

## ALKOL KULLANANLARDA PLAZMA TNF- $\alpha$ SEVİYELERİ

Dr. Mehmet GÜRBİLEK\*, Dr. A. Zeki ŞENGİL\*\*, Dr. İdris AKKUŞ\*

Dr. Bülent BAYSAL\*\*, Dr. Hüseyin UYSAL\*\*\*, Bil. Uzm. Mustafa YÖNTEM\*

\* S.Ü.T.F. Biyokimya Anabilim Dalı, \*\* S.Ü.T.F. Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

\*\*\*S.Ü.T.F. Fizyoloji Anabilim Dalı

### ÖZET

Bölgemizde 30 yaşın üzerinde 5-30 yıldır yaklaşık 250 ml/gün alkol tüketen 10 erkek birey ile 10 erkek bireyden oluşan kontrol grubunun serumlarında TNF- $\alpha$  seviyeleri ortalama  $5.1 \pm 2.2$  pg/ml iken alkol kullanan bireylerde  $2.02 \pm 1.21$  pg/ml olarak tesbit edilmiştir. Bulgular arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p > 0.05$ ).

Sonuç olarak alkolün aynı zamanda bir immün süpresif ajan gibi etkili olduğu ve serum TNF- $\alpha$  seviyesini azalttığı kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Alkol, TNF- $\alpha$

### SUMMARY

#### *The Plasma TNF- $\alpha$ Levels in Alcohol Consumers*

Plasma TNF- $\alpha$  levels of 10 men who consume 250 ml alcohol daily for 5-30 years (over 30 years old) and 10 men as control were evaluated using IRMA. TNF- $\alpha$  levels were found  $2.02 \pm 1.21$  pg/ml in alcohol consumers and  $5.1 \pm 2.2$  pg/ml in control group. The difference was statistically significant ( $p > 0.05$ ).

It was concluded that alcohol was effective to decrease serum TNF- $\alpha$  levels like an immunosuppressive agent.

Key Words : Alcohol, TNF- $\alpha$

### GİRİŞ

1975'de Carswell ve Old, BCG ile enfekte edilen sıçanlara endotoksin uygulandığında serumda beliren bir faktörün sarkomların hemorajik nekrozuna yol açtığını göstermiş ve bu hipotetik maddeyi tümör nekrosis faktör (TNF) olarak isimlendirmiştir (1). Cerami ve arkadaşlarının, sıçanlara endotoksin uygulanmasını takiben ortaya çıkan bir serum faktörünün lipoprotein lipaz aktivitesini baskılayarak hipertrglisemiye yol açtığını göstermiş ve 1985'de kaşektin pürifiye edilerek TNF ile aynı madde olduğu anlaşılmıştır (2,3). TNF geni 6. kromozomun kısa kolu üzerinde lokalize ve major histokompatibilite kompleksine çok yakın bulunmakta olup, 17 kd bir polipeptid olan TNF'nin strüktürel yapısı, interleukin-1, lenfotoksin ve çoğu interferonlara benzerlik göstermektedir (4,5,6).

TNF, büyük miktarda makrofajlar tarafından

imal edilmekte ve aynı zamanda T lenfositlerinin natural killer (NK) hücrelerin, çeşitli Epstein-Barr virüsü ile transforme B hücre serilerinin ve fibroblastların TNF imal gücüne sahip oldukları gösterilmiştir (2,3,7,8,9).

Özellikle kronik alkol alışkanlığı olanlarda, immun sistem üzerine alkolün olumsuz etkileri tesbit edilmiştir. Ancak, alkolün bu etkisinin altında yatan mekanizmalar çok az bilinmektedir. Bu çalışmamızda, alkolün immun sistem üzerine etki mekanizmasını aydınlatmak amaçlanmıştır.

Tümör nekrosis faktörün önemli hedefleri arasında damar endoteli, karaciğer, cilt, böbrekler, akciğer ve gastrointestinal sistem bulunmaktadır (10). Tümör nekrosis faktör, fizyolojik şartlarda organizmaya yararlı bir madde olup, ateş ve inflamasyon patogeneğinde rol oynamakta, mitojenik

Haberleşme Adresi: Dr. Mehmet GÜRBİLEK, S.Ü.T.F. Biyokimya Anabilim Dalı, KONYA

aktivite, antimikrobik ve antitümör etki gösterilememekte, ancak uzamış veya ışırtı salgılandığı zaman tahripkar olabilmektedir (11,12).

## MATERYAL VE METOD

Arıştırmamız, Konya-Karapınar yöresinde yaşamakta olan 30 yaşın üzerinde 5-30 yıl arasında günde yaklaşık 250 ml alkol tüketen 10 erkek birey ile alkol kullanmayan 10 erkek birey kontrol grubu seçilerek gerçekleştirildi. Bu bireyler 12-14 saat aç kaldıktan sonra sabah oturur pozisyonda antikübital venlerin birisinden, 10 ml'lik disposable enjektöre bir defada açlık kanı alındı. 20 dakika kadar cam tüpte bekletilip pıhtılaşma sağlandıktan sonra 10 dakika süreyle 3000 rpm'de santrifüj edildi. Üstte kalan serum özel tüplere aktarıldı ve analiz yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda saklandı. Bireylerin serum örnekleri de AKŞ, üre, kreatinin, AST, ALT, ALP ve bilirubin tayini için ayrıldı.

TNF analizleri için I<sup>125</sup> ile işaretlenmiş İRMA kiti kullanıldı (13). Bu immunoradyometrik testde,

antikorların bulunduğu tüplere serum ilave edilmekte ve takiben radyoaktif madde ile işaretlenmiş antikör ilave edilip inkübasyondan sonra tüpler yıkanmakta ve radyoaktivite gama sayıcısında okunarak TNF düzeyi belirlenmektedir. Bu test, halen en duyarlı testlerden birisidir (13).

Sonuçla student-t testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi.

## BULGULAR

Sağlıklı kişilerde tümör nekrozis faktör düzeyleri ortalama  $5.1 \pm 2.2$  pg/ml bulundu. Alkol kullanan bireylerde tümör nekrozis faktör düzeyleri ise  $2.02 \pm 1.21$  pg/ml olarak ölçüldü. Alkol kullanan bireylerde, kontrol grubuna göre daha düşük düzeyde tümör nekrozis faktör ölçüldü. Bu fark istatistiksel olarak  $p < 0.05$  derecesinde önemli bulundu. Kontrol amacıyla çalışılan diğer sonuçlar Tablo 1'de verilmektedir. Diğer biyokimyasal parametreler normal sınırlar içinde bulundu.

Tablo 1. Kontrol ve alkol grubuna ait bulgular

Çalışılan parametreler	Birimler	Kontrol grubu $\bar{X} \pm SD$	Alkol grubu $\bar{X} \pm SD$
AKŞ	mg/dl	$90 \pm 8.1$	$82 \pm 15.65$
Üre	mg/dl	$30.2 \pm 3.2$	$27 \pm 0.6$
Kreatinin	mg/dl	$1.2 \pm 0.22$	$0.98 \pm 0.17$
SGOT (AST)	$\mu/L$	$25 \pm 3.24$	$20 \pm 7.78$
SGPT (ALT)	$\mu/L$	$13.73 \pm 2.98$	$18 \pm 7.6$
ALP	$\mu/L$	$91 \pm 19.3$	$110.3 \pm 21.1$
Total Bilirubin	mg/dl	$1.1 \pm 0.3$	$0.74 \pm 0.24$
İnd. Bilirubin	mg/dl	$0.21 \pm 0.03$	$0.21 \pm 0.08$
TNF- $\alpha$	pg/ml	$2.02 \pm 1.21$	$5.1 \pm 2.2$

## TARTIŞMA

Pekçok kişi alkolün fiziksel, psikolojik ve sosyal etkilerinin farkındadır. Alkol tüketiminin daha çok oral-özofajial kansere bağlı ölüm oranını dört kat artırdığı (14), üst solunum, sindirim (15) ve meme kanserlerinde risk faktörü olduğu gösterilmiştir (16, 17, 18). Özellikle kronik alkol alışkanlığı olanlarda, immun sistem üzerine alkolün olumsuz etkileri tesbit edilmiştir. Ancak, alkolün bu etkisinin altında yatan mekanizmalar çok az bilinmektedir (19).

Alkol kemik iliğinde nötrofil stem hücrelerinin yapımını, periferde ise endotel duvarına adheransı ve kemotaksisi azalmaktadır. Ayrıca T ve NK hücrelerinin azalması hücresel bağışıklığın zayıflamasına ve MES'in fagositik yeteneğinin, serumun bakterisidal aktivitesinin ve C<sub>3</sub> komponentinin azalmasına neden olmaktadır. Buna karşılık, alkolik karaciğer hastalığında B lenfositlerin spontan artışına bağlı olarak maksatsız Ig sentezi, özellikle Ig A, Ig G ve Ig E artmakta, böylece hipergammaglobulinemi ve önemli oranda otoantikör

tesbit edilmektedir(20). TNF'nin alkolik hepatit, kronik B hepatit, fulminan hepatit, primer biliyer siroz ve hepatosellüler karsinom gibi karaciğer hastalıkları ile ilişkisi olduğu iddia edilmiş, tedavi edici olarak kronik B hepatit ve hepatosellüler karsinomada kullanımından söz edilmiştir (21).

Deacine ve ark. (19), alkolün sitokinlerin nörofillere bağlanmasını azaltarak, hücre fonksiyonları üzerine etkisini bozduğu ve böylece konak savunmasına zarar verdiğini savunmuşlardır. Bermudez ve ark. (22), etanolün makrofajlardaki süperoksit anyonunu ve sitokinlerin sentezinin bozduğunu, TNF membran reseptörlerinin azalttığını tesbit etmişlerdir. Böylece, etanolün makrofaj fonksiyonlarını inhibe ederek infeksiyon hastalıklarına duyarlılığı artırdığını ileri sürmüşlerdir. Başka bir çalışmada Felver ve ark (23), hastanede yatan ağır alkolik hepatitli hastalarda plazma TNF- $\alpha$  seviyesi ölçülebilir seviyede olanların % 82'si

ölürken, ölçülemez seviyede olanların % 100'ünün öldüğünü tesbit etmişler ve istatistiksel olarak anlamlı olan ( $p < 0.0022$ ) bu farka göre plazma TNF- $\alpha$  seviyesinin ağır alkolik hepatitlilerde yaşam süresi için önemli bir prediktör olduğunu iddia etmişlerdi.

Bizim bulgularımızda 5 ile 30 yıldır önemli miktarda (yaklaşık 250 ml/gün) alkol tüketen bireylerde TNF- $\alpha$ 'nın serum seviyeleri ( $2.02 \pm 1.21$  pg/ml) kontrol grubuna göre ( $5.1 \pm 2.2$  pg/ml) istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde ( $p < 0.05$ ) düşük olduğu tesbit edilmiştir. Bunu nedeni, özellikle TNF üreten T lenfositler ve NK hücrelerin alkoliklerde azalmasına, makrofajların sitokin salgılamalarının bozulmasına, yüzeylerindeki TNF reseptörlerin ekspresyonunun azalmasına bağlı olabilir. Ayrıca bir sitokin olarak TNF- $\alpha$  pek çok immun mediatörden de etkilenebilir. Sonuç olarak alkolün aynı zamanda bir immün süpressif ajan gibi etkili olduğu ve serum TNF- $\alpha$  seviyesini azalttığı kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Carswell EA, Old LJ, Kassel R. An endotoxin induced serum factor that causes necrosis of tumor. Proc Natl Acad Sci USA 1975; 72: 3666-70.
2. Beutler B, Cerrami A. Cachectin: More than just a tumour necrosis factor. N Engl J Med 1987; 316: 379-85.
3. Beutler B, Cerami A. Cachectin and tumour necrosis factor as two sides of the same biological coin. Nature 1986; 320: 584-8.
4. Spies T, Morton CC, Nedospasov SA, Fiers W, Pious D, Strominger JL. Genes for the tumour necrosis factor alpha and beta are linked to the major histocompatibility complex. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83: 8699-702.
5. Gardner SM, Mock BA, Hilgers J, Huppi KE, Roeder WD. Mouse lymphotoxin tumour necrosis factor: structural analysis of the cloned genes, physical linkage, and chromosomal position. J Immunol 1987; 139: 476-83.
6. Smith RA, Baglioni C. The active form of tumour necrosis factor is a trimer. J Biol Chem 1987; 262:6951-4.
7. Cuturi MC, Murphy M, Costa-Gioni MP, Weinmann R, Perussia P, Trinchieri G. Independent regulation of tumour necrosis factor and lymphotoxin production by human peripheral blood lymphocytes. J Exp Med 1987; 165: 1581-94.
8. Degliantoni G, Murphy M, Kobayashi M, Francis MK, Perussia P, Trinchieri B. Natural Killer (NK) derived hematopoietic colony-inhibiting activity and NK cytotoxic factor: relationship with tumour necrosis factor and synergy with immune interferon. J Exp Med 1985; 162: 1512-30.
9. Williamson BD, Carswell EA, Rubin BY, Prendergrast JS, Old LJ. Human tumour necrosis factor produced by human B cell lines : synergistic cytotoxic interaction with human interferon. Proc Natl Acad Sci USA 1983; 80: 5379-401.
10. Michie HR, Monogue KR, Springs DR. Octection of circulating tumour necrosis factor after endotoxin administration. N Engl J Med 1988; 318:1481-6.
11. Beutler B, Milsark IW, Cerami A. Cachectin/tumour necrosis factor: production, distribution and metabolic fate in vivo. J Immunol 1985; 135: 3972-7.
12. Michalek SM, Moore RN, Mc Ghee JR, Rosentrich DC, mersinghagen SE. The primary role of lymphoreticular cells in the mediation of host responses to bacterial endotoxin. J Infect Dis 1980;141:56-63.
13. Meager A, Parti S, Leung H, Peil E, Mahon B. Preparation and characterization of monoclonal antibodies directed against antigenic determinants of recombinant human tumour necrosis factor (rTNF). Hybridoma 1987;6:305.
14. Klatsky AL, Friedman GD, Siegelau AB Alcohol and mortality. A ten year Kaiser permanente experience. Ann Intern Med 1981;95:139-45.
15. Kono S, Ikeda M, Tokudome S. Alcohol and mortality: a cohort study of male Japanese physicians. Int J Epidemiol 1986;15:527-32.
16. Harris RE, Wynder EL. Breast cancer and alcohol consumption. JAMA 1988;259:2867-71.
17. Miller RD, Rosenberg L, Clarke AE. Breast cancer risk and alcoholic beverage drinking. Am J Epidemiol 1987;126:736.
18. Rohan TE, McMichael AJ. Alcohol consumption and the risk of breast cancer. Br J Cancer 1988;41:695-9.
19. Deacine IV, D'Souza NB, Bagby GJ, Lang CH, Spitzer JJ. Effect of acute alcohol administration on TNF- $\alpha$  binding to neutrophils and isolated liver plasma membranes. Alcohol Clin Exp Res 1992;16 (3):533-8.
20. Kılıçturgay K. İmmünolojiye giriş. Bursa: Güneş Kitabevi, 1991;141-2.
21. Aderka D, Levo Y. Does tumour necrosis factor play a role in the pathogenesis of fulminant hepatitis? Med Hypotheses 1988;27:193-6.
22. Bermudez LE, Wu M, Martinelli J, Young LS. Ethanol affects release of TNF and GM-CSF and membrane expression of TNF receptors by human macrophages. Lymphokine-Cytokine Res 1991;10(5): 413-9.
23. Felver ME, Mezey E, McGuire M, Mitchell MC, Herlong HF, Veech GA, et al. Plasma tumour necrosis factor alpha predicts decreased long-term survival in severe alcoholic hepatitis. Alcohol Clin Exp Res 1990; 14 (2): 255-9.