

## RATLARDA DİYET YAĞ CİNSİNİN REKOMBİNANT TÜMÖR NEKRÖZ EDİCİ FAKTÖRÜN OLUŞTURDUĞU METABOLİK YANITA ETKİLERİ: DEĞİŞİK ORGANLARDA PROTEİN SENTEZİ

H.Tanju BESLER\*

Bakteriyal endotoksinlerin ve sitokinlerin genel anlamıyla karaciğerde protein sentez hızını arttırırken, kas ve deride protein katabolizmasını hızlandırdığı bilinmektedir. Bir çalışmada Wistar ratlarda diyet yağ cinsinin, r-TNF- $\alpha$  verilmesi ile değişik dokulardaki protein sentez hızına olan etkilerine bakılmıştır. Mısır yağı alan grupta protein sentez hızı; karaciğer, akciğer ve böbrekte sırası ile %38.5, 54.7 ve 55.5 artarken, balık yağı alan grupta r-TNF- $\alpha$ 'nın bu etkisi gözlenmemiştir. Tibialis protein sentez hızında her iki grupta da bir değişiklik görülmemiştir.

### GİRİŞ

Tümör nekroz edici faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) polipeptid yapıya sahip bir sitokin olup; bakteri, virüs veya parazitlerin neden olduğu enfeksiyonlarda, enflamatuvar hastalıklarda ve immünolojik reaksiyonlarda özellikle makrofajlar tarafından sentezlenmektedir (1,2). TNF- $\alpha$  diğer sitokinler gibi (interlöykin-1 (IL-1), interlöykin-6 (IL-6), vb) organizmada protein metabolizmasını değiştirici etkiye sahiptir (3). Örneğin, kaslarda protein yıkımı artarken, sentez hızı azalmaktadır (4,5). Kaslardan yıkım sonu dolaşıma geçen amino asitler, değişik amaçlarla kullanılmaktadır. Bunların en başında karaciğerde artan protein sentezinin devamlılığı (patolojik durumlarda görülen akut metabolik yanıtın bir parçası olarak), immün sis-

---

\* Department of Human Nutrition, University of Southampton, Medical School, Southampton 509 3TU, U.K.

tem hücrelerinin proliferasyonu ve onların devamlılığı için kullanılmaktadır (1,6). Ayrıca TNF'in yukarıda bahsedilen patolojik durumlarda görülebilen şok, anoreksiya (çok genel anlamıyla besin alımındaki azalmayla seyreden tablo) ve vücut yağlı ve yağsız doku kaybı durumlarından da sorumlu olabileceği görüşü mevcuttur (7-9).

DeneySEL ve klinik çalışmalarda diyet yağının, romatoid artirit, psöriyazis, Crohn's hastalığı, ülseratif kolit gibi enflamatuvar hastalıkların şiddet ve seyrini etkilediği gösterilmiştir (10,11). Bu hastalıkların etiolojisinde sitokinlerin değişik basamaklarda etkisinin olduğu bilinmektedir (11,12). Bununla birlikte diyet yağının hem kalite hemde kantite olarak sitokinlerin organizmadaki sentez ve fonksiyonları üzerine etkilerini araştıran çalışma yok denecek kadar azdır. Balık yağı ile beslenen sağlıklı insanlardan lipopolisakkarit (LPL) uyarımı sonucu elde edilen periferik mononükleer hücrelerden sentezlenen TNF miktarının mısır yağı ile beslenenlere oranla daha az olduğu gösterilmiştir (13). Endres ve arkadaşları (14); normal, yetişkin ve gönüllü bireylerin diyetlerine 6 hafta süresince balık yağı (15 g eikozapentanoik asit) eklenmesi sonucu LPL ile uyarılmış monositlerden salınan IL-1- $\alpha$  ve - $\beta$  ve TNF- $\alpha$  ve - $\beta$ 'nin yaklaşık olarak %30 oranında azaldığını göstermişlerdir. Bireyler 6 hafta sonra normal diyetlerine dönmelerine rağmen bu etki 10 hafta daha sürmüştür. Bibby ve Grimble (15,16) Hindistan cevizi yağı ile beslenen ratlarda mısır yağı ile beslenen ratlara göre TNF- $\alpha$ 'nın hipotermik etkisinin daha az olduğunu ve bunun nedeni olarak ise hipotalamustan salınan prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) düzeyinin düşük olmasını göstermişlerdir. Bilindiği gibi PGE<sub>2</sub> düzeyinin 10<sup>-9</sup> M dan daha fazla olması, immün sistemi olumsuz yönde etkilemektedir (17).

Yukarıda açıklanmaya çalışıldığı gibi enfeksiyon, enflamatuvar hastalıklar ve immunolojik reaksiyonlar gibi durumlarda protein metabolizmasındaki gerek yapısal gerekse işlevsel olarak görülen değişiklikler, organizmanın bu durumlara karşı geliştirdiği metabolik yanıtın önemli bir parçasıdır. Bundan dolayı bu çalışmada mısır yağı ve balık yağı ile 6 hafta süresince beslenen ratlarda TNF- $\alpha$  verilmesinin, değişik organlardaki protein sentez hızına olan etkileri araştırılmıştır.

## ARAŞTIRMA YÖNTEMİ VE ARAÇLARI

Sütten yeni kesilmiş 60 adet erkek Wistar rat ( $57\pm 2$  g) 6 hafta boyunca Tablo 1'de gösterilen, özel olarak hazırlanmış diyetlerle beslenmişlerdir.

**Tablo 1: Çalışmada Kullanılan Diyetlerin Bileşimi**

| İçindekiler<br>Diyet türü | Bileşimleri (g/kg) |            |
|---------------------------|--------------------|------------|
|                           | Mısır Yağı         | Balık Yağı |
| Kazein                    | 180.0              | 180.0      |
| Metionin                  | 3.0                | 3.0        |
| Mısır nişastası           | 283.5              | 283.5      |
| Sukroz                    | 283.5              | 283.5      |
| Mısır yağı                | 100.0              | 10.0       |
| Balık yağı                | -                  | 90.0       |
| Vitamin-Mineral karışımı* | 50.0               | 50.0       |
| $\alpha$ -tokoferol       | 0.08               | 0.0        |
| Sellüloz                  | 100.0              | 100.0      |

\* Pre-miks; vitamin E içermemektedir.

Diyetlerin hazırlanması esnasında Amerikan Beslenme Enstitüsünün (AIN) tüm uyarılarına dikkat edilmiştir (18). Diyetler total olarak kg başına 100 g yağ (%10) içermektedir. Çalışmada kullanılan balık yağı (BY), Max EPA Seven Seas Health Care firmasından, mısır yağı (MY) ise Mazola/CPC firmasından sağlanmıştır. Çalışma boyunca komplikasyon olarak gelişmesi istenmeyen, elzem yağ asit yetersizliğini önlemek için balık yağı diyetlerine 10 g/kg MY (%1) total yağ içerisine eklenmiştir. Balık yağı preparatları 1 mg  $\alpha$ -tokoferol/g içermesinden dolayı, diyetler hazırlanırken E vitamini içermeyen Vitamin-mineral karışımı kullanılmış, daha sonra karışıma  $\alpha$ -tokoferol formunda E vitamini (Sigma) alkol ile muamele geçirdikten sonra diyetlere eklenmiştir. Böylece diyetlerin E vitamini içeriklerinin aynı olması sağlanmıştır. Hazırlanan diyetler lipid peroksidasyonundan korunmak için nitrojen altında  $-20^{\circ}\text{C}$  plastik koruyucularda saklanmış ve her iki haftada bir yeni diyetler hazırlanmıştır.



Tablo 2 de diyetlerin yağ asit bileşimi besin bileşim cetveli kullanılarak hesaplanmış (19) ve metilasyon işlemini takiben gaz kromatografisi ile analiz edilmiş (20) yağ asit miktarları görülmektedir.

**Tablo 2: Diyetlerin Yağ Asit Bileşimi**

| Yağ Asidi     | Diyette Yer Alan Yağ Asidi (g/kg) |            |            |            |
|---------------|-----------------------------------|------------|------------|------------|
|               | Hesaplama                         |            | Analiz     |            |
| Diyet Türü    | Mısır yağı                        | Balık yağı | Mısır yağı | Balık yağı |
| C (12:0)      | 0.0                               | 0.0        | 0.0        | 0.0        |
| C (14:0)      | 0.6                               | 6.4        | 0.7        | 6.8        |
| C (16:0)      | 13.4                              | 17.1       | 13.8       | 17.6       |
| C (18:0)      | 2.2                               | 4.0        | 2.4        | 4.0        |
| C (16:1, n-7) | 0.3                               | 8.9        | 0.2        | 9.1        |
| C (18:1, n-9) | 28.7                              | 13.5       | 28.4       | 13.8       |
| C (18:2, n-6) | 47.8                              | 8.6        | 48.1       | 8.5        |
| C (18:3, n-3) | 1.5                               | 0.2        | 1.4        | 0.1        |
| C (20:4, n-6) | 0.0                               | 1.4        | 0.0        | 1.6        |
| C (20:5, n-3) | 0.0                               | 16.4       | 0.0        | 16.8       |
| C (22:6, n-3) | 0.0                               | 11.5       | 0.0        | 11.6       |

Bu tablodan da görüleceği gibi gerek besin bileşimi kullanılarak gerekse analiz sonucunda elde edilen yağ asit miktarları birbirlerine çok benzerdir. Bu da çalışmalarda ülkenin besinlerine uygun olarak hazırlanmış besin bileşim cetvellerinin kullanılmasının doğru sonuçlar verebileceğini göstermektedir.

Çalışma başlangıcında tüm ratlar, 5 gün süresince çalışma koşullarında (12/12 saat: aydınlık/karanlık;  $23\pm 1$  °C oda sıcaklığında) alışma süresi geçirmişler ve bu süre içerisinde standart rat diyeti (Special Diet Services) yemişlerdir. Alışma süresinin hemen arkasından 60 rat random olarak ikiye ayrılmış ve böylece balık yağı (n= 30) ve mısır yağı (n=30) grupları oluşturulmuştur. 6 haftalık çalışma periyodunda ratlar yem ve sudan serbestçe yararlandırılmıştır (ad lib). Çalışma süresince ratların günlük

tükettikleri besin miktarı ve vücut ağırlıkları kaydedilmiş ve her gün bir önceki günden arta kalan besin atılarak yenisi verilmiştir. Bu süreyi takiben gruplar tekrar kendi içlerinde random olarak ikiye ayrılarak, gruplar içi kontrol ve çalışma alt grupları oluşturulmuştur. Her alt grup 15 rat içerirken, teks boyunca Balık Yağı çalışma ve kontrol grupları için BYÇ ve BYK, Mısır Yağı Çalışma ve Mısır Yağı Kontrol grupları içinde MYÇ ve MYK kısaltmalar kullanılmıştır. MYÇ ve BYÇ grupları 6 hafta sonunda intraperitoniyal yolla r-TNF- $\alpha$  (100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) verilmiştir. Kullanılan r-TNF- $\alpha$ 'nın endotoksin içeriği 0.0027 ng/mg proteinden azdır (BASF/ Knoll AG Ludwigshafen, Almanya). r-TNF- $\alpha$  verilmesini takiben 24 saat sonra MYÇ ve BYÇ gruplarında yer alan ratlar "ensenin vücuttan ayrılma" metoduyla öldürülmüşlerdir. r-TNF- $\alpha$  verilmesini takiben 24 saatlik dilim içerisinde tüm gruplar ad lib. olarak beslenmeye devam edilmiştir. MYÇ ve BYÇ gruplarının öldürülmesinin hemen ardından MYK ve BYK gruplarına steril, non-pirojenik serum fizyolojik (150 mmol/L NaCl) verilmiş ve kendi çalışma gruplarının pair-fed'i olacak şekilde (çalışma gruplarında karşılığı olarak yer alan hayvanların yedikleri besin miktarı kadar besin verilmesi) 24 saat boyunca tutulmuşlardır. Böylece çalışma ve kontrol gruplarının besin tüketimleri eşlenerek, besin alım farklılığından kaynaklanacak değişiklikler önlenmeye çalışılmış ve görülecek yanıtın tamamen TNF- $\alpha$ 'dan kaynaklanmasına çalışılmıştır.

Hayvanların öldürülmesinin hemen arkasından hayvanların organları; karaciğer, akciğer, böbrek ve tibial kasları çıkarılmış ve sıvı azot gazı altında dondurulmuş ve analizlere kadar -78°C saklanmıştır.

Organların protein sentez hızları Jepson ve arkadaşlarının geliştirdiği Garlick metoduyla bakılmıştır (21,22). Bu yöntem gereği ratlar, öldürülmeden 15 dakika önce radyoizotopik L-[4-<sup>3</sup>H]-fenilalanin (50  $\mu\text{Ci}/100\text{ g}$ ) intraperitoniyal olarak verilmiştir. Radyoaktivite ölçümleri LKB1219 sayacında yapılmıştır. Organ total protein miktarlarına Smith ve arkadaşlarının metoduyla bakılmıştır(23).

Bütün sonuçlar aritmetik ortalama olarak verilmiş ve gruplar arası farkın istatistik değerlendirmesinde iki-yönlü varyans ve t-testi kullanılmıştır.

## BULGULAR

### Besin Alımı, Büyüme ve Doku Ağırlıkları

Her iki grupta çalışma süresinin sonunda normal beklenen büyümeyi göstermişler ve gruplar arası vücut ağırlığı açısından bir fark gözlenmemiştir.

**Tablo 3: r-TNF- $\alpha$ 'nın Besin Alımı, Büyüme ve Organ Ağırlıklarına Olan Etkileri**

| Diyet Türü<br>Sub Gruplar        | Mısır Yağı |                    | Balık Yağı |       |
|----------------------------------|------------|--------------------|------------|-------|
|                                  | MYK        | MYÇ                | BYK        | BYÇ   |
| Başlangıç vücut ağırlığı (g)     | 59.5       | 59.0               | 60.5       | 59.0  |
| Son vücut ağırlığı (g)*          | 361.0      | 373.0              | 365.0      | 364.0 |
| Vücut ağırlığı değişikliği (g)** | -9.0       | -17.5 <sup>a</sup> | -4.0       | -5.0  |
| r-TNF'den sonra besin            |            |                    |            |       |
| Alımındaki azalma (%)***         | -          | 74.0               | -          | 22.0  |
| Karaciğer ağırlığı (g)           | 10.9       | 13.1 <sup>a</sup>  | 12.1       | 12.7  |
| Akciğer ağırlığı (g)             | 1.85       | 2.35 <sup>a</sup>  | 1.48       | 1.64  |
| Böbrek ağırlığı (g)              | 2.02       | 2.60 <sup>a</sup>  | 2.24       | 2.37  |
| Tibialis ağırlığı (g)            | 0.79       | 0.83               | 0.82       | 0.83  |

\* Son vücut ağırlığı r-TNF- $\alpha$  veya Serum fizyolojik verilmeden hemen önce alınmıştır.

\*\* r-TNF- $\alpha$  veya Serum fizyolojik verilmesinden sonraki 24. saatteki alınan vücut ağırlığına göre hesaplanmıştır.

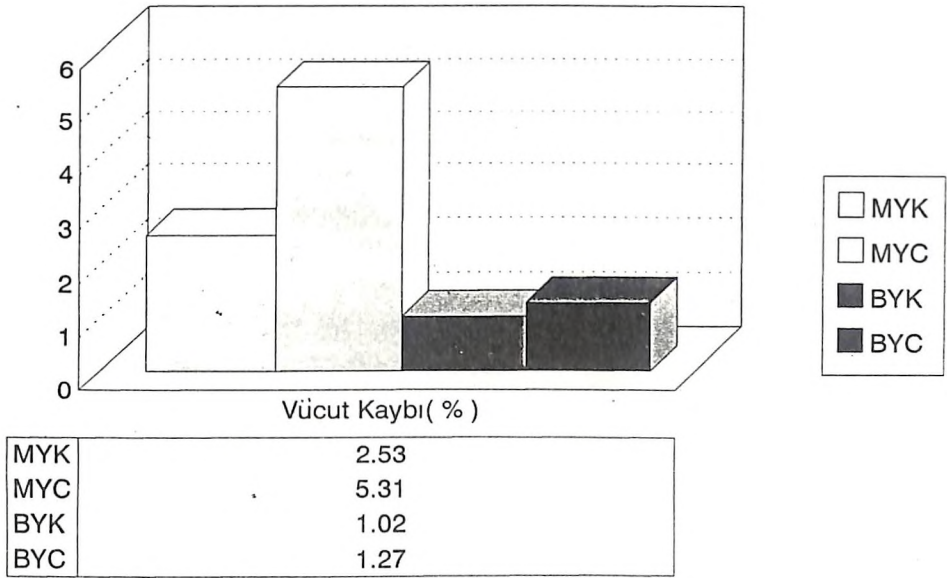
\*\*\* r-TNF- $\alpha$  verilmesinden önceki tüketilen besin alım miktarına göre hesaplanmıştır.

a  $p < 0.05$ ; kendi kontrol gruplarına göre

Ancak Tablo 3'den de görüleceği gibi r-TNF- $\alpha$  verilmesini takiben çalışma gruplarının her ikisinde de vücut ağırlığında ve besin alımında azalma görülmüştür. MYÇ grubundaki bu değişiklikler kontrol grubu, MYK'ya göre istatistik olarak farklı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). r-TNF- $\alpha$  verilmesinden sonra organ ağırlıklarında artış görülmüş, MYÇ ve MYK grupları karşılaştırıldıklarında karaciğer, akciğer ve böbrek ağırlıklarındaki



bu artışlar farklı bulunurken ( $p < 0.05$ ), balık yağı gruplarında artış görülmele beraber, istatistiksel açıdan farklı ( $p > 0.05$ ) olmamıştır. r-TNF- $\alpha$ 'nın her iki grupta da tibialis kasına etkisi olmamıştır. Şekil 1'de r-TNF- $\alpha$  verilmesine takiben gruplarda görülen vücut kaybı oranları gösterilmiştir.



Sekil 1: r-TNF Verilmesinden Sonra Gruplarda Vücut Kaybı Oranları(%)

### Organ Protein Konsantrasyonu ve Total İçerikleri

TNF- $\alpha$  verilmesini takiben MYC grubunun karaciğer, akciğer, böbrek protein konsantrasyonu ve total protein içeriği MYK'ya göre artarken ( $p < 0.05$ ), tibialis de bir fark görülmemiştir. Tablo 4'den görüleceği gibi balık yağı gruplarında bir fark ( $p > 0.05$ ) tespit edilmemiştir.

**Tablo 4: r-TNF- $\alpha$ 'nın Organ Protein Konsantrasyonu ve Total Protein İçeriğine Etkileri**

| Diyet Türü<br>Sub Gruplar                        | Mısır Yağı |        | Balık Yağı |       |
|--------------------------------------------------|------------|--------|------------|-------|
|                                                  | MYK        | MYÇ    | BYK        | BYÇ   |
| Karaciğer protein konsantrasyonu<br>(mg/g)       | 162        | 199*   | 155        | 158   |
| Karaciğer total protein içeriği<br>(g/karaciğer) | 1.79       | 2.54*  | 1.92       | 2.02  |
| Akciğer protein konsantrasyonu<br>(mg/g)         | 104        | 127*   | 107        | 112   |
| Akciğer total protein içeriği<br>(g/akciğer)     | 0.201      | 0.278* | 0.198      | 0.190 |
| Böbrek protein konsantrasyonu<br>(mg/kg)         | 158        | 176*   | 162        | 159   |
| Böbrek total protein içeriği<br>(g/böbrek)       | 0.321      | 0.427* | 0.347      | 0.370 |
| Tibialis protein konsantrasyonu<br>(mg/g)        | 95         | 104    | 103        | 109   |
| Tibialis total protein içeriği<br>(g/tibialis)   | 0.073      | 0.079  | 0.079      | 0.081 |

\* p<0.05; kendi kontrol gruplarına göre

### Organ Protein Sentez Hızı

Tablo 5'de görülen protein sentez hızları, fraksiyonel protein sentez hızı (FPSH olarak kısaltılmış) ve gün boyunca görülen değişikliğin yüzde olarak hesaplanmasıyla bulunmuştur.

TNF- $\alpha$  mısır yağı grubunda tibialis haricinde tüm organlarda FPSH'nı arttırmıştır. Balık yağı gruplarında değişiklikler görülmekle beraber, istatistiksel anlamda olmamıştır.



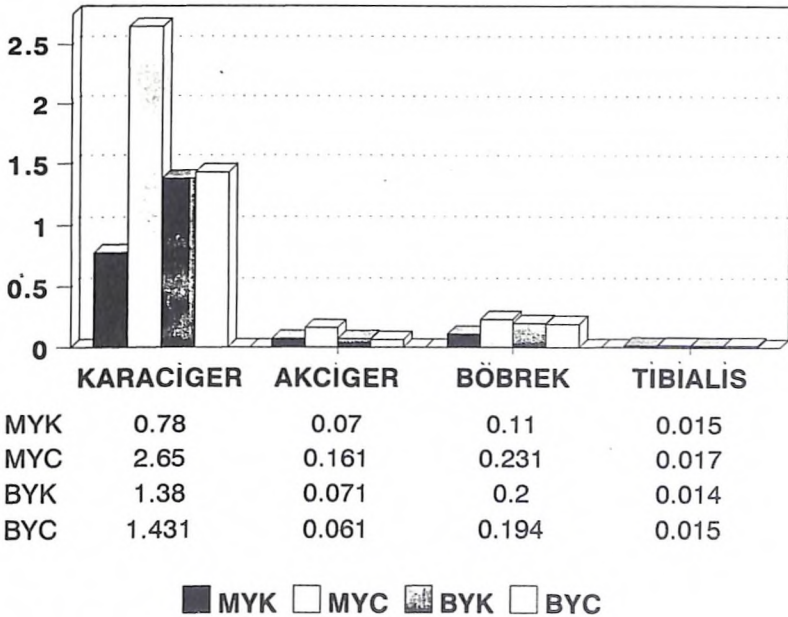
Tablo 5: r-TNF- $\alpha$ 'nın Organ FPSH na Olan Etkileri<sup>a</sup>

| Diyet Türü<br>Sub Gruplar | Mısır Yağı |      | Balık Yağı |     |
|---------------------------|------------|------|------------|-----|
|                           | MYK        | MYÇ  | BYK        | BYÇ |
| Karaciğer                 | 43         | 112* | 69         | 78  |
| Akciğer                   | 34         | 62*  | 39         | 32  |
| Böbrek                    | 31         | 56*  | 59         | 51  |
| Tibialis                  | 17         | 23   | 18         | 19  |

a FPSH, %/gün olarak belirtilmiştir.

\* p<0.05; kendi kontrol gruplarına göre

Elde edilen bu sonuçları kullanarak (organ total protein içerikleri ve FPSH), 24 saat boyunca organda sentezlenen protein miktarını yaklaşık olarak hesaplamak mümkün olacaktır. Buradan yola çıkılarak hesaplanan değerler Şekil 2'de gösterilmiştir. Ancak burada belirtilmesi gereken önemli not, analiz esnasında elde edilen FPSH'nın gün boyunca sabit olduğu kabul edilmektedir.



Şekil 2: Organlarda sentezlenen protein miktarı(g/gün)

## TARTIŞMA

TNF- $\alpha$ 'nın karaciğer, akciğer, dalak, böbrek ve kaslar üzerine çok değişik etkileri mevcuttur ve karaciğere olan etkisi en iyi bilinenidir. TNF- $\alpha$ 'nın karaciğerde bu etkilerini iki ana başlık altında; direk ve indirek olarak toplamak mümkündür (3,15,24,25). Direk etkilerinin başında karaciğerde akut metabolik yanıtın şemsiyesi altında kalan fibrinojen, seruloplazmin, C-reaktif protein,  $\alpha$ -2 makroglobulin, orosomukoid gibi akut faz proteinlerinin sentezini uyardığı bilinmektedir (25). İndirek olarak ise organizmada diğer sitokinlerin (IL-1, IL-6 gibi) ve dolaşımdaki glukokortikoid, glukagon ve katekolamin gibi hormonların düzeylerini değiştirerek yaptığı düşünülmektedir (10,11). Bilindiği gibi bahsedilen bu hormonların dolaşımdaki düzeylerinin yükselmesi karaciğerde protein sentezini arttırıcı önemli faktörlerdendir (26). Yine dolaşımdaki glukokortikoid ve glukagon düzeylerinin artması karaciğer hücrelerinin çinko alım düzeyini yükseltebilmektedir (10,11). Karaciğer hücreleri tarafından özellikle dolaşımdan çekilen çinko, karaciğerde artan metalotiyonin (akut faz proteini) sentezi için kullanılmaktadır (10,11). TNF- $\alpha$ , IL-1 IL-6 karaciğer üzerinde benzer etkiler göstermekle beraber özellikle IL-6, karaciğerde akut metabolik yanıt çatısı altında kalan olaylardan daha fazla sorumlu olduğu gösterilmiştir (10). In vivo koşullarda TNF- $\alpha$ 'nın IL-1 ve IL-6 düzeylerini yükselttiği gösterilmiştir (11). Dolayısıyla TNF- $\alpha$  verilmesi sonucu akut metabolik yanıt gibi IL-1 ve/veya IL-6'in neden olduğu olayların görülmesi şaşırtıcı olmayacaktır.

TNF- $\alpha$ 'nın yüksek dozlarının çok açık olarak akciğerleri tahrip edici özelliğinin olduğu gösterilmiştir (27). İnsan çalışmalarında; sepsisli solunum yetmezliği sendromlarında TNF- $\alpha$  sentezinin yükseldiği gösterilmiştir (25). Bununla birlikte TNF- $\alpha$ 'nın akciğerleri üzerine etkisi henüz açık ve kesin değildir. Yapılan çalışmalarda TNF- $\alpha$ 'nın özellikle akciğerlerde fibroblastlarda glikoaminoglikon gibi moleküllerin biyosentezini arttırdığı rapor edilmiştir (29). Ratlarda makrofajlardan elde edilen TNF- $\alpha$ 'nın yine ratlara verilmesi ile total kollojen sentezi etkilenmezken (30), insan akciğer fibroblastlarının TNF- $\alpha$  ile kültürü sonucunda Tip= 3 kollojen sentezi üçkez artmıştır.

Bu çalışmada akciğer FPSH'ında; balık yağına göre mısır yağı grubunda görülen artışın nedenleri açık değildir. Ayrıca çalışmada akciğerler-

den elde edilen kesitlerin histolojik olarak incelenmesi sonucunda; immün hücrelerin infiltrasyonu veya hücre dışı sıvılardan akciğerlere plazma proteinlerinin kaçışı gibi olgulara da rastlanmamıştır. Ancak bu etki TNF- $\alpha$  verilmesinden 24 saatten sonraki bir zaman diliminde oluşabileceği gözardı edilmemelidir. Eğer böyle birşey sözkonusu ise; bu çalışmada böyle bir sonucun görülmemesi normal kabul edilebilecektir. Ayrıca mısır yağı grubunda protein sentez hızındaki bu artış, akciğerlerde bulunan protein yapısındaki moleküllerin yapısal ve miktarsal değişikliklerine bağlı olarak kronik enflamasyon durumunun gelişmekte olduğunun da bir göstergesi olabilecektir. Bununla birlikte bu noktada çalışmalara ihtiyaç vardır.

TNF- $\alpha$  karaciğerde metallothiyonin-1 içeriğini arttırırken böbreklerde azaltmaktadır (31). TNF- $\alpha$  yerine enflamasyon uyararı olarak dekstran sülfat, türpentin ve canlı *Salmonella typhimurium* verilen, mısır yağı ile beslenen ratlarda benzer sonuçlar elde edilmiştir (32,33). Dolayısıyla plazmadan böbreklere geçen çinko, yine metallothiyonin sentezi için kullanılmaktadır. Bu çalışmada mısır yağı grubunda böbreklerde artan protein sentez hızı yine böbreklerde metallothiyonin sentezinin bir göstergesi olabilir. Bunun yanında böbreklerde yapısal proteinlerin incelenmesi ve histolojik değişiklikler yine bu etkinin açıklanmasına yardımcı olabilecektir.

Bu çalışmada TNF- $\alpha$  verilmesi tibialisde protein sentez hızını etkilememiştir. Bununla birlikte genç ratlarda TNF- $\alpha$ 'nın kas ve deride FPSH'nı azalttığı rapor edilmiştir (5). Bunun tersi olarak farelerde bu etki görülmemiştir (34). Bu farklılıkların nedeni henüz açık değildir. Ancak çalışmalarda kullanılan deney hayvanlarının yaşı, cinsi ve TNF- $\alpha$ 'nın dozu bu farklılıkların nedenleri olabilir. Teorik olarak; TNF- $\alpha$  verilmesi sonucu özellikle kasta görülen FPSH'ındaki azalma, karaciğerde oluşan akut metabolik yanıtın altında görülen akut faz proteinlerinin sentezi için gerekli olan amino asitlerin sağlandığı bir kaynak olması nedeniyle görüldüğü bilinmektedir (4,5,17).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlardan da görüleceği gibi r-TNF- $\alpha$ 'nın FPSH ve diğer parametrelere olan etkisi, değişik yağ asit içeriğine sahip mısır ve balık yağı gruplarında farklı olmuştur. Bunun altında yatan mekanizma nedir? Bilindiği gibi sitokinlerin organizmada olan etkileri, eikozanoidler (prostaglandin (PG), lökotrien (LT) ve vb) tarafından etkilene-



bilmektedir (35). Bunun yanında eikozanoid metabolizması da diyet yağları tarafından değiştirilebilmektedir (10,11,17,36,37). Dolayısıyla diyet yağları ile sitokinler arasında doğal bir ilişki söz konusudur.

Bu çalışmada kullanılan mısır yağı n-6 yağ asitlerinden özellikle de linoleik asit (18:2 n-6) yönünden, balık yağı da n-3 yağ asitlerinden; eikozapentanoik asit (20:5 n-3) ve dekozohekzanoik asit (22:6 n-3) yönünden zengindir. n-3 ve n-6 yağ asitleri arasında organizmada desaturasyon ve elangasyon basamaklarında ve membran fosfolipidlerine yerleşmelerinde sürekli bir yarış söz konusudur (17,37,38). Bundan dolayı diyetle alınan yağ cinsinin değiştirilmesi (yağ asidi cinsinin değişmesine neden olacaktır) var olan bu yarış etkileyebilecektir. Şöyleki diyetle mısır yağı yerine balık yağının alınması, başka bir deyişle linoleik asit (n-6) yerine daha fazla eikozapentanoik ve dekozahekzanoik asit (n-3) lerin alınması, eikozanoidlerden PG ve LT'lerin sırası ile 2 ve 5 serileri yerine 3 ve 5 serilerinin oluşmasına neden olacaktır (17,37). Bilindiği üzere 2 serisi PG (PGE<sub>2</sub>, vb) ve 4 serisi LT (LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, vb)'ler 3 serisi PG (PGE<sub>3</sub> vb) ve 5 serisi LT (LTB<sub>5</sub>, vb)'lere göre enflamasyon şiddet ve sürecini daha arttırıcı özelliğe sahiptir (10,11,17,36,37). Yapılan çalışmalarda bu çalışmaya benzer olarak balık yağı ve linoleik asit içeriği az olan diğer iki yağ ile beslenen hayvanlara verilen TNF- $\alpha$ 'nın iştah azaltıcı etkisi önlenmiş ve hipotalamustan salınan PGE<sub>2</sub> düzeyi mısır yağı grubuna göre daha az bulunmuştur (16). TNF- $\alpha$ 'nın indirek etkisi olarak görülen; dolaşımdaki glukagon, glukokortikoid ve katekolamin düzeylerinin yükselmesi eikozanoid metabolizması tarafından etkilenebilmektedir (10). E. coli endotoksini verilen ratlarda kortikosteron düzeyindeki artış, "Siklooksijenaz inhibitörü indimotesani ve lipokijenaz (inhibitörü, AA861) tarafından baskılanabilmektedir (39). Buna benzer bir çalışmada IL-1 verilen farelerde kortikosteron düzeyindeki yükselme indometasin verilmesi ile inhibe edilmiştir (40). Özet olarak organizmada sitokinlerin etkileri, eikozanoid biyosentezi sonucunda oluşan ürünlerin cinsine bağlı olarak değişebilmesi mümkün görülmektedir (36-38). Ancak bu çalışmaların karşıtı olarak siklooksijenaz inhibitörü kullanılan çalışmalarda, yukarıda bahsedilen hormon düzeylerinin azalmasına rağmen karaciğerde protein sentezi ve çinko içeriği in vivo koşullarda artmıştır (41,42). Bu iki çalışmaya bağlı olarak organizmada sitokinlerin etkileri eikozanoidlerden bağımsız olarak olduğu söylenebilir. Ancak bununla birlikte bu iki çalışmada lipok-

sijenaz ürünlerine yani LT'lere bakılmamıştır. Bu konu, üstünde titizlikle ve derinlemesine in vivo ve in vitro olarak çalışılması gerekmektedir.

Bu çalışma sonuçlarına göre r-TNF- $\alpha$ 'nın değişik organlarda FPSH ve diğer parametrelere olan etkileri değişik yağ asidi içeriğine sahip mısır ve balık yağı tarafından etkilendiği açıktır. Balık yağı grubunda organlarda FPSH değişmezken, mısır yağı grubunda karaciğer, akciğer ve böbrekte artmıştır. Besin alımında görülen azalma mısır yağı grubunda daha fazla olmuştur. Bundan yola çıkılarak sitokinlerin organizmadaki etkileri, eokizanoid biyosentezi ve oluşan ürünler tarafından etkilenebileceği görüşünü destekler cinstendir.

## SUMMARY

THE INFLUENCE OF DIETARY FATS ON THE EFFECTS OF RECOMBINANT HUMAN TUMOUR NECROSIS FACTOR- $\alpha$  IN RATS; PROTEIN SYNTHESIS IN LIVER, LUNG, KIDNEY AND MUSCLE OF RATS

Besler, T.

Cytokines mediate many of the metabolic changes that occur during infection and are implicated in chronic inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis. Fish oil has been shown to modify their inflammatory effects by alteration of eicosanoid (i.e. prostaglandins, leukotrienes etc) metabolism. This study compares the response of rats to TNF- $\alpha$  after six weeks of feeding diets rich in n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFAS) fed as corn oil, or poor in n-6 PUFAs fed as fishoil. Protein fractional synthetic rates and content were measured in liver, lung, kidney and muscle. In rats fed corn oil, rates of protein synthesis were increased by 38.5, 54.7 and 55.5 % in the liver, lung and kidney, respectively. Fish oil prevented the increase in protein synthesis in liver, lung and kidney. There were no changes occurred in the rate of protein synthesis of muscle in the groups.

**KAYNAKLAR**

1. Grimble, R.F., Jackson, A.A., Persaud, C., et al.: Cysteine and Glycine Supplementation Modulate the Metabolic Response to Tumor Necrosis Factor in Rats Fed a Low Protein Diet, *J. Nutr* 122: 2066, 1992.
2. Hardardottir, I., Kinsella, J.E.: Increasing the Dietary (n-3) to (n-6) Polyunsaturated Fatty Acid Ratio Increases Tumor Necrosis Factor Production by Murine Resident Peritoneal Macrophages without an Effects on Elicited Peritoneal Macrophages. *J. Nutr.* 122: 1942, 1992.
3. Bashir, S., Grimble, R.F.: Modulation of Metabolic Effects of TNF- $\alpha$  by Dietary Fats. *Int J Food Sci Nutr.* 43: 105, 1992.
4. Baracos, V., Rodemann, H.P., Dinarello, C.A., et al. Stimulation of Muscle Protein Degradation and Prostaglandin E<sub>2</sub> Release by Leukocytic Pyrogen (Interlukin 1). *N Engl J Med.* 308: 553, 1983.
5. Chartes, Y., Grimble R.F.: Effect of Recombinant Human Tumour Necrosis Factor  $\alpha$  on Protein Synthesis in Liver, Skeletal Muscle and Skin of Rats. *Biochem J.* 258: 493, 1989.
6. Perlmutter, D.H., Dinarello, C.A., Punsal, P.I., et al.: Cachectin/Tumour Necrosis Factor Regulates Hepatic Acute Phase Gene Expression. *J Clin Invest* 78: 1349, 1986.
7. Tracey, K.J., Beutler, B., Lowry, S.F., et al.: Shock and Tissue Injury Induced by Recombinant Human Cachectin, *Science* 234: 470, 1986.
8. Bodnar, R.J., Pasternak, G.W., Mann, P.E., et al.: Mediation of Anorexia by Human Recombinant Tumor Necrosis Factor Through a Peripheral Action in the Rat. *Cancer. Res.* 49: 6280, 1989.
9. Torti, F.M., Dieckmann, B., Beutler, B., et.al.: A Macrophage Factor Inhibits Adipocyte Gene Expression: An In Vitro Model of Cachexia. *Science* 229: 867-871, 1985.
10. Grimble, R.F.: Nutrition and Cytokine Action. *Nutr. Res. Rev.*, 3; 193-210, 1990.
11. Grimble, R.F., Dietary Manipulation of the Inflammatory Response, *Proc Nutr Soc*, 51; 285, 1992.
12. Lowry, S.F.: Modulating the Metabolic Response to Injury and Infection, *Proc Nutr Soc*, 51; 267, 1992.
13. Meydani, S.N., Endres, S., Woods, M.M., et al.: Oral (n-3) Fatty Acid Supplementation Suppresses Cytokine Production and Lymphocyte Proliferation: Comparison Between Young and Older Women. *J Nutr*, 121; 547, 1991.
14. Endres, S., Ghorbani, R., Kelley, V.E., et. al.: The Effect of Dietary Supplementation with n-3 Polyunsaturated Fatty Acids on the Synthesis of IL1 and TNF- $\alpha$  by Mononuclear Cells. *N Engl J Med.* 320; 266, 1989.



15. Bibby, D.C., Grimble, R.F.: Dietary Fat Modifies Some Metabolic Actions of Human Recombinant Tumour Necrosis Factor  $\alpha$  in Rats. *Br J Nutr* 634; 653, 1990.
16. Bibby, D.C., Grimble, R.F.: Tumour Necrosis Factor  $\alpha$  and Endotoxin Induce Less Prostaglandin E<sub>2</sub> Production from Hypothalami of Rats Fed Coconut Oil than from Hypothalami of Rats Fed Maize Oil. *Clin Sci* 79; 657, 1990.
17. Besler, H.T.: Diyet Modülasyonunun Sitokinler Üzerine Etkileri, *Sendrom* 5; 80-83, 1993.
18. American Institute of Nutrition: Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards For Nutritional Studies. *J Nutr* 107; 1340-1348, 1977.
19. Southgate, P.A., Russell, J.: McCane and Widdowson's: The Composition of Foods, HMSO, London, 1979.
20. Lefkowitz, J.B., Flippo, V., Sprecher, H., Needleman, P.: Paradoxical Conservation of Cardiac and Renal Arachidonate Content in Essential Fatty acid Deficiency. *J Biol Chem* 260: 15736.
21. Jepsan, M.M., Pell, J.M., Bates P.C., Millword, D.J.: The Effect of Endotoxaemia on Protein Metabolism in Skeletal Muscle and Liver of Fed and Fasted Rats. *Biochem J* 235; 329, 1986.
22. Gorlick, P.J., McNurlan, M.A., Preedy, V.R.: A Rapid and Convenient Technique for Measuring The Rate of Protein Synthesis in Tissues by Injection of [<sup>3</sup>H] Phenylalanine. *Biochem J* 192; 719, 1980.
23. Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., et al.: Measurement of Protein Using Bicinchoninic Acid, *Anal Biochem* 150; 76, 1985.
24. Warren, R.S., Starnes, H.F., Alcock, N., et al.: Hormonal and Metabolic Responce to Rekombinant Human Tumour Necrosis Factor in Rat: In vitro and In vivo, *Am J Physiol* 225: E-206, 1988.
25. Perlmutter, D.H., Dinarello, C.A., Punsal, P.J., et al.: Cachectin/Tumour Necrosis Factor Regulates Hepatic Acute-Phase Gene Expression, *J Clin Invest* 78: 1349, 1986.
26. Baumann, H., Richards, C., Gouldie, J.: Interaction Among Hepatocyte-Stimulating Factors, Interleukin 1 and Glucocorticoids for Regulation of Acute Phase Plasma Proteins in Human Hepatoma (Hep G2) Cells. *J Immunol* 139; 4122, 1987.
27. Tracey, K.C., Lory, S.F., Cerami, A.: Cachectin/TNF $\alpha$  in Septic Shock and Septic Adult Respiratory Distress Syndrome, *Am Rev Respir Dis* 138: 1377, 1988.
28. Stephen, K.E., Ishizaka, A., Larrick, J.W., et al.: Tumor Necrosis Factor Causes Increased Pulmonary Permeability and Edema, *Am Rev Respir Dis* 137: 1364, 1988.
29. Elias, J.A., Krol, R.C., Freundlich, B., Sampson, P.M.: Regulation of Human Lung Fibroblast Glycosaminoglycan Production by Rekombinant Interferons, Tumor Necrosis Factor, and Lymphotoxin. *J Clin Invest* 29: 180, 1989.
30. Kelley, J., Trombley, L., Kovacs, E.J. et al.: Pulmonary Macrophages Alter The Collagen Phenotype of Lung Fibroblasts, *J Cell Physiol* 109: 353, 1981.

31. Grimble, R.F., Bremner, I.: Tumour Necrosis Factor- $\alpha$  Enhances Hepatic Metallothionein I Content But Reduces That of Kidney, *Proc Nutr Soc* 48: 64A 1989.
32. Tocco-Bradley, R., Kluger, M.J.: Zinc Concentrations and Survival in Rats Infected with *Salmonella typhimurium*, *Infect Immun* 45: 332, 1984.
33. Morrison, J.N., Wood, A.M., Bremner, I.: Effects of Inflammatory Stress on Metallothionein-I Concentrations in Blood Cells and Plasma of Rats, *Biochem Soc. Trans* 16; 820, 1988.
34. Moldawer, L.L., Svaninger, L., Gelin, J., et. al.: Interleukin 1 and Tumor Necrosis Factor Do not Regulate Protein Balance in Skeletal Muscle, *Am J Physiol* 253; C766, 1987.
35. Dinarello, C.A.: Interleukin-1 and the Pathogenesis of the Acute Phase Response, *N Engl J Med* 311; 1413, 1984.
36. Johnston, P.V.: Dietary Fat, Eicosanoids and Immunity, *Adv Lipid Res* 21; 102, 1985.
37. Kinsella, J.E., Lokesh, B., Broughton, S., et al.: Dietary Polyunsaturated Fatty Acids and Eicosanoids; Potential Effects on the Modulation of Inflammatory and Immune Cells: An Overview, *Nutrition*, 6(1) Supp.: 24, 1992.
38. Kinsella, J.E.:  $\alpha$ -Linolenic Acid: Functions and Effects on Linoleic Acid Metabolism and Eicosanoid-Mediated Reactions, *Adv Food Nutr Res* 35; 1, 1991.
39. Wan, j., Grimble, R.F.: Inhibitory Effects of Indomethacin on Some Features of the Metabolic Response to *Escherichia coli* Endotoxin in Rats, *Proc Nutr Soc* 45; 51A, 1986.
40. Krymskaya, L.G., Gromykhina, N.Y., Kozlov, V.A.: Interleukin I Effect on Adrenal Gland Function in Mice, *Immunol Lett* 15; 307, 1987.
41. Evans, D., Jacobs, D.O., Revhaug, A., et al.: The Effects of Tumor Necrosis Factor and Their Selective Inhibition by Ibuprofen, *Ann Surg* 209; 312, 1989.
42. Sobrado, J., Moldawer, L.L., Bistran, B., et. al.: Effect of Ibuprofen on Fever and Metabolic Changes Induced by Continuous Infusion of Leukocytic Pyrogen (Interleukin I) on Endotoxin, *Infect Immun* 42; 997, 1983.