.2 ± 0.1 U/L), GPX (0.6 ± 0.1 U/L vs. 1.0 ± 0.1 U/L) and catalase (107.6 ± 4.3 U/L vs. 152.6 ± 4.2 U/L) in the WISs were significantly lower (p<0.001) than controls whereas the MDA activity (4.1 ± 0.2 nM vs. 1.9 ± 0.1 nM) was higher in the WIS than controls (p<0.001). After the SO₂ exposure, forced vital capacity (FVC), forced expiratory volume in one second (FEV₁) and forced midexpiratory flow rate (FEF_{25-75%}) were significantly decreased 0.22 ± 0.4 L, 0.44 ± 0.3 L, and 0.9 ± 0.82 L/sec respectively (p<0.001). These results showed that occupational SO₂ exposure enhanced cellular lipid peroxidation in the airway and lead bronchoconstruction in the WIS.

Keywords: Sulfur dioxide, Glutathione peroxidase (GPX), Superoxide dismutase (SOD), Catalase, Malonydialdehide (MDA), Pulmonary function tests.

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Turgut Özal Tıp Merkezi
*Göğüs Hastalıkları ve **Biyokimya Anabilim Dalları

Yazışma Adresi:

Dr. Zeki Yıldırım Turgut Özal Tıp Merkezi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı MALATYA
Tel: 0422 3410785 Fax: 0422 3410729
e-mail: zekiy@hotmail.com

GİRİŞ

Serbest radikaller fizyolojik koşullarda, başlıca mitokondriyal elektron transport sisteminde bulunan, tiol molekülleri, quinone gibi otooksidasyon molekülleri, xanthine oxidase, alehyde oxidase gibi enzimler ve mikrozomal oksidasyon ile devamlı olarak oluşurlar. Oksidatif stres, iritan gazlar (kükürt dioksit (SO₂), ozon, nitroz oksit), iskemi/reperfüzyon, inflamasyon, ksenobiyotik metabolizması ve hipoksi gibi durumlarda üretimi artan reaktif oksijen radikalleri bronşial lümenini döşeyen sıvının lipid komponentleri ve lipid mediatörleri ile reaksiyona girerek lipid preoksidasyonuna yol açabilir. Bu olaylar sonucunda hava yollarında lipid peroksidasyonun şiddetini gösteren bir marker olarak değerlendirilen malonyldialdehide (MDA) açığa çıkar. Bununla birlikte, fizyolojik koşullarda hücreler glutatyon peroksidaz (GPX), süper oksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzimler ve askorbik asit, tochopheroller ve karoten gibi antioksidan moleküller tarafından oksidatif hasardan korunurlar (1). GPX, SOD ve katalaz serbest radikalleri ortadan kaldıran esas enzimlerdir. Bu enzimlerin aktiviteleri hücrelerin serbest radikallere maruziyetinin derecesini yansıtabilir. Bu yüzden onların vücuttaki aktivitelerinin belirlenmesi doku dejenerasyonu hakkında önemli bilgiler verebilir(2). Endüstriyel atıklar ve büyük şehirlerdeki hava kirliliği sonucu maruz kalınan Ozon, Nitrojen dioksit ve özellikle SO₂'nin akciğer dokusunda hasarlanma ve astım semptomlarını başlatabileceği bildirilmektedir (3). SO₂ suda kolayca çözünen iritan bir gaz olduğu için solunum yolları mukozasındaki suyla temasa geçtiğinde aşağıdaki reaksiyonlara göre bisülfite ve metabisülfite dönüşür. SO₂ + H₂O → H₂SO₃ → H⁺ + HSO₃⁻ → 2H⁺⁺ + SO₃⁻². SO₂'nin akciğerlerde başlıca pH'yı düşürmesi, bisülfite ve sülfite bileşiklerine dönüşmesi sonucunda zararlı etkiler ortaya çıkarmaktadır (4). Öte yandan SO₂'nin oluşturduğu serbest radikaller hava yollarında ya da akciğer parankiminde lipid peroksidasyonuna neden olabilir. Aynı zamanda SO₂ peptid yapılarında sülfitolisise neden olarak membran özelliğini bozabilir (5).

Üreticiler kayısının bozulmasını önlemek için kükürtlemek zorundadır. Kayısı kükürtleme yapılan 9 ayrı kayısı bahçesinde çalışan işçilerin, konsantrasyonu 106 ile 639 ppm arasında değişen çok yüksek konsantrasyonlarda SO₂ gazı içeren hava soludukları gözlemlendi. Literatür incelemesi SO₂ maruziyetinin etkilerinin, soğutma, gıda sanayi, madencilik, bakır sanayi, şeker üretimi, yün ve kağıt sanayinde çalışanlarda (6-8) ve hava kirliliği olan yerleşim yerlerinde yaşayan normal ve astmatik (9-18) kişilerde incelendiğini göstermektedir. Son zamanlarda deneysel çalışmalarda

SO₂ inhalasyonunun etkisini inceleyen birkaç çalışma yayınlanmıştır (2,5,19-22). Bizim bilgilerimize göre insanlarda yüksek konsantrasyonda mesleki SO₂ maruziyeti bir iş kazası vakası dışında bildirilmemiştir (23).

Sunulan çalışmada kayısı kükürtleme işinde çalışan işçilerde SO₂'nin solunum fonksiyon testleri, serum antioksidan enzimleri ve MDA üzerine etkisi incelendi.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

İşçiler

Dokuz ayrı kayısı bahçesinde çalışan ve tamamen sağlıklı olan 40 erkek işçi çalışmaya alındı. Yaş ortalaması 28 (16-60) yıl idi. Her işçinin daha önceden geçirmiş ve var olan hastalık hikayesi alındı ve fizik muayenesi yapıldı.

SO₂ maruziyeti

Kayısı kükürtlemesi genellikle kayısı bahçelerine inşa edilen yaklaşık 15 m³ hacmi olan, içeri hava giriş çıkışını engelleyecek şekilde çok iyi izole edilen kükürtleme odasında yapılmaktadır. Önceden toplanmış ve kasalara doldurulmuş kayısılar kükürtleme odasına yerleştirilir. Bir ton kayısı için yaklaşık 1.5-2 kg kadar toz haldeki %98-99 saflıktaki kükürt kullanılır. Yayvan metal bir kaba konulan kükürt, kükürtleme odasının bir duvarına monte edilmiş ocagin üzerinde ısıtılarak eritilir ve eriyen kükürt yakılarak SO₂ gazı elde edilir. SO₂ gazı ortaya çıkmaya başlayınca kükürtleme odasının kapısı kapatılır, yaklaşık 8-10 saat beklendikten sonra kapı açılır. Kapılar açılır açılmaz yaklaşık 30 m çapındaki bir alana SO₂ gazı yayılır. Bu alan içinde bulunan herkes gazı solumaktadır. Kükürtleme odası açıldığı zaman çok yoğun SO₂ gazı nedeniyle içeri girme imkanı olmadığından oda 30-60 dakika havalandırılır. Havalandırma sonunda kayısı kasalarını dışarıya taşımaya başlanır. Taşıma işlemi kayısı miktarına göre değişmekle birlikte yaklaşık 1 saat sürmektedir. Bu sırada kükürtleme odası havalandırılmasına rağmen içeri giren işçiler SO₂ gazı solumamak için dışarıda derin nefes alır, sonra odaya girerler ve oda içinde hiç nefes almadan kayısı kasalarını dışarı taşırlar. İşçiler kükürtleme odası içinde nefes almasalar bile oda çevresinde çok yoğun olarak SO₂ gazına maruz kalmaktadır

Kükürt dioksit (SO₂) gazı ölçümü

Kükürtleme odası havalandırma süresi sonrası, kükürtlenmiş kayısılar dışarıya çıkarılırken kükürtleme odası çevresindeki havada SO₂ gazı ölçüldü. Ölçüm

Monier Willams yöntemiyle (24) yapıldı. Yöntem, ortamdaki SO₂ gazını hidrojen peroksit (H₂O₂) çözeltisi içerisinde geçirek sülfat (H₂SO₄)'a dönüştürme ve bromfenolblue indikatörlüğünde sodyum hidroksit (NaOH) ile titre etme prensibine dayanmaktadır.

Solunum fonksiyon testleri:

Kükürtleme odası açılmadan önce bütün işçilerin bazal SFT'leri ölçüldü. SO₂ maruziyetinden 60 dakika sonra tekrar SFT yapıldı. SFT; Pony (Cosmed, P/N: CO9002-02-99, S/N:7012154, Roma-İTALYA) marka, akım duyarlı taşınabilir spirometre cihazı ile Amerikan Toraks Derneği'nin kurallarına uygun olarak ölçüldü (25). Her işçiye en az üç kez zorlu vital kapasite manevrası yaptırıldı. Aralarında en fazla %3'lük fark olan üç ölçümden en iyisi seçilerek sonuç bildirildi. SFT parametrelerinden FEV₁ (1.saniyedeki zorlu ekspirasyon volümü), FVC (Zorlu vital kapasite) ve FEF_{25-75%} (Maksimum ekspirasyon ortası akım hızı) değerlendirilme alındı.

Serum:

İşçilerden yaklaşık 1 saatlik bir çalışmadan sonra 10 cc venöz kan alındı. Pıhtılaştıktan sonra 3000 devirde 5 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Serumlar -40C'de analiz yapılacağı güne kadar bekletildi.

Kontrol grubu:

İşçilerin SOD,GPX, katalaz ve MDA düzeyleri karşılaştırmak için herhangi bir solunum sistemi ya da diğer sistem hastalığı olmayan tamamen sağlıklı olan, işçilerle aynı yaş grubundaki 20 erkek gönüllüden seçildi. Kontrol grubundaki kişilerin hiçbirinde SO₂ gazına maruziyet söz konusu değildi.

Enzim Ölçümü:

GPX aktivitesi, glutatyon redüksiyon reaksiyonu ile ölçüldü (26). SOD aktivitesi, epinefrinin süperoksit iyonları ile oksidasyonunun inhibisyonu ile ölçüldü (27). Katalaz aktivitesi, spektrofotometre ile 240 nm de H₂O₂'nin kaybolma hızına göre ölçüldü (28). MDA aktivitesi ölçümü spectrofluorimetrik olarak pek in elmer luminescence spectrometre (Norwalk CT, USA) ile ölçüldü. Eksitasyon ve emisyon dalga boyu aralığı 525 ve 547 idi (29).

İstatistik

Veriler ortalama ve standard sapma olarak değerlendirildi. İşçileri ile kontrol grubu arasında yaş ile GPX, SOD, MDA ve katalaz aktivitesini karşılaştırmak için unpaired t-testi kullanıldı. SO₂ maruziyet öncesinde ve sonrasında ölçülen SFT değerlerinin farkları hesaplandı. SFT'deki değişiklik miktarı ile antioksidan enzimler ve MDA aktivitesi arasında ilişki olup olmadığı

Pearson korelasyon analizi ile araştırıldı. p<0.05 istatistik anlamlılık sınırı kabul edildi. Bütün istatistik analizler SPSS paket programı kullanılarak gerçekleştirildi (SPSS; Chicago, IL, USA).

BULGULAR

Başlangıçta bütün işçilerin fizik muayene ve anamnezleri normaldi. Herhangi bir solunum sistemi yada diğer sistem hastalığı yoktu. Tablo I'de görüldüğü gibi işçilerde GPX, SOD ve katalaz seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunurken, MDA seviyesi yüksek bulundu (p<0.001). MDA seviyesi ile antioksidan enzimler arasında kuvvetli ters korelasyon izlendi (r = -0.53, p = 0.001) (Şekil 1). Ortalama SO₂ konsantrasyonu 324 ± 222 ppm olarak bulundu. SFT'lerinde SO₂ inhalasyonunu takiben belirgin azalma görüldü (p<0.001).

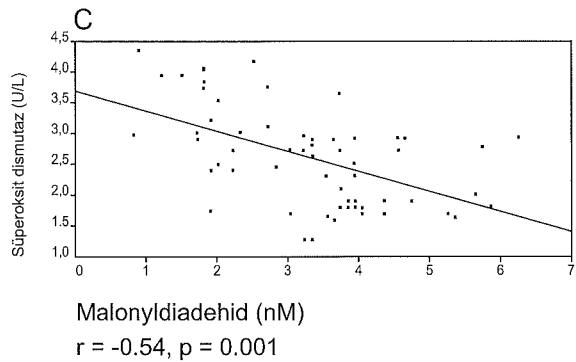
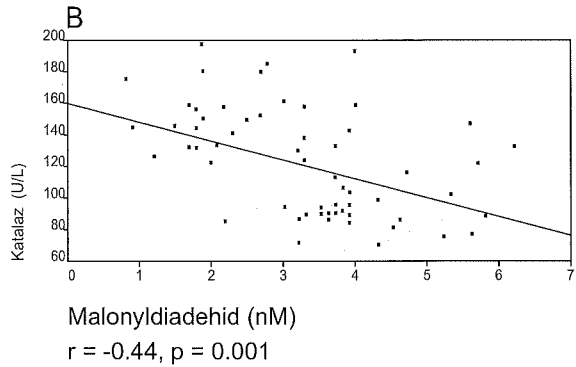
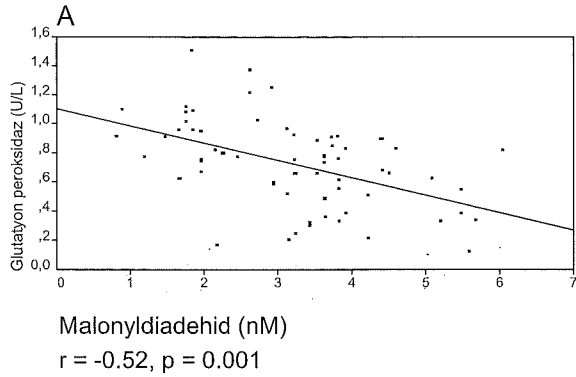
Tablo I: İşçiler ve kontrol grubunun ortalama serum SOD, GPX, Katalaz ve MDA seviyeleri.*

	İşçiler n= 40	Kontrol n=20	P
SOD SS (U/L)	2,23 ± 0,6	3,2 ± 0,7	<0,0001
GPX SS (U/L)	0,6 ± 0,3	1,1 ± 0,3	<0,0001
Katalaz SS (U/L)	107,6 ± 27,4	152,6 ± 14,3	<0,0001
MDA SS nM	4,1 ± 0,9	1,9 ± 5,3	<0,0001

*: sonuçlar ortalama standart sapma olarak verilmiştir. SOD: Superoksit dismutaz, GPX: Glutatyon peroksidaz, MDA: Malonyldialdehide, SS: Standard sapma

Özellikle FEF_{25-75%} de görülen azalma diğer parametrelerde görülen azalmadan daha fazlaydı (Tablo II). FEF_{25-75%}'deki azalma ve MDA konsantrasyonu arasında ters korelasyon izlendi (r = 0.36, p = 0.02) (Şekil 2) fakat benzer ilişki FVC ve FEV₁'de izlenmedi (r = 0.2, p = 0.4).

Şekil 1: Malonyldialdehid ve serum antioksidan enzim düzeyi arasındaki ters kolelasyon.

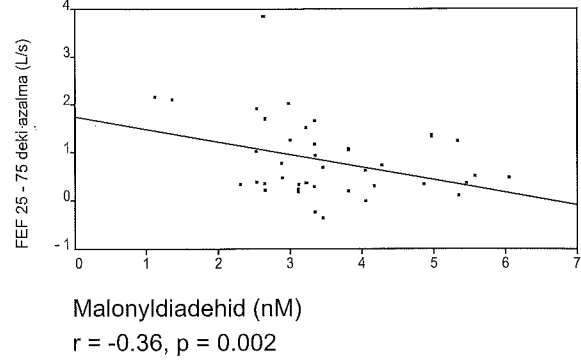


Tablo II: SO₂ maruziyetinden sonra solunum fonksiyon testlerinde görülen azlama.*

	SO ₂ maruziyet		Fark	p
	öncesi	sonrası		
FVC (L)	4,1±0,9	3,8±0,9	0,22±0,35	<0,001
FEV1 (L)	3,7±0,8	3,3±0,7	0,44±0,36	<0,001
FEF 25-75% (L)	4,7±1,2	3,8±1,2	0,9±0,82	<0,001

* : sonuçlar ortalama standart sapma olarak verilmiştir. FVC: zorlu vital kapasite, FEV1: birinci saniyedeki zorlu ekspiratuar volüm, FEF_{25-75%}: maksimum ekspirasyon ortası akım hızı, SS: Standard sapma.

Şekil 2: Malonyldialdehid, ve FEF_{25-75%} de oluşan azalma miktarı arasındaki ters kolelasyon



TARTIŞMA

Çalışmamızda yüksek konsantrasyonda kısa süreli SO₂ inhalasyonunun MDA seviyelerini arttırdığı ve antioksidan enzimlerini ise düşürdüğü aynı zamanda bu parametreler arasında kuvvetli negatif korelasyon olduğu görüldü. MDA aktivitesindeki artış, SO₂ maruziyetinin yolaçtığı serbest radikallerin solunum yollarında oluşan lipid peroksidasyonunun bir sonucu olabileceğini düşündürmektedir. Antioksidan enzimlerin seviyelerindeki düşüşün ise bu enzimlerin serbest radikallerin nötralize edilmesi sırasında tüketilmesine bağlı olabileceğini akla getirmektedir.

Serbest radikal metabolizmasında rol alan SOD toksik süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit dönüşümünü, başlıca peroksizomlarda bulunan katalaz ise hidrojen peroksitin moleküler oksijen ve suya dönüşümünü katalizler. GPX de hidrojen peroksitin suya dönüşümünde rol alır (2). Akciğerlerde SO₂ oksitlenmiş glutatyonun (GSSG) sülfitozosis yoluyla detoksifiye edilir. GSSG serbest radikaller üzerine GPX in etkisiyle indirgenmiş glutatyon (GSH) oluşur (21). Bu reaksiyonlar sırasında GPX kullanıldığı için serum seviyesi azalmaktadır. SOD molekülü aktif bölgelerinde sistein kalıntıları içermektedir. Bisülfid iyonlarının sistein rezidüsüyle etkileşerek enzim aktivitesini düşürdüğü tahmin edilmektedir (5). Böylece, yukarıdaki reaksiyonlar serum veya hücrelerde SOD seviyelerinde düşüklüğe yol açabilmektedir. Ayrıca GPX hidrojen peroksitin yanı sıra değişik organik hidroperoksidleri ikinci substrat olarak kullanabilir (5). Kayısı işçilerinde hidrojen peroksit miktarı yukarıda anlatılan nedenlerden dolayı SOD seviyesinin azalmasına bağlı olabilir. Böylece, bir seri reaksiyon sonucu oluşan SO₂ radikalleri sonunda organik hipoperoksidazlar oluşabilir. Uygun koşullarda bir kez

bu reaksiyonları oluşmaya başlayınca, birbiriyle ilişkili seri reaksiyonlar başlar ve değişik serbest radikallerinin ortaya çıkmasını başlatan olaylar başlayabilir. Çalışmamızda görülen antioksidan enzim seviyelerindeki azalmanın, aşırı serbest radikallerin zararlı etkilerinden organizmanın korunması için bu enzimlerin kullanımına bağlı olabileceğini göstermektedir. Kayısı işçilerinde MDA seviyelerindeki artma ve antioksidan enzim seviyelerindeki azalma alt havayollarında SO₂'nin neden olduğu oksidatif aşırı yükün antioksidan savunma kapasitesini aştığını düşündürmektedir. Bu bulgular deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlarla uyumlu bulunmuştur (2,5,19-22).

Bizim çalışmamızda SO₂ maruziyeti sonrası SFT'lerinde özellikle FEF_{25-75%} miktarında belirgin azalma tespit edilmiştir. SO₂'nin hangi mekanizma ile bronkokonstriksiyonuna neden olduğu kesin olarak bilinmemektedir. Bazı çalışmalar nöral refleks mekanizmanın bronkokonstriksiyona yol açtığını bildirirken, diğerleri de mast hücreleri veya havayollarının diğer hücrelerine SO₂ ve/veya sülfid iyonların direkt etkisi ile bronkokonstriksiyon ortaya çıktığı iddia edilmektedir (30). Kayısı işçilerinde SO₂ inhalasyonuna bağlı olarak ortaya çıkan lipid peroksidasyonu bronşial düz kaslarda ya da diğer hücrelerde membran özelliklerini bozarak bronkokonstriksiyona neden olan yeni bir mekanizma olarak göz önüne alınabileceğini düşünmekteyiz. Ancak bu konunun yeterince aydınlatılabilmesi için daha ileri çalışmalar gereklidir. Sunulan çalışmada, MDA seviyeleri ile FEF_{25-75%} deki azalma arasında ters korelasyon görülmesi, SO₂'nin distal havayollarında proksimal havayollarına göre daha fazla oksidatif hasara yol açtığını düşündürmektedir. Aynı zamanda MDA ile antioksidan enzim seviyeleri arasında görülen kuvvetli ters korelasyon, serbest radikallerin inhibisyonu için antioksidan enzimlerinin tüketilmesi fikrini desteklemektedir. Böylece MDA seviyeleri serbest radikallerin etkisiyle ortaya çıkan lipid peroksidasyonu sonucunda artmaktadır. Bizim sonuçlarımız, kayısı işçilerinde yüksek konsantrasyonda SO₂ maruziyetinin olduğunu, SO₂'nin havayollarında serbest radikaller oluşturarak lipid peroksidasyonu sonucunda MDA seviyesinde artmaya ve aynı zamanda serum antioksidan enzim seviyesinde azalmaya yol açtığını göstermektedir. SO₂'nin önceden bildirilen bronkonstriksiyon geliştirme mekanizmalarına ek olarak, lipid peroksidasyonu yoluyla bronşial düz kaslarının membran özelliklerini değiştirerek bronkokonstriksiyon oluşturabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte oluşan bronkokonstriksiyonun kronik mi yoksa akut mu olduğunu belirleyecek ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Pigeolet E, Corbisier P, Houbion A, Lambert D, Michiels C, Raes M, Zachary MD, Remacle J. Glutathion peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxidase and oxygen derived free radicals. *Mechanism of Aging Development* 1990;51:283-297
2. Durak İ, Örmeci N, Akyol Ö, Canbolat O, Kavutçu M, Bülbül M. Adenosine deaminase, 5-nucleotidase, xantine oxidase, superoxide dismutase and catalase activities in gastric juices from patients with gastric cancer, ulcer and atrophic gastritis. *Digestive Diseases and Sciences* 1994;39:721-728
3. Langey-Evans SC, Phillips GJ, Jackson AA. Fetal exposure to low protein maternal diet alters the susceptibility of young adult rats to sulfur dioxide-induced lung injury. *J Nutr* 1997;127:202-209
4. Atzori L, Bannenberg G, Corrigan AM, Moldeus P, Ryrfeldt A. Sulfur dioxide-induced bronchoconstriction in the isolated perfused and ventilated guinea-pig lung. *Respiration* 1992;59:16-21
5. Gümüslü S, Akbaş H, Alicığüzel Y, Agar A, Küçükataş V, Yargıoğlu P. Effects of sulfur dioxide inhalation on antioxidant enzyme activities in rat erythrocytes. *Ind Health* 1998;36:70-73
6. Schwartz DA, Blaski CA. Toxic Inhalations. In *Pulmonary Diseases and Disorders*, ed. Alfred P Fishman. McGraw Hill Company, New York. 1994;353-365
7. Rom WN, Wood SD, White GL, Bang KM, Reading JC. Longitudinal evaluation of pulmonary function in copper smelter workers exposed to sulfur dioxide. *Am Rev Respir Dis* 1986;133:830-833
8. Smith TJ, Peters JM. Longitudinal evaluation of pulmonary function in copper smelter workers' exposure to sulfur dioxide. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:1332-1333
9. Tenias JM, Ballester F, Rivera ML. Association between hospital emergency visits for asthma and air pollution in Valencia, Spain. *Occup Environ Med* 1998;55:541-547
10. Tanaka H, Honma S, Nishi M, Igarashi T, Teramoto S, Nishio F, Abe S. Acid fog and hospital visits for asthma: an epidemiological study. *Eur Respir J* 1998;11:1301-1306
11. Hiltermann TJ, Stolk J, van der Zee SC, Brunekreef B, de Bruijne CR, Fischer PH, Ameling CB, Sterk PJ, Hiemstra PS, van Bree L. Asthma severity and susceptibility to air pollution. *Eur Respir J* 1998;

- 11:686-693
12. Harre ES, Price PD, Ayrey RB, Toop LJ, Martin IR, Town GI. Respiratory effects of air pollution in chronic obstructive pulmonary disease: a three month prospective study. *Thorax* 1997;52:1040-1044
 13. Agocs MM, White MC, Ursicz G, Olson DR, Vamos A. A longitudinal study of ambient air pollutants and the lung peak expiratory flow rates among asthmatic children in Hungary. *Int J Epidemiol* 1997;26:1272-1280
 14. Peters A, Goldstein IF, Beyer U, Franke K, Heinrich J, Dockery DW, Spengler JD, Wichmann HE. Acute health effects of exposure to high levels of air pollution in Eastern Europe. *Am J Epidemiol* 1996;144:570-581
 15. Walters S, Phupinyokul M, Ayres J. Hospital admission rates for asthma and respiratory disease in the West Midlands: their relationship to air pollution levels. *Thorax* 1995;50:948-954
 16. Kesten S, Szalai J, Dzyngel B/ Air quality and the frequency of emergency room visits for asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;74:269-273
 17. Rossi OV, Kinnula VL, Tienari J, Huhti E. Association of severe asthma attacks with weather, pollen, and air pollutants. *Thorax* 1993;48:244-248
 18. Wardlaw AJ. The role of air pollution in asthma. *Clin Exp Allergy* 1993;23:81-96
 19. Etlík O, Tomur A, Kutman MN, Yörükan S, Duman O. The effects of sulfur dioxide inhalation and antioxidant vitamins on red blood cell lipoperoxidation. *Environ Res.* 1995;71:25-28.
 20. Etlík O, Tomur A, Tuncer M, Rıdvanoğlu AY, Andaç O. Protective effect of antioxidant vitamins on red blood cell lipoperoxidation induced by SO₂ inhalation. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 1997;8:31-43.
 21. Langley-Evans SC, Phillips GJ, Jackson AA. Sulphur dioxide: a potent glutathione depleting agent. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 1996;114:89-98
 22. Oda Y, Kai H, Takahama K, Miyata T. Changes in lipid peroxides content and antioxidant enzyme activities on airway surface in SO₂-induced bronchitic rats. *Yakugaku Zasshi* 1990;110:612-616
 23. Rabinovitch S, Greyson ND, Weiser W, Hoffstein V. Clinical and laboratory features of acute sulfur dioxide inhalation poisoning: two-year follow-up. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:556-558
 24. Sidney Williams. Official methods of analysis. 4th edition. Virginia: ADAC, 1984
 25. Medical Section. American Thoracic Society of the American Lung Association: ATS statement, snowbird workshop on standardization of spirometry. *Am Rev Respir Dis* 1979;119:831-8
 26. Paglia DE, Valentina WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70:158-169
 27. Sun Y, Oberley LW, Li Y: A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34:497-500
 28. Abei h. Catalase in: Bergmeyer U. Ed. Method of enzymatic analysis. New York and London. Academic press 1974:673-677
 29. Wasowicz W, Neve J, Peretz A. Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid reactive substance in serum: Importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage *Clin Chem* 1993;39:2533-26
 30. Sheppard D. Mechanisms of bronchoconstriction from nonimmunologic environmental stimuli. *Chest* 1986;90:584-587