

# Solid Tümörlü Çocuklarda Tümör Nekrozis Faktör-a ve Taurin Düzeyleri

TUMOR NECROSIS FACTOR-a AND TAURINE LEVELS IN CHILDREN WITH SOLID TUMORS

Gürsel BİBEROĞLU\*, Alev HASANOĞLU\*\*, Aynur OĞUZ", Meltem PELİT\*\*\*

\* Yrd.Doç.Dr.Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD,

\*\* Prof.Dr.Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD,

\*\*\* Uzm.Dr.Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, ANKARA

## ÖZET

**Aktive olmuş makrofajlar tarafından salgılanmakta olan Tümör Nekrozis Faktör-a (TNF-a) immünoregülatör sistemde rol alan önemli bir sitokindir. TNF-a en önemli biyolojik etkilerinden birisi tümör hücrelerini öldürmektir. TNF-a'nın kanser hücrelerinde serbest oksijenradikallerinin üretimini önemli ölçüde artırdığı bilinmektedir. Memeli dokularında yaygın bir şekilde bulunan taurin ise serbest oksijen radikallerine karşı hücre savunmasında rol alan önemli bir antioksidandır. Bu çalışma yeni tanı alan solid tümörlü çocuklarda TNF-a ile taurin düzeyleri arasındaki ilişkiyi göstermek amacıyla planlanmıştır. TNF-a düzeyleri non-Hodgkin lenfomali (NHL), Hodgkin hastalıklı (HH) ve Wilms tümörü (WT) olan çocuklarda kontrole göre daha yüksek bulundu, ancak istatistiksel olarak önemli bir fark saptanamadı ( $p>0.05$ ). NHL hastalarda taurin düzeyleri normal, HH ve WT olan hastalarda azalmış olarak bulundu fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ). Sonuç olarak hasta grubunda TNF-a düzeylerindeki artışın önemli olmaması ortamda fazla miktarda oksidatif ve peroksidatif bileşiklerin üretilmediğini ve buna bağlı olarak da taurin düzeylerinin normal olduğunu düşündürmektedir.**

Anahtar Kelimeler: Kanser, TNF-a, Taurin

T Klin Pediatr 1995, 4:137-140

## SUMMARY

**Tumor necrosis factor -a (TNF-a) which is released by activated macrophages is an important cytokine for immunoregulator system. One of the most important biological effects of TNF-a is to kill the tumor cells. It is known that TNF-a causes an increase in production of free oxygen radicals in cancer cells. Also taurine which commonly exists in mammalian cells, is an important antioxidant in cell defence against free oxygen radicals. Our study is planned to show the relation between TNF-a and taurine levels in children with newly diagnosed solid tumors. TNF-a levels are found higher than the controls in children with non-Hodgkins lymphoma (NHL), Hodgkins disease (HD), and Willm's tumor (WT). But the results were not statistically important ( $p>0.05$ ). Taurine levels were normal in NHL patients, but lower than control in HD and WT patients. Again the results weren't statistically important ( $p>0.05$ ). As a result, very small increase of TNF-a levels in patients shows that there is no production of oxidative and peroxidative compounds, and therefore the levels of taurine are normal.**

Key words: Cancer, TNF-a, Taurine

T Klin J Pediatr 1995, 4:137-140

TNF-a aktive olmuş makrofajlar tarafından salgılanan önemli bir sitokindir. Bakteriyal endotoksinler, virüsler veya protozoalar makrofajların aktivasyonunda rol alan en önemli araçlardır. Genel bir inflamasyon

Geliş Tarihi: 20.04.1995

Yazışma Adresi: Dr.Gürsel BİBEROĞLU

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Metabolizma Bölümü, ANKARA

<sup>1</sup> Bu çalışma Gazi Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

T Klin J Pediatr 1995, 4

aracısı olan TNF-a, endojen bir pirojen olarak bilinir. Kesin mekanizması bilinmemekle beraber TNF-a endotoksik şokun primer aracısıdır. Lipoprotein lipaz aktivitesinin baskılanması, kollajenaz aktivitesinin ve siyovial hücreler tarafından prostaglandin E2 üretiminin solumülasyonu, interlökin 1p ve interferon y üretiminin solumülasyonu da TNF-a'nın diğer fonksiyonları arasındadır (8,9,22-24). TNF-a'nın en önemli biyolojik etkilerinden birisi çeşitli tipteki tümör hücrelerinde hemorajik nekroz oluşturarak onların parçalanmasını solumüle etmektir. Ayrıca TNF-a'nın direkt sitotoksik ve sitotoksik etkilerinin olduğu da kanıtlanmıştır (10,11,25).

Kanserli hastalarda serbest oksijen radikallerinin üretiminin önemli ölçüde arttığı ve hücre membranlarının hasarına yol açarak hücrenin ölümüne neden olduğu bilinmektedir. Bu radikallerin ortadan kaldırılması için organizmanın endojen korunma sistemleri mevcuttur (26,27). Memeli dokularında bol miktarda bulunan taurin de, serbest oksijen radikallerine karşı antioksidan olarak etki eden önemli bir amino asittir (5,6,7).

Kanser hücreleri ile yapılan invitro çalışmalarda TNF- $\alpha$  ile muamele edilen kanser hücrelerinde taurin düzeylerinin azaldığı bildirilmekte ve bu azalma ortamda serbest oksijen radikallerinin artması nedeni ile daha fazla taurin kullanılması şeklinde yorumlanmaktadır (4).

Bu çalışmada yeni tanı alan solid tümörlü hastalarda serum TNF- $\alpha$  ve taurin düzeyleri ölçülerek aralarındaki ilişkinin saptanması amaçlanmıştır.

## MATERYEL VE METOD

Tedavi edilmemiş 42 solid tümörlü ve 20 sağlıklı çocuk çalışma kapsamına alındı. Hasta grubunun 17 sini non-Hodgkin lenfoma (NHL), 10 unu Hodgkin hastalığı (HH), 5 ini Wilms tümörü (WT) ve 10 unuda çeşitli tipte tümörlü (Nöroblastom, nöroendokrin tümör, retinoblastom, rabdomyosarkom, hepatosellüler karsinom, ganglionöroblastom, endodermal sinüs tümörü) çocuklar oluşturdu. Hastaların yaşları 1 ay -13 yıl arasında kontrol grubunun ise 3 ay ile 14 yıl arasında değişmekteydi (Tablo 1). Hasta ve kontrol grubundan alınan kan örnekleri serumları ayrıldıktan sonra -70°C de dondurularak deney gününe kadar saklandı.

Tablo 1. Hasta ve kontrol grubuna ait özellikler

Tanı	No	Erkek		No	Kız	
		Yaş (yıl) Ay*	Evre		Yaş (yıl) Ay*	Evre
Kontrol	9	3*-12	-	11	1T-14	
NHL	11	1.5-13	II-IV	6	2.5-12	II-IV
HH	8	3.5-12	I-IV	2	2-8	I-III
WT	3	2-4.5	II	2	8*-2	III
Diğer tümörler	6	2.5-13	II-IV	4	1*-2.5	II-III

NHL: Non-Hodgkin lenfoma, HH: Hodgkin hastalığı, WT: Wilms tümörü

Tablo 2. Hasta ve kontrol grubuna ait TNF- $\alpha$  ve Taurin düzeyleri

Gruplar	n	TNF- $\alpha$ (pg/ml)		n	Taurin (mmol/dl)	
		X $\pm$ SD			X $\pm$ SD	
Non-Hodgkin lenfoma	17	43.62 $\pm$ 22.25		14	14.98 $\pm$ 5.58	
Hodgkin hastalığı	10	50.56 $\pm$ 18.12		9	11.81 $\pm$ 4.19	
Wilms tümörü	5	43.85 $\pm$ 29.36		4	12.94 $\pm$ 3.91	
Diğer tümörler	10	34.49 $\pm$ 15.68		7	16.52 $\pm$ 7.28	
Kontrol	20	39.76 $\pm$ 10.59		12	14.40 $\pm$ 4.53	

p>0.05

TNF- $\alpha$  düzeyleri immünoadyometrik yöntemle tayin edildi. Standart ve numuneler monoclonal 125 ile işaretli anti TNF- $\alpha$  ile kaplı tüpler içine eklenerek 18 saat oda ısısında inkübe edildi, inkübasyon sonrası tüpler %20 lik Tween ile yıkandı. Radyoaktivite y counter ile ölçülerek numunelerdeki TNF- $\alpha$  düzeyleri tespit edildi. (2).

Taurin düzeyleri High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ile tayin edildi. Serumdaki serbest taurin fenilzotiyosiyanat ile derivatize edildikten sonra 4.6x300 mm C 18 amino asit kolonu kullanılarak ölçüldü (28).

## BULGULAR

NHL'li hastalarda TNF- $\alpha$  düzeyleri kontrole göre yüksek bulundu, ancak istatistiksel olarak önemli değildi (p>0.05). Bu grup hastalarımızda taurin düzeyleri kontrole göre daha düşüktü ancak önemli bulunmadı VVT'li hastalarda TNF- $\alpha$  düzeylerinde kontrole göre farklılık bulunamadı (p>0.05). Taurin düzeyi ise kontrolden hafif düşüktü. Aynı şekilde çeşitli tipteki diğer tümörlü hastalar bir arada değerlendirildiğinde TNF- $\alpha$  ve taurin düzeyleri kontrolden farklı bulunmadı. Hasta ve kontrol grubuna ait TNF- $\alpha$  ve taurin düzeyleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Hastaların evreleri ile TNF- $\alpha$  düzeyleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanamadı (p>0.05).

## TARTIŞMA

Önemli bir antineoplastik ajan olarak bilinmekte olan TNF- $\alpha$  nın etki mekanizmasını açıklamak amacıyla yapılan araştırmalar sonucu oksidatif stres, endojen nü-

kleazların indüksiyonu, ATP/NADH oranında azalma gibi çeşitli teoriler öne sürülmüştür (14-17). Son yıllarda yapılan diğer bir çalışmada ise TNF-a'nın mitokondrilerde süperoksit anyonu üretimini indüklediği ve artan süperoksit radikallerinin dehidrogenaz enzimini inaktive ederek hücrenin ATP seviyesini azalttığı ve sonuçta hücrenin ölümüne yol açtığı bildirilmiştir (12).

Çeşitli araştırmacılar över, meme, kolon ve mide kanserlerinde, myeloma ve HL'li hastalarda TNF-a düzeylerini normale göre yüksek bulmuşlardır. Tedavi edilen vakalarda ise TNF-a düzeyleri normal bulunmuştur (18-20).

Saarinen ve arkadaşları (1) solid tümörlü çocuklarda yaptıkları çalışmada TNF-a düzeylerinin normale göre yüksek olduğunu gözlemişlerdir. Bu araştırmacılar lösemili çocuklarda serum TNF-a düzeylerini hem kontrole hem de diğer solid tümörlü çocuklara göre önemli ölçüde yüksek bulmuşlardır.

Bu çalışmada NHL, HH ve WT olan çocuklarda TNF-a düzeyleri kontrole göre yüksek bulundu ancak istatistiksel olarak önemli bir fark saptanamadı.

Son yıllarda bazı araştırmalarda kanserli hastalarda serbest oksijen radikallerinin önemli ölçüde attığı bildirilmektedir. Bu oksidatif ve peroksidatif moleküller hücre membranında hasara yol açarak hücrenin ölümüne neden olan toksik bileşiklerdir. Taurin bu toksik bileşiklere karşı hücre savunmasında rol alan önemli bir antioksidandır (3,5,6).

Podo ve arkadaşları (4) yaptıkları çalışmada tümör hücrelerini TNF-a ve sığır serum albumini ile muamele ettiklerinde TNF-a ile işlem görmüş olan ortamda taurin/glisin oranının önemli ölçüde düştüğünü gözlemişlerdir. Taurin düzeylerindeki bu azalma, TNF-a ile muamele edilmiş olan tümör hücrelerinin fazla miktarda oksidatif ve peroksidatif bileşikler üretmesi ve bu bileşikler ortadan kaldırmak üzere daha fazla taurin sentezi ve kullanılması şeklinde açıklanmıştır.

Taurin fizyolojik şartlar altında Myeloperoksidaz-Haİİd sistemi tarafından klorlanarak taunokloramin (Tau-Cl) kompleksini oluşturmaktadır. Tau-Cl, hİpoklorik asit toksisitesine karşı antioksidan olarak etki eden önemli bir bileşiktir. Park ve arkadaşları (3) taurin ve Tau-Cl in aktive edilmiş kanser hücreleri üzerindeki etkilerini incelemişler ve Tau-Cl in bu hücrelerde TNF-a ve nitrik oksit (NO) üretimini inhibe ettiğini ancak taurinin bir etkisi olmadığını saptamışlardır. Böylece Tau-Cl in NO ve TNF-a üretimini inhibe ederek bu bileşiklerin yaptığı oksidatif hasara karşı koruyucu olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmada taurin düzeyleri kontrole göre biraz düşük bulundu ancak istatistiksel olarak önemli bir fark saptanamadı.

TNF-a'nın tümör hücrelerine karşı korunmada ne kadar etkili olduğu henüz tam anlamıyla açıklığa kavuşmamıştır. Çeşitli antikörlerin ve bloke edici ajanların

varlığında TNF-a'nın sentezini ve eliminasyonunu etkileyen faktörlerdir (21).

Sonuç olarak çalışmamızda TNF-a düzeylerindeki artışın önemli ölçüde olmaması muhtemelen bu sebeplerden kaynaklanmaktadır. Yine hastalarımızda taurin düzeylerinin de normale yakın bulunması TNF-a düzeylerindeki artışın önemli olmaması nedeniyle ortamda fazla miktarda oksidatif ve peroksidatif bileşiklerin üretilmediğini ve sonuçta bu bileşikler ortadan kaldırmak amacıyla fazla miktarda taurin kullanılmadığını düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Saarinen UM, Koskelo EK, Teppo AM, Siimes MA: Tumor necrosis factor in children with malignancies. *Cancer Res.* 1990; 50: 592-595.
2. Abrahamsson J, Carlsson B, Mellander L: Tumor necrosis factor-a in malignant disease. *Pediatr Hematol Oncol.* 1993; 15(4): 364-369.
3. Park E, Quinn MR, Wright CE, Levis GS: Taurine chloramine inhibits the synthesis of nitric oxide and the release of tumor necrosis factor necrosis factor in activated RAW 264.7 cells. *J Leukoc Biol.* 1993; 54: 119-124.
4. Podo F, Carpinelli G, Vito MD, Giannini M, Proietto E, Fiers W, et al: Nuclear magnetic resonance analysis of tumor necrosis factor induced alterations of phospholipid metabolites and pH in friend leukemia cell tumors and fibrosarcomas in mice. *Cancer Res.* 1987; 47: 6481-6489.
5. Green TR, Fellman JH, Eicher AL, Pratt KL: Antioxidant role and subcellular location of hypotaurine and taurine in human neutrophils. *Biochim Biophys Acta.* 1991; 1073: 91-97.
6. Wright CE, Tallan HH, Lin YY: Taurine: Biological update. *Ann Rev Biochem.* 1986; 55: 427-453.
7. Sturman JA. Taurine in Development. *Physiological Reviews.* 1993; 73: 119-147.
8. Selby PJ, Hobbs S, Viner C, Jackson E, Smith IE, McElwain TJ: Endogenous tumour necrosis factor in cancer patients. *Lancet.* 1988; 27: 483.
9. Ryffel B, Brockhaus M, Dürmüller U, Gudat F: Tumor necrosis factor receptors in lymphoid tissues and lymphomas. *Am J Pathol.* 1991; 139: 7-15.
10. Kircheis R, Milleck J, Korobko VG, Shingarova LN, Behnke D, Schmidt HE: biological activity of mutants of human tumour necrosis factor alpha. *Immunology.* 1992; 76: 433-438.
11. Ishii Y, Uchiyama Y, Hasegawa S, Kinoshita T, Mitsui K, Kojima H, et al: Detection of tumour necrosis factor/cachectin in pleural effusion of patients with lung cancer. *Clin Exp Immunol.* 1990; 80: 350-353.
12. Hennen T, Richter C, Peterhans E: Tumour necrosis factor-a induces superoxide anion generation in mitochondria of L929 cells. *Biochem J.* 1993; 289: 587-592.

13. Ishii E, Ohga S, Murano I, Kobayashi M, Kimura K, Eguchi H, et al: Tumor necrosis factor in the cerebrospinal fluid of children with central nervous system leukemia. *Leukemia Research*. 1991;15:143-147.
14. Agarwat S, Drysale BE, Shin HS: Tumor necrosis factor-mediated cytotoxicity involves ADP-ribosylation. *J Immunol*. 1988;140: 4187-4192.
15. Matthews N, Neale ML, Jackson SK, Stark JM : Tumor cell killing by tumor necrosis factor: inhibition by anaerobic conditions, free radical scavengers and inhibitors of arachidonate metabolism. *Immunology*. 1987; 62:153-155.
16. Meier B, Radeke H, Sella S, Younes M, Sies H, Resch K, et al: Human fibroblasts release reactive oxygen species in response to interleukin -1 or tumor necrosis factor-alpha. *Biochem J*: 1989;263: 539-545.
17. Schmid DS, Hornung R, McGrath KM, Paum N, Ruddle NH: Target cell DNA fragmentation is mediated by lymphotoxin and tumor necrosis factor. *Lymphokine Res*. 1987; 6: 195-203.
18. Erroi A, Specchia G, Liso V, Colotta F, Bersani L, Polentarutti N, et al: interleukin-1 and tumor necrosis factor production in acute nonlymphoid leukemia. *Eur J Haematol*. 1989;42:16-23.
19. Aderka D, Fisher S, Levo Y, Holtman H, Hahn T, Wallach D; Cachectin/Tumour necrosis factor production by cancer patients. *Lancet*. 11985: 2:1190.
20. Balkwill F, Osborne R, Burke F, Naylor S, Talbot D, Durbin H, et al: Evidence for tumour necrosis factor/cachectin production in cancer. *Lancet*. 1987:1229-1232.
21. Gatanaga T, Lentz R, Masunaka I: Identification of TNF-LT blocking factor (s) in the serum and ultrafiltrates of human cancer patients. *Lymphokine Res*. 1990;9:225-229.
22. Beutler B, Cerami A: Cachectin: More than just a tumour necrosis factor. *N Eng J Med*. 1987: 316: 379-85.
23. Beutler B, Cerami A: The biology of cachectin 8TNF-A primary mediator of the host response. *Ann Rev Immunol*. 1989: 7: 625-655.
24. Paul NL, Ruddle NH. Lymphotoxin. *Ann Rev Immunol* 1988: 6:407-438.
25. Sugarman BS, Aggarwal BB, Hass PH: Recombinant human tumor necrosis factor- $\alpha$  effect on proliferation of normal and transformed cells in vitro. *Science*. 1985;230:943.
26. Frank L, Massaro D. O-ygon Toxicity: *Am J Med*. 1980: 69: 117-126.
27. Oberley LW, Buettner GR: Role of superoxide dismutase in cancer: A review. *Cancer Research*. 1979: 39:1141-1149.
28. Davey JF, Ersser RS: Amino acid analysis of physiological fluids by high performance liquid chromatography with phenylisothiocyanate derivatization and comparison with ion-exchange chromatography. *J Chromatogr*. 1990: 528: 9-23,