



T.C.

ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OBEZ BİREYLERDE PERİFERİK KAN
MONONÜKLEER HÜCRE TELOMERAZ AKTİVİTESİ
İLE MAKROFAJ MİGRASYON İNHİBİTÖR FAKTÖR
(MIF)'DEKİ DEĞİŞİMLERİN DİĞER İNFLAMATUAR
BELİRTEÇLERLE İLİŞKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Sümeyye RAMAZANOĞLU

TIBBİ FİZYOLOJİ PROGRAMI

Ankara, 2020

T.C.
ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OBEZ BİREYLERDE PERİFERİK KAN
MONONÜKLEER HÜCRE TELOMERAZ AKTİVİTESİ
İLE MAKROFAJ MİGRASYON İNHİBİTÖR FAKTÖR
(MIF)’DEKİ DEĞİŞİMLERİN DİĞER İNFLAMATUAR
BELİRTEÇLERLE İLİŞKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Sümeyye RAMAZANOĞLU

TIBBİ FİZYOLOJİ PROGRAMI

**Bu araştırma; Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Birimi tarafından 5528 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Ankara, 2020

T.C.
ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Obez Bireylerde Periferik Kan Mononükleer Hücre Telomeraz Aktivitesi ile
Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör (MIF)'deki Değişimlerin Diğer İnflamatuvar
Belirteçlerle İlişkisi

Sümeyye RAMAZANOĞLU

Doktora Tezi

26/11/2020

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Fahri BAYIROĞLU

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Fahri BAYIROĞLU

Prof. Dr. Sevil ÇAYLI

Doç.Dr. Mehmet Salih KAYA

Doç.Dr. Okan ARIHAN

Dr. Öğr. Üyesi. Tayfun GÖKTAŞ

Okuduğumuz ve Savunmasını dinlediğimiz bu tezin bir Doktora derecesi için
gereken tüm kapsam ve kalite şartlarını sağladığını beyan ederiz.

Prof. Dr. Seyfullah Oktay ARSLAN
Enstitü Müdürü

Bu tezin Doktora derecesi için gereken tüm şartları sağladığını tasdik ederim.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tezde kullanılmış olan tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

01-11-2020

Sümeyye RAMAZANOĞLU



TEŞEKKÜR

Tez danışmanı ve anabilim dalı başkanı sayın Prof. Dr. Fahri BAYIROĞLU'na, eğitimim süresince bilgisi, tecrübesi ve her konuda desteğini esirgemeyen saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Radwan ABU ISSA'ya, eğitimim her aşamasında bana destek veren, üzerimde emeği ve hakkı olan sayın Doç. Dr. Mehmet Salih KAYA'ya,

Numunelerin toplanmasında yardımcı olan Lokman Hekim Hastanesi, Beslenme ve Diyetetik Kliniğindeki Dyt. Hazel DOĞAN'a, ayrıca kan alma bölümündeki hemşirelere ve biyokimya laboratuvarındaki tüm çalışanlara, İlkform Beslenme ve Diyet Danışmanlık Merkezinden Dyt. İlknur AYDIN'a ve çalışmaya katılmayı kabul eden tüm değerli katılımcılara,

Laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Arş.Gör. İlkay PİŞKİN ve Arş.Gör. Rüstem ATEŞOĞLU'na, tezimi yazarken dil bilgisi konusunda yardımlarını esirgemeyen Arş.Gör. Emine TERZİ ve Arş.Gör. Safiye Beyza ÜNAL'a

ve AYBÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Obezite	5
2.1.1. Epidemiyoloji	6
2.1.2. Obezite Patogenezi	6
2.1.3. Obezite ile İlişkili Hastalıklar	9
2.2. Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör	10
2.2.1. MIF Yapısı	10
2.2.2. MIF Geni	11
2.2.3. MIF Reseptörü.....	12
2.2.4. Enzimatik Aktivitesi.....	12
2.2.5. Hormon Aktivitesi.....	13
2.2.6. MIF’in Sinyal Yolakları	14
2.2.7. MIF ve Glikoz Metabolizması	15
2.2.8. MIF ve İnsülin Direnci	16
2.2.9. MIF Regülasyonunda İnsülin Rölü	17
2.2.10. MIF ve İnflamasyon	18
2.3. Kronik İnflamasyon ve Kanser	20
2.4. MIF ve Kanser.....	21
2.5. p53 Proteini	22
2.5.1. p53 ve Obezite.....	24
2.5.2. MIF ve p53	25
2.6. MIF, Hipoksi ve Anjiyogenez.....	27
2.7. Telomer	28
2.8. Telomeraz.....	29

2.8.1. Telomer ve Yaşam Tarzı	29
2.8.2. Telomerazın Düzenlenmesi	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	32
3.1. Etik Kurul İzni	32
3.2. Araştırma Grubu	32
3.3. Kan Örneklerinin Toplanması.....	32
3.4. Laboratuvar Ölçümleri	33
3.4.1. Plazma MIF Analizi	33
3.4.2. Plazma p53 Analizi	34
3.4.3. Plazma TNF- α Analizi	34
3.4.4. Telomeraz Aktivitesi Analizi	35
3.5. İstatistiksel Analiz.....	37
4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	55
7. KAYNAKLAR.....	56
8. EKLER.....	74
EK-1. Etik Kurul Onayı	74
EK-2. Özgeçmiş	76

ÖZET

Obez Bireylerde Periferik Kan Mononükleer Hücre Telomeraz Aktivitesi ile Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör (MIF)'deki Değişimlerin Diğer İnflamatuvar Belirteçlerle İlişkisi

Tarih boyunca, obezite yüksek sosyoekonomik statü ile ilişkili bir durum olarak kabul edilmiştir. 20. yüzyılın başlarında gelişmiş ülkelerde, obezite bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Çalışmamızda obez bireylerde MIF konsantrasyonu ile telomeraz aktivitesi arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

Çalışmaya Beden Kütle İndeksi (BKİ) 25'in üzerinde olan 62 birey ile obez olmayan 20 birey kontrol olarak dahil edildi. Araştırmaya alınan bireylerde plazma MIF, p53, TNF- α , düzeyleri ELISA Kütleri ile incelendi. Kan örneklerinden izole edilen mononükleer hücrelerdeki telomeraz aktivitesi PCR kullanılarak tespit edildi.

Plazma MIF (obez grubu= 173.64 pg/mL, kontrol grubu= 39.5 pg/mL, $p=0.005$), ve p53 (obez grubu= 13.37 U/mL, kontrol grubu= 0.85 U/mL, $p=0.001$), seviyeleri obez bireylerde anlamlı düzeyde yüksek saptandı. Gruplar arasında TNF- α düzeyleri yönünden ise anlamlı fark saptanmadı, (obez grubu= 19.98 pg/mL, kontrol grubu= 20.48 pg/mL, $p=0.585$). Telomeraz aktivitesi (Obez bireylerin %32.3'ü pozitif, %67.7'si negatif, kontrol bireylerin %5'i pozitif, %95'i negatif, $p=0.015$) obez bireylerde anlamlı yüksek saptandı. BKİ ile MIF, p53, telomeraz aktivitesi aralarında zayıf düzeyde anlamlı bir korelasyon saptandı (sırayla $p=0.034$, $r=0.235$; $p=0.028$, $r=0.243$; $p=0.048$, $r=0.219$). MIF ile p53 ve telomeraz aktivitesi aralarında orta düzeyde anlamlı bir korelasyon saptandı ($p=0.001$, $r=0.39$; $p=0.003$, $r=0.326$). MIF ve TNF- α arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı. ($p=0.082$). p53 ve telomeraz aktivitesi arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı ($p=0.53$).

Plazma MIF, p53 düzeyleri ve telomeraz aktivitesi obez bireylerde anlamlı bir şekilde yüksek saptandı. MIF ile p53 ve telomeraz aktivitesi aralarında anlamlı bir korelasyon saptandı. Bütün veriler MIF, p53 ve telomeraz aktivitesinin; obezite patolojisinde rolü olabildiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Makrofaj migrasyon inhibitör faktör, obezite, p53, telomeraz aktivitesi

ABSTRACT

The Relationship of Changes in Peripheral Blood Mononuclear Cell Telomerase Activity and Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) with Other Inflammatory Markers in Obese Individuals

Historically, obesity used to be considered as a condition associated with high socioeconomic status and only in the early 20th century and developed countries, obesity became a public health issue. In our study, we aimed to examine the relationship of MIF concentration with telomerase activity in obese individuals.

In our study 62 individuals with Body Mass Index (BMI) over 25 and 20 healthy volunteers were included. Circulating MIF, p53, and TNF- α were measured by using ELISA kits. Telomerase activity in isolated peripheral blood mononuclear cells (PBMC) was determined using PCR.

Plasma MIF (obese group= 173.64 pg/mL, control group= 39.5 pg/mL, $p=0.005$) and p53 (obese group = 13.37 U/mL, control group = 0.85 U/mL, $p=0.001$), were found to be significantly higher in obese individuals. There was no significant difference between the groups in TNF- α levels (obese group= 19.98 pg/mL, control group= 20.48 pg/mL, $p=0.585$). Telomerase activity was found to be significantly higher in obese individuals. (32.3% of obese individuals were positive, 67.7% were negative, 5% of control individuals were positive, 95% were negative, $p = 0.015$) There was a significant correlation between BMI and MIF, p53, telomerase activity ($p = 0.034$, $r = 0.235$; $p = 0.028$, $r = 0.243$; $p = 0.048$, $r = 0.219$, respectively). A significant correlation was found between MIF and p53, ($p = 0.001$, $r = 0.39$), and between MIF and telomerase activity ($p = 0.003$, $r = 0.326$). No significant correlation was observed between MIF and TNF- α . ($p= 0.082$), or between p53 and telomerase activity ($p = 0.53$).

Conclusion: Plasma MIF, p53 levels and telomerase activity were found to be significantly higher in obese individuals. There was a significant correlation between MIF and p53 and telomerase activity. These results indicate that MIF, p53 and telomerase activity; can play a role in obesity pathology.

Keywords: Macrophage migration inhibitory factor, obesity, p53, telomerase activity

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AA: Araşidonik Asit

ACTH: Adrenokortikotropik Hormon

AKT: Serin/treonin Kinaz

AP-1: Aktivatör Protein-1

AP-2: Aktivasyon Artırıcı Bağlayan Protein - 2

BAD: Bcl-2 İlişkili Hücre Ölümü Agonisti

BAT: Kahverengi Adipoz Doku

BAX: Bcl-2 İlişkili X-Proteini

Bcl-2: B- Hücre Lenfoma 2

Bcl-xl: B- Hücre Lenfoma -Ekstra Büyük

BKİ: Beden Kütle İndeksi

BM: Bazal Membran

COX-2: Siklooksijenaz-2

cPLA2: Sitoplazmik Fosfolipaz A2

CRH: Kortikotropin Salgılatıcı Hormon

CSN5: Sinyalozom Alt Birimi 5

CTCF: CCCTC Bağlayıcı Faktör

CTGF: Bağ Dokusu Büyüme Faktörü

CTL: Sitotoksik T Lenfositleri

CXCR: c-x-c Motif Kemokin Reseptör

DHICA: Dopakromu 5,6-Dihidroksi-2-Karboksilik Asit

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

ECM: Ekstraselüler Matriks

E2F: E2 Promoter Bağlanma Faktörü

Egr 1: Erken Büyüme Cevabı

ERK: Hücre Dışı Sinyal Ayarlı Kinaz

ETS: Eritroblast Dönüşümü Özel

FAO: Yağ Asidi Oksidasyonu

Foxo3a: Forkhead Box O-3

GAMT: Guanidinoasetat N-metiltransferaz

GLUT2: Glikoz Taşıyıcı 2

JAB1: Jun Aktivasyon Domain Bağlayıcı Protein 1

JNK: c-Jun-N-terminal Kinaz

HED: Hidroksietil Disülfür

HIF-1 α : Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör

HRE: Hipoksi Düzenleyici Element

hTERC: İnsan Telomeraz RNA Bileşeni

hTERT: İnsan Telomeraz Ters Transkriptaz

IFN- γ : İnterferon Gama

IGF-1: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1

IL: İnterlökin

IRS: İnsülin Reseptör Substratı

LOX: Lizil Oksidaz

LPS: Lipopolisakkarit

MAD1: Mitotik İğ Düzeneği Kontrol Noktası Proteini

MAPK: Mitojen Aktive Edici Protein Kinaz

MKP-1: Mitojen Aktive Edici Protein Kinazın (MAPK) Fosfatazı 1

MMP: Matriks Metalloproteinaz

Mdm2: Mouse Double Minute 2

MIF: Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör

MZF-2: Myeloid Özgü Çinko Parmak Proteini-2

NF-κB: Nükleer Faktör Kappa B

NK: Doğal Öldürücü Hücreler

NO: Nitrik Oksit

NSAID: Steroid Olmayan Antiinflatuar İlaçlar

PAG: Proliferasyona Bağlı Gen

PBMC: Periferik Kan Mononükleer Hücre

PGE2: Prostaglandin E2

PI3K: Fosfoinositid3-Kinaz

POT1: Telomer Korunması 1

RAP1: Baskılayıcı Aktivatör Proteini 1

RB: Retinoblastoma Proteini

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

SAA: Serum Amiloid A

SIP1: Smad Etkileşimli Protein 1

hSIR2: Sessiz Bilgi Düzenleyicisi

SHR: Steroid Hormon Reseptörü

SNS: Sempatik Sinir Sistemi

Sp1: Özgüllük Proteini 1

SRC: Bir Proto-Onkojenik Tirozin Kinaz

T2DM: Tip 2 Diyabet

TEP1: Telomeraz Protein Bileşeni

TERF: Telomer Tekrar Faktörü

TINF2: TERF1 Etkileşen Nükleer Faktör 2

TLR4: Toll Benzeri Reseptör 4

TNF α : Tümör Nekroz Faktörü α

TSH: Tiroit Uyarıcı Hormon

TSP-1: Trombospondin

TPP1: Tripeptidil-Peptidaz 1

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

VHL : Von Hippel–Lindau Tümör Baskılayıcı Geni

WAT: Beyaz Adipoz Doku

WT1: Wilms Tümör 1 Tümör Baskılayıcı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Obezitede hormonların seviyeleri değişmesi	8
Şekil 2.2. MIF reseptörü	12
Şekil 2.3. MIF ve glukokortikoidlerin etkileşim mekanizması.....	19
Şekil 2.4. p53'ün metabolik etkisi	23
Şekil 2.5. MIF'in sinyal yolları	26
Şekil 2.6.HTERT'nin promoter bölgesi ve aktivitesini düzenlemek için gerekli olan transkripsiyon faktörleri	30
Şekil 4.1. Grupların cinsiyete göre dağılımları.....	38
Şekil 4.2. Grupların yaş aralığına göre dağılımları.....	39
Şekil 4.3. Grupların BKİ aralığına göre dağılımları.	39
Şekil 4.4. Obez bireylerle kontrol bireylerin plazma MIF düzeyleri.....	40
Şekil 4.5. Bireylerle kontrol bireylerin plazma p53 düzeyleri.....	41
Şekil 4.6. Obez bireylerle kontrol bireylerin plazma TNF- α düzeyleri.....	42
Şekil 4.7. Obez bireylerle kontrol bireylerin telomeraz aktivitesi.....	43
Şekil 4.8. MIF ve p53 arasındaki korelasyon.	46
Şekil 4.9. MIF ve TNF- α arasındaki korelasyon.	46
Şekil 4.10. TNF- α ve p53 arasındaki korelasyon.....	47

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Çizelge kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu.	35
Tablo 3.2. Polimeraz zincir reaksiyonu sıcaklık şartları;	36
Tablo 4.1. Katılımcıların özellikleri, Plazma MIF, p53, TNF- α , ve PMNC telomeraz aktivitesi ölçümlerinin gruplara göre değerlendirilmesi.	44
Tablo 4.2. Değişkenler arası ilişkiler.	45
Tablo 4.3. MIF ve diğer parametreler arasındaki ilişkiler.	47



1. GİRİŞ

Obezite, kültürel, çevresel, sosyoekonomik, psikolojik ve genetik bileşenlerden oluşan çok faktörlü bir hastalıktır (1). Obezitenin yaygınlığı dünya çapında artmakta, 2030 yılına kadar bir milyardan fazla kişiyi etkilemesini tahmin edilmektedir (2).

Obezite, kronik bir hastalıktır ve vücutta yağ birikiminde bir artış olarak tanımlanabilir. Adipoz doku sadece bir trigliserit depolama organı değildir. Çalışmalar beyaz adipoz dokunun adipokinler adı verilen belirli biyoaktif maddelerin üreticisi olarak rolünü göstermiştir (3). Adipoz dokudan salgılanan leptin, adiponektin, tümör nekrozis faktör α , interlökin-1 β (IL-1 β), IL-6, monosit kemotaktik protein-1, MIF, sinir büyüme faktörü, vasküler endotelial büyüme faktörü, plazminojen aktivatör inhibitörü 1 ve haptogloblin dahil olmak üzere birçok adipokin, inflamasyon ve inflamatuvar cevap ile ilişkilidir. Obezite, inflamatuvar belirteçlerin dolaşımdaki yükselmiş seviyeleri ve inflamasyonla ilişkili adipokinlerin ekspresyonu ve salınımı ile birlikte ortaya çıkan kronik inflamasyon durumu ile karakterize edilmektedir. Bununla birlikte, bu adipokinler, oksidatif stres üreten reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini indükler (3,4).

MIF; monosit, makrofaj, B- ve T-hücreleri gibi pek çok bağışıklık hücresi tarafından üretilir. MIF, bağışıklık sisteminin yanı sıra geniş bir doku dağılımına sahip olup, özellikle vücudun doğal ortamı ile doğrudan temas halinde olan akciğer, deri, epitel tabakası, gastrointestinal ve genitoüriner yolların hücreleri ve dokuları tarafından da üretilir. Yapılan araştırmalar sonucunda, MIF'in doğrudan veya dolaylı olarak sitokinler (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8 ve makrofaj inflamatuvar protein 2 gibi), nitrik oksit, COX-2, araşidonik asit yolu ürünleri (PGE2 gibi), birkaç matriks metalloproteinaz ve inhibitörleri gibi proinflamatuvar moleküllerin üretimi veya ekspresyonunu arttırdığına dair kanıtlar ortaya konmuştur (5). Kronik

enfeksiyona sahip hastaların artmış kanser gelişim riskine sahip olduğu epidemiyolojik çalışmalardan bilinmektedir. MIF'in tümör baskılanmasında, anjiyogeneze ve hücre yaşlanmasında rolleri olduğu bilinmektedir. Bu özellikleri sebebiyle, MIF'in kronik inflamasyon ile kanser gelişimi arasında ilişki kurulmasına aracılık ettiği düşünülmektedir (6). MIF ve MIF bağlayıcı reseptör CD74'ün inhibisyonu prostat kanseri invazyonunu zayıflatır (7). MIF'in genetik olarak susturulması kanser hücre hatlarında invazyonu azaltmıştır (8). MIF sinyal reseptörü CD44'ün uyarılması hücreleri aktive etmekte ve inflamatuvar cevabı artırmaktadır. Ancak CD44'ün uzun süreli aktivasyonu malignitede önemli rol oynar. Artmış CD44 aktivasyonunun meme kanser hücresi invazyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Sonuç olarak CD44'ün aşırı ekspresyon ve aktivasyonunun metastatik kanser hücrelerinin uzak bölgelere göçünde önemli rol oynadığı söylenebilir (6).

Tümör mikroçevresinde, p53, transforme hücreler tarafından veya bu hücreleri çevreleyen inflamatuvar hücreler tarafından sağlanan yüksek MIF konsantrasyonları tarafından baskılanır. MIF hücre çoğalmasını artırır, hücre ömrünü uzatır, genotoksik hasara karşı yetersiz bir cevap oluşturur ve onkojenik mutasyonların birikmesine izin verir. Yapılan bir çalışmada MIF'in, p53'e bağlı p21, siklin G1 ve Mdm2'nin transkripsiyonel aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir (9). MIF-eksikliği olan hücreler onkojenik transformasyondan sonra artmış proliferasyon göstermezler ve bu defektin retinoblastoma proteini (RB) tümör baskılayıcının akış aşağısında olan E2F- ve p53'e bağımlı yolak tarafından yönlendirilir. p53 geninin delesyonu, MIF-eksikliği gözlenen hücrelerin fenotipini tersine çevirmiştir (10). MIF, ERK'in aktivasyonu ve COX-2, PGE2'nin indüksiyonu yoluyla p53'ün hücrede birikimini azaltır (11). Kolon karsinomunda; hem MIF hem de COX-2 yüksek oranda ifade edilir ve NSAIDs kullanımının kolon adenokarsinomlarının gelişimini azalttığına dair kanıtlar vardır. MIF'e bağlı COX-2 aktivitesinin inhibisyonu, bu ilaçların koruyucu etkisinin sebebi olabilir ve çeşitli hücre sistemlerinde MIF ve p53 fonksiyonu arasında temel bağlantıyı destekleyebilir (8,12). Gerçekten, MIF'nin p53'ün NO-kaynaklı hücre içi birikimini inhibe ettiği ve bundan ötürü p53-aracılı apoptozunda inhibe olduğu bulunmuştur (5). MIF ve p53 arasındaki etkileşimi açıklayan kesin bir mekanizma bulunamamıştır. p53 tarafından kontrol edilen çok sayıda gen tanımlanmıştır ve p53'ün farklı gen gruplarının ifadesi üzerindeki etkisi, uyaranların etkisine bağlıdır. p53 proteininin, hem DNA bağlanma hem de protein

etkileşimlerini etkileyen geniş bir transkripsiyon sonrası modifikasyondan geçtiği bilinmektedir. MIF'in p53 aktivasyonunu düzenlediği mekanizmalar, mikroçevrenin ve tümör oluşumunda inflamasyonun rolünün daha iyi anlaşılması için oldukça dikkat çekicidir (6).

İnsan telomerası, normal insan somatik hücrelerinde genelde inaktif halde bulunan, kromozom uçlarını TTAGGG telomerik tekrar sekansları ile uzatan bir ribonükleoproteindir. Oksidatif hasarı, telomerik DNA'da kromozomun herhangi bir yerinde olduğundan daha az onarılır ve oksidatif stres telomer kaybını hızlandırırken, antioksidanlar onu yavaşlatmaktadır (13). Telomeras aktivitesi olmadığı zaman somatik hücrelerdeki telomerler kısalırlar ve hücreler yaşlanma durumu ile karşı karşıya gelirler. Son çalışmalardan elde edilen kanıtlar tümör hücrelerinin telomeras enzimini aktif hale getirerek hücreyi yaşlanmaktan uzak tutabileceğini göstermektedir. Bu durum birçok insan tümör hücre hattında ve primer malignan hücrelerde araştırılmıştır (14).

Obezite kronik bir inflamasyon durumuna yol açmaktadır. Obez insanlarda TNF- α , IL-6, MIF, IFN- γ ve diğer inflamatuvar mediatörlerin plazma konsantrasyonlarının arttığını tespit edilmiştir (15). Kronik enfeksiyona sahip hastaların artmış kanser gelişim riskine sahip olduğu epidemiyolojik çalışmalardan bilinmektedir (10). MIF, p53 aracılı apoptozisin aksine monosit ve makrofaj fonksiyonunun sürdürülmesini sağlar (9,10,12). Son çalışmalar, p53'ün glikoliz, oksidatif fosforilasyon ve amino asit metabolizması gibi metabolik yollarının düzenlenmesinde rolü olduğunu göstermiştir. p53'ün *in vivo* metabolik rolü karmaşık ve sinyale bağımlıdır. Aşırı kalori alımının, inflamasyon tepkinin indüksiyonuna katkıda bulunan, kilo alımını ve insülin direncinin gelişmesini teşvik eden adiposit p53'ü aktive ettiği görülmektedir (16). Bu bilgilerin ışığında, obezitede, tümör mikroçevresindeki MIF ve p53 arasındaki bulunan negatif korelasyonun aksine pozitif korelasyon saptanması beklenmektedir. Bu sebeple MIF'in monosit ve makrofaj fonksiyonunun sürdürülmesini sağlamak için p53 aracılı apoptoz baskılamak yerine başka sinyal yollarını aktive ettiği düşünülmektedir.

Stres ve yaşlanma, lenfositlerdeki telomeras seviyelerini etkileyebilir (17,18). Son çalışmalardan elde edilen kanıtlar tümör hücrelerinin telomeras enzimini aktif hale getirerek hücreyi yaşlanmaktan uzak tutabileceğini göstermektedir. Bu sebeple

telomerez aktivasyonun hücre immortalitesi ve t m roenez ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (14,19).

Mevcut literatürde obezitede plazma MIF konsantrasyonun ile PBMC telomerez aktivitesi arasındaki ilişkiyi açıklayan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada artan MIF konsantrasyonunun telomerez aktivitesinde artışa yol a ması öngörülmektedir, böylece MIF'in hücrelerin sinyal yolaklarında yaptığı etkilerin daha iyi anlaşılmasına yönelik literatüre katkı sağlamaktır. Hipotezimize göre hem hasta hem de sağlıklı bireylerde MIF-p53-Telomerez arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Obezite

Obezite, kültürel, çevresel, sosyoekonomik, psikolojik ve genetik bileşenlerden oluşan çok faktörlü kronik bir hastalıktır (1). Obezite yaygınlığı gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde giderek artmakta olup, 2030 yılına kadar bir milyardan fazla kişiyi etkilemesi öngörülmektedir (2). Dünya sağlık örgütü (DSÖ) obeziteyi en riskli 10 hastalıktan biri olarak kabul ederken, yine aynı örgüt tarafından yürütülen son araştırmalarda obezitenin kanserle yakın ilgisi olduğu belirlenmiştir (20). Yol açtığı hastalıklarla birlikte sağlık harcamalarında da en önemli yeri tutan obezitenin birçok kronik hastalıkla yakından ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu sebeple obezitenin etkenlerinin ve tedavi seçeneklerinin iyi bilinmesi, obezite ve komplikasyonlarının ideal tedavisinin tespit edilebilmesi açısından önemlidir (20).

Dünya sağlık örgütü (DSÖ) tarafından obezite, sağlığı bozacak ölçüde vücutta aşırı yağ birikmesi olarak tanımlanmıştır (21). Obezite değerlendirmesinin beden Kütle indeksi (BKİ)'ne dayanarak “ $BKİ = \text{Ağırlık (kg)} / \text{Boy (m}^2\text{)}$ ” formülü ile değerlendirilir. Obezite; aşırı kilolu ($BKİ \geq 25$ kg/m²), obez ($30 \leq BKİ < 35$ kg/m², I ve II sınıf 'ye bölünmüş) ve morbid obez ($BKİ \geq 40$ kg/m² ve üstü) olarak sınıflandırılır (22).

Dünya sağlık örgütü (DSÖ) obezitenin tanımında beden Kütle indeksinin (BKİ) kullanımını önermekte iken Asya toplumunda $BKİ \geq 25$ kg/m² in altındaki kişilerde de kardiyovasküler hastalık ve tip 2 diyabet (T2DM) oranlarının beklenenden yüksek olması BKİ için verilen sınır değerlerinin tekrar tartışılması gerektiğini göstermektedir (23).

Bin dokuz yüz doksan dokuz'un başlarında, yetersiz olan verilere dayanarak Asyalılar için $BKİ \geq 23$ kg/m² olan bireyler aşırı kilolu, $BKİ \geq 25$ kg/m² olan bireyler obez olarak tanımlanmıştır. Son yıllarda Tayvan, $BKİ \geq 24$ kg/m² olan bireyleri aşırı kilolu, $BKİ \geq 27$ kg/m² olan bireyleri obez olarak kabul etmiştir (24).

2.1.1. Epidemiyoloji

Tarih boyunca, obezite yüksek sosyoekonomik statü ile ilişkili bir durum olarak kabul edilmiştir. Yirminci yüzyılın başlarında gelişmiş ülkelerde, obezite bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü 1997 yılında, obezitenin global bir pandemi problemi olduğunu kabul etmiştir. Yirmi birinci yüzyılın ilk on yılında yapılan çalışmalar obezitenin bazı gelişmekte olan ülkelere prevalansının %30'dan %100'e yükseldiğini göstermiştir (25).

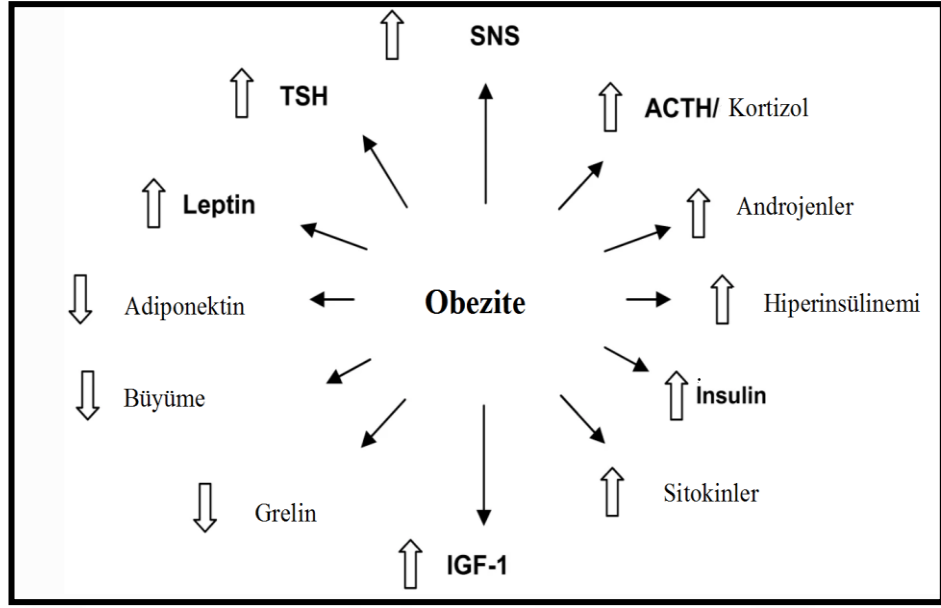
Türkiye'de yaşam tarzının hızla değişmesi sonucunda obezite, halk sağlığını önemli ölçüde tehdit eden ve sıklığı giderek artan bir sorun haline gelmiştir. Türkiye'de obezite prevalansının gelişmiş batı ülkelerinden aşağı kalmadığı anlaşılmıştır. Ülkemizde yetişkin toplumunda obezite prevalansı, %30'luk kritik yüksek oranı aşmıştır. Obezite sıklığı kadınlarda daha yüksek olmakla beraber, son yıllarda erkeklerdeki hızlı artış da dikkati çekmektedir. Türkiye'de obezite prevalansının, 1997-98 yıllarında 540 merkezde gerçekleştirilen, 20 yaş ve üstü 24788 kişinin incelendiği Türkiye Diyabet Epidemiyoloji (TURDEP-I) Çalışması'nda, %22,3 (kadın %30, erkek %13) olduğu saptanmıştır. TURDEP-I Çalışması'ndan 12 yıl sonra, aynı merkezlerde yapılan TURDEP-II Çalışması'nda ise obezite sıklığı, genel toplumda %35 (kadın %44, erkek %27) bulunmuştur. Çalışma sonuçları, TURDEP-I popülasyonuna göre standardize edildiğinde, 1998 ile 2010 yılı karşılaştırıldığında Türkiye'de yetişkin toplumda obezite prevalansının %22,3'ten %31,2'ye yükseldiği görülmüştür. Obezite prevalansı kadınlarda %34, erkeklerde ise %107 oranında artmıştır. Obezite prevalansı, yirmili yaşlardan itibaren artarak kadınlarda 45-74 yaş grubunda %50'yi ve erkeklerde 45-64 yaş grubunda %30'u aşmakta, ileri yaşlarda ise azalma eğilimi göstermektedir (26).

2.1.2. Obezite Patogenezi

Tarih boyunca obezitenin basitçe enerji alımı ile harcama arasındaki dengesizlikle ilişkili olduğu düşünülmüştür. Yakın tarihli araştırmalar ise genetik, hormonlar, fizyolojik ve davranışsal faktörlerin de obezite etiolojisinde önemli bir rol oynadığını belirtmişlerdir (27). Obezite patogenezinde birçok gen rol oynamasına rağmen, yine de bu konuda bilgiler net değildir. Bu genlere β 3-adrenerjik reseptör,

peroksizom-proliferatör ile aktive edilen reseptör gamma 2, kromozom 10q, melanokortin 4 reseptör genleri örnek olarak verilebilir (28).

Gastrointestinal hormonlar, adipokinler ve diğer hormonlar dahil olmak üzere obezitenin düzenlenmesi ve patofizyolojisinde birçok hormon yer alır. Obez hastalarda ghrelin, glukagon benzeri peptid 1, peptid YY 3-36, kolesistokinin ve amilin gibi gastrointestinal hormonların seviyeleri obez olmayan bireylere göre değişiklik göstermektedir. Gastrointestinal hormonlar, gastrointestinal yoldaki bilgiyi, beyine iletir ve sindirilmiş gıda hakkında bir “rapor” sağlar, böylece enerji homeostazından sorumlu merkezler enerji metabolizmasını (gıda alımı ve enerji harcaması) dengelemek için uygun sinyalleri gönderebilirler. Bununla birlikte, insüline ek olarak, gastrointestinal hormonlar, temel olarak lipidlerin sindiriminden çok karbonhidratların sindiriminde salgılanır. Bu durum lipidler alındığında beyin “kör” kalabileceği anlamına gelebilir. Bu durum, lipidlerin kolayca vücutta biriktiğinin önemli sebeplerinden birisi olabilir (29). Adipositler, adipokin olarak adlandırılan çeşitli hormonları üretir. En önemli adiposit salgıları tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), interlekin-6 (IL-6), leptin ve adiponektindir. TNF- α 'nın obezitedeki rolü, serbest yağ asitlerinin salgılanması, adiponektin sentezinde azalma ve insülin sinyalinin bozulması yoluyla insülin direnciyle ilişkilendirilmiştir. Leptin, beyni yağ enerji rezervleri hakkında bilgilendiren, baskın ve uzun vadeli bir sinyal olarak etki etmektedir. Leptin kan-beyin bariyerini geçerek, hipotalamusta bulunan arkuat nukleus'taki leptin reseptörlerine bağlanır ve iştahı engeller. Bunun aksine, normal bireylerde adipositler tarafından bolca salgılanan adiponektin, insülin duyarlılaştırıcı, anti-inflamatuar ve anti-aterojeniktir. Leptinin aksine, konsantrasyonu obezitede düşer. Kilo kaybından sonra adiponektin seviyeleri normal seviyelere geri dönmektedir (15,28).



Şekil 2.1. Obezitede hormonların seviyeleri değişmesi (27).

Obezite, gıda alımı ve fiziksel aktivite dışında kaloriyle ilişkili olmayan diğer faktörlerin de oluşturduğu karmaşık bir durumdur. Örneğin, uyku eksikliği obezite ile bağlantılıdır ve literatürde sirkadiyen ritimlerin çeşitli metabolik fonksiyonları nasıl düzenlendiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar, uyku eksikliği vakalarında azalmış glikoz toleransı, azalmış leptinemi, plazmada artmış kortizol ve grelin konsantrasyonları, daha yüksek açlık ve iştah görüldüğünü göstermiştir. Bunlara ek olarak, uyku kısıtlaması, diyabet riski ile insülin direncini artırır. Glukagon benzeri peptid 1 ve leptin gibi iştah ile ilişkili hormonların seviyelerini değiştirir (29).

Obezite, intestinal mikrobiyotadaki değişikliklerle de ilişkilidir. İnce bağırsaklardaki mikroorganizmalar gen ekspresyonlarını ve hormon düzenleyici mekanizmaları harekete geçirerek mitokondri aktivitesini güçlendirecek, metabolik endotoksemiye önleyecek ve intestinal glukoneogenezi aktive edecek birtakım yararlı metabolik etkileri başlatabilir (26).

Yukarıda da bahsedildiği üzere, obezite etiyolojisi bir çok faktöre bağlı olabilmektedir. Obezitede birçok biyolojik molekülün anormal seviyeleri görülür. Genetik, fizyolojik ve davranışsal faktörler obezite etiyolojisinde önemli rol oynarlar. Bu faktörlerin hiçbirisi tek başına obezite gelişimini sağlayamaz ancak her biri obeziteye katkıda bulunur (27).

2.1.3. Obezite ile İlişkili Hastalıklar

Obeziteye, insülin direnci, hipertrigliseridemi, düşük HDL seviyeleri ve artmış olan LDL seviyeleri gibi birkaç komorbid durum eşlik ettiğinden dolayı pek çok hastalıklara sebep olmaktadır. Örneğin, obezite, diyabetik, safra kesesi hastalığı, bazı kanser türleri, uyku apnesi, kronik hipoksi ve hiperkapni ve dejeneratif eklem hastalığı ile ilişkilidir. Viseral yağ doku artışı, bu şartların çoğu için riski artırır (30,31).

2.1.3.1. Obezite ve İnflamasyon

Obezite insanda kronik bir inflamatuvar duruma yol açar. Obez insanlarda TNF- α , IL-6, MIF ve diğer inflamatuvar mediatör plazma konsantrasyonları artar. Beyaz adipoz doku, aynı zamanda büyük bir endokrin salgı organıdır. Bazı uyarılar, adipokinlerin salgılanmasını sağlar. Adipoz dokudan salgılanan leptin, adiponektin, tümör nekrozis faktör α , IL-1 β (interlökin 1 β), IL-6, monosit kemotaktik protein-1, MIF, sinir büyüme faktörü, vasküler endotelial büyüme faktörü, plazminojen aktivatör inhibitörü 1 ve haptoglobin dahil olmak üzere birçok adipokin inflamasyon ve inflamatuvar cevap ile ilişkilidir. Ayrıca, adipoz dokuda bulunan makrofajların pro-inflamatuvar faktörlerin kaynağı olabileceği ve adipositlerin sekretuar aktivitesini modüle edebildikleri gösterilmiştir. Doku makrofajları kandaki monositlerden köken alırlar. Son zamanlarda, obezlerde mononükleer hücrelerin, inflamatuvar durumda olduğu gösterilmiş, yüksek miktarda pro-inflamatuvar sitokinler ve ilgili faktörleri ifade ettiği belirtilmiştir. Ek olarak, bu hücrelerin, önemli pro-inflamatuvar transkripsiyon faktörü olan NF- κ B bağlanmasında ve NF- κ B'nin ana protein bileşeni olan p65'in (Rel A) intranükleer ekspresyonun artışında bir role sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu hücrelerde, NF- κ B inhibitörü olan I κ B β 'nin ifadesini azalmaktadır. Bu sebeple, açıkça obezitede, çeşitli hücrelerde ve plazmada inflamasyon kanıtı vardır (15).

Beyaz adipoz doku genişlettikçe, damardan uzak olan adiposit kümeleri hipoksik hale gelebilir. Böylece hipoksiya inflamasyon için kritik faktör olabilir. Hipoksinin, kan akışını artırdığı, vaskülarizasyonu uyardığı, inflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin ve anjiyojenik faktörlerin salınımına yol açtığı önerilmektedir. Bu

durum yara iyileşmesi ve solid tümör oluşumunda görülür. Tüm bunları dikkate alarak, beyaz adipoz dokunun (özellikle kahverengi yağ dokusu ile karşılaştırıldığında) vaskularizasyonu daha zayıf olduğundan, obezitede dokuya giden kan oranının azaldığını ve obezlerin zayıflara göre post-prandial kan akışında artış göstermediğini belirtmek önemlidir (32). Oksijen azalmasının sonucu transkripsiyon faktörü HIF-1 (hipoksi ile indüklenen faktör-1) aktive edilir ve bir takım olumsuz etkilerin oluşmasına sebep olur. Bu etkiler; adiponektin üretiminin inhibisyonu, insülin direncinin indüksiyonu, beyaz adipositlerin iskemi ve nekrozu, inflamatuvar sitokinlerin ve anjiyojenik faktörlerin üretimi ve serbest radikal üretimi içermektedir. Sonuç olarak, adipositlerin hipoksi ve iskemisi, hücre hasarı ile inflamatuvar sürecin aktivasyonu arasındaki anahtar rolü oluşturmaktadır (33).

2.2. Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör

Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör (MIF), sitokin aktivitesi gösteren ilk pleiotropik inflamatuardır. MIF'e ilişkin ilk bulgular, 1932 yılında Rich ve Lewis'in *in vitro* inflamatuvar hücre göçünün aktif inhibisyonunun bulunması ile gösterilmiştir. 1950'lerin sonlarında, monosit hareketini *in vitro* olarak durdurabilen hücresel inflamatuvar ajana, makrofaj migrasyon inhibe edici faktör (MIF) adı verilmiştir. MIF aktivitesinden sorumlu olan gen bölgesi 1989'da rapor edilmiştir (34). 1993'te, MIF klonlanmış, saflaştırılmış ve aktivitesi moleküler seviyede karakterize edilmiştir (35). MIF, sepsis, romatoid artrit, sistemik lupus eritematoz, inflamatuvar akciğer hastalıkları, miyokardiyal iskemi/reperfüzyon hasarı, ateroskleroz ve kanser gibi çok sayıda inflamatuvar ve kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde çok önemli bir rol oynayan çok fonksiyonlu bir sitokindir (36).

2.2.1. MIF Yapısı

İnsanlarda, farelerde ve sıçanlarda ~ 0.8 kb'lık tek bir MIF haberci RNA türü bulunur, Bu haberci RNA, 114-amino asitlik, glikozile olmayan bir proteini kodlar. MIF protozoa, bakteri ve memelileri de içine alan pek çok canlı türü tarafından ifade edilir. Tüm memeli (insan, fare, hamster ve sığır) MIF'leri ~% 90 homolojiye sahiptir

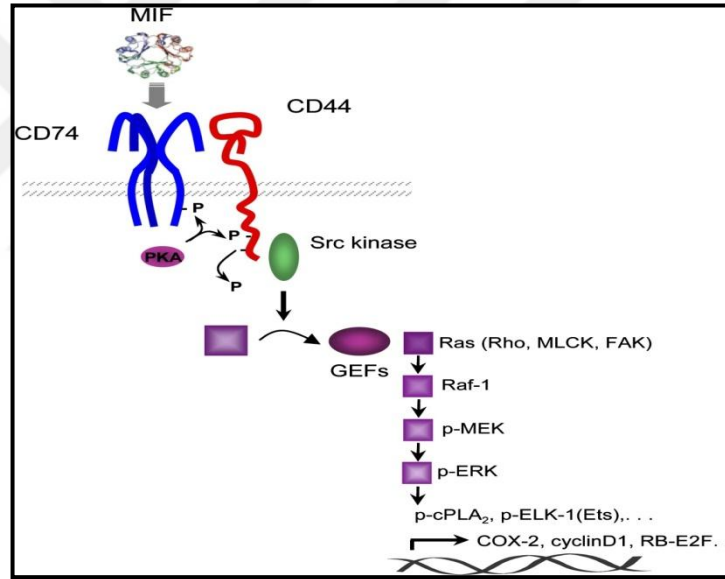
(6,37). MIF, monomerik molekül ağırlığı 12.5 kDa'dır, iki antiparalel alfa heliks ve altı beta tabaka molekülü sekonder yapısını oluşturur. Biyofiziksel çalışmalar, MIF'nin aktif bir formunun homotrimerik bir molekül olduğunu göstermiş, bir başka memeli proteini olan D-dopachrome-tautomerase enziminin topolojik homolojisine sahip olduğu belirtmiştir (5). MIF, sitoplazmik havuzlarda depolanır ve hücre dışı salınım için *de novo* sentez gerektirmez. Bu sebeple, MIF aracılı reaksiyonlar hızlı ve güçlüdür. MIF, mikrobiyal ürünler, proliferatif sinyaller, hipoksi gibi uyarılara cevap olarak salınır (5). MIF; interlökin-1 (IL-1), fibroblast büyüme faktörüne benzer şekilde, amino-terminal lider sekanstan yoksundur. Bu MIF'in hücrelerden, konvansiyonel olmayan bir protein-sekresyon yolu ile salındığını göstermektedir (6). MIF monosit, makrofaj, B- ve T-hücreleri gibi pek çok bağışıklık hücresi tarafından üretilir (38). MIF, bağışıklık sisteminin yanı sıra geniş bir doku dağılımına sahiptir. MIF, özellikle vücudun doğal ortamı ile doğrudan temas halinde olan akciğer, deri, epitel tabakası, gastrointestinal ve genitoüriner yolların hücreleri ve dokuları tarafından ifade edilir. MIF'nin diğer bir ayırt edici özelliği, endokrin sistemin çeşitli dokuları tarafından, özellikle stres tepkilerinde (hipotalamus, hipofiz bezi ve adrenal bezler) yer alan organlar tarafından yüksek düzeyde ifade edilmesidir (6). MIF embriyonik gelişim sırasında birçok doku ve organ tarafından üretilir. Farelerde akciğer gelişimine yardımcı olur. İnsanlarda MIF, amniyotik sıvıda bulunur, plasantanın fetal membranları, fetal ve neonatal akciğerlerde eksprese edilir. MIF'in dolaşımdaki seviyeleri yeni doğanlarda yetişkinlere göre 10 kat fazladır (39).

2.2.2. MIF Geni

MIF geni, kromozom 22 (22q11.2) üzerinde bulunmaktadır (40). İnsan MIF geninde bulunan iki adet polimorfizm hastalıklarla ilişkilidir. Bunlardan birisi sistemik juvenil artirit ile ilişkili olan tek nükleotid mutasyonudur (-173. Pozisyonda G' den C'e geçişi). Diğeri ise romatoid artirit ile ilişkili olan -794. pozisyonundaki CATT tetarnükleotid 5-8 kere tekrarıdır (6). MIF ekspresyonunun yüksek olması romatoid artiritte hastalık şiddeti ile ilişkilidir. Düşük MIF ekspresyonu ise inflamasyona ve eklem hasarına karşı koruma sağlar (41). Aynı zamanda, Güney Afrika'da tüberkülozun yüksek prevalansına katkıda bulunur (42).

2.2.3. MIF Reseptörü

Bir II tip transmembran proteini olan CD74 MIF'nin reseptörüdür. MIF, CD74'e bağlandığında CD74'ün fosforilasyonunu tetikler ve CD44 yardımıyla SRC ailesi reseptör olmayan tirozin kinazları aktive eder, bu da ekstrasellüler sinyal regüle edici kinaz 1/2 ERK1/2, mitojen aktive edici protein kinaz ailesi üyeleri (MAPKs) fosforilasyonuna sebep olur. MIF, CD74'e bağlandığında ERK1/ERK2 ve PI3K/Akt/SRC sinyalli reaksiyonlar zincirini aktive eder, bu da hücre proliferasyonu ve prostaglandin E2 (PGE2) üretimi artışına yol açar, apoptozu azaltır ve hücre göçünü artırır (43). Özellikle MIF-CD74 reseptör kompleksi, kemokin reseptörleri CXCR2 veya CXCR4 ile ilişkili olabilir. MIF, bu reseptörlere bağlanabilir ve ateroskleroz, kanser gibi farklı akut ve kronik inflamatuvar hastalıklarda inflamasyona aracılık eder (44).



Şekil 2.2. MIF reseptörü (44).

2.2.4. Enzimatik Aktivitesi

Fizyolojik ve patofizyolojik aktivitelerinin yanında MIF, Ddopachrome tautomeraz, fenilpiruvat tautomeraz, tiyol-protein oksidoredüktaz olarak işlev gören benzersiz biyokimyasal aktivitelere sahiptir (45). Yapılan çalışmalarla MIF'in D-dopakromu, 5,6-dihidroksi-2-karboksilik asite (DHICA) çevirebildiği gösterilmiştir (46). Ayrıca, MIF'nin katekolamin kaynaklı kinonların detoksifikasyonunda doğrudan bir rolü olduğu ve böylece sinir dokusunun korunmasına katkıda

bulunabileceği gösterilmiştir (45). Proliferasiyona bağlı gen (PAG) MIF ile ilişkilidir ve PAG'ın MIF'e bağlanması MIF'in D-dopakrom tautomeraz aktivitesini baskılayabildiği gösterilmiştir (47). Dolayısıyla tautomeraz aktif bölgesini hedeflemek, bir anti-inflamatuar tedavi yolu olabilir. Kleemann ve ark.ları, MIF'in Cys57 ve Cys60 rezidüleri arasında Cys-AlaLeu-Cys aktif bölgesi tarafından yönlendirilen oksidoredüktaz aktivitesini göstermişlerdir (48). MIF, insülin ve hidroksietil disülfür (HED) indirgenmesini kataliz eder (49). MIF'nin tiyol-protein oksidoredüktaz aktivitesinin, hücrel redoks homeostazı, redoks stresine karşı savunma, hücre proliferasyonu, farklılaşma, tümör, apoptoz inhibisyonu, monosit/makrofaj aktivasyonu ve MIF-bağlayıcı proteinlerin aktivitesinin modülasyonu üzerinde önemli etkileri gösterilmiştir (45,46,49).

2.2.5. Hormon Aktivitesi

MIF'nin kortikotrofik ve tirotrofik hücrelerin ACTH ve TSH salgı granüllerini lokalize eden bir hipofiz peptidi olduğu belirtilmiştir. MIF, toplam hipofiz içeriğinin yaklaşık % 0.5'ini oluşturur, bu oranı diğer hipofiz hormonları, ACTH (%0.2) ve prolaktin (%0.8) ile kıyaslanabilir. CRH, hipofiz hücrelerinden MIF ekspresyonunu ve salımını indükler. Endotoksemik farelerde MIF'nin hipofiz içeriğindeki düşüşünün ardından hipofizdeki MIF mRNA ekspresyonunun kademeli olarak yükseldiği görülmüştür. Hayvanlar, 3-4 saat strese maruz bırakıldıktan sonra dolaşımdaki MIF seviyelerinin ACTH ve glukokortikoid seviyelerindeki artışlara benzer şekilde arttığı görülmüştür. MIF, hipotalamik-hipofiz-adrenal aksının tüm seviyelerinde üretilir. MIF proteini ve mRNA'sı hipotalamus nöronlarında bulunur. Ayrıca MIF, adrenal bezin korteksinde ifade edilir. MIF'nin glukokortikoid hormonların anti-inflamatuar ve immünosupresif etkilerine karşı bir regülatör olduğu bulunmuştur. MIF, insan plazmasında 2-10 ng/ml arasındaki seviyelerde bulunur ve nöroendokrin kontrol altında diurnal bir biçimde salgılanır. Plazmadaki MIF sirkadiyen dalgalanması glukokortikoid düzeylerini yakından takip eder. Yüksek MIF seviyeleri, kortizolün kan basıncının düzenlenmesi ile ilgili fizyolojik etkilerini bağışıklık fonksiyonu üzerindeki etkisinden ayırabilir ve böylece normal bağışıklık tepkisini koruyabilir. Stres, şiddetli travma veya hayatı tehdit eden enfeksiyon sırasında, glukokortikoidler yüksek seviyelerde bulunur. Bu durumda MIF'in

glukokortikoidler üzerindeki antagonistik etkileri muhtemelen vücudun uygun bir bağışıklık cevabı sürdürmesini sağlar (50,51).

2.2.6. MIF'in Sinyal Yolakları

MIF'in biyolojik ve katalitik aktivitelerine bakıldığında hücre içi sinyal iletim yolları ile ilişkili olduğu görülmektedir.

MIF'in CD74'e bağlanması MAPK yolağı ile ilişkisi olduğunu ortaya koyar. CD44, MIF-CD74 arasındaki sinyal iletimi için bir yardımcı protein olarak görev görür. MIF-CD74-CD44 kompleksi, tirozin kinazlar olan Src, MAPK ailesinin ERK1/2 üyelerini aktive eder ve fosforilasyonunu sağlar (45). Aktive olmuş ERK1/2, sitozolik proteinlerin ve önemli bir proinflamatuvar kaskad bileşeni olan sitoplazmik fosfolipaz A2'nin (cPLA2) fosforilasyonuna sebep olur. Araşidonik asit (AA) cPLA2'nin ürünüdür ve prostoglandinler-lökotrienlerin sentezinin öncüsüdür (52). MIF'nin NO ile indüklenen p53 hücre içi birikimini ve dolayısıyla p53 aracılı apoptozu inhibe ettiği bulunmuştur. P53'ün MIF tarafından inhibisyonu için ERK1/ERK2, PLA2, siklooksijenaz 2 (COX2) ve PGE2'nin seri aktivasyonu gereklidir (12). MIF-bağımlı ERK1/2 aktivasyonu, Elk-1 ve ETS ailesi transkripsiyon faktörleri üzerine etki ederek TLR4 ekspresyonunu artırır ve maksimum siklin D1 ekspresyonunu sağlar. Siklin D1, mezenkimal hücrelerinde sikline bağlı kinaz aktivasyonuna, Retinoblastoma protein (RB) fosforilasyonuna ve adezyon ve/veya büyüme faktörü stimülasyonuna yol açar. MIF, CD74'e bağlandığında PI3K/Akt/SRC sinyal kaskadını aktive eder, bu da hücrede çok sayıda sinyal cevabına yol açar. Ancak bunların en önemlisi, AKT aktivasyonudur. AKT aktivasyonu, hücrenin pro-apoptotik proteinler olan BAD ve BAX'ın fosforilasyonu ve inaktivasyonu ile apoptoza direnç göstermesine izin veren bir sinyal sağlar. Lenfoid hücrelerde, MIF ile bağlı AKT aktivasyonu, NF-κB fonksiyonu artmasını sağlar, bu da Bcl-xL ve Bcl-2 proteinlerinin ekspresyonunun artmasına ve apoptozun baskılanmasına yol açar. Ayrıca MIF, CXCR2 ve CXCR4'ün her ikisine de doğrudan bağlanır ve CXCR2/CD74 sinyal komplekslerini oluşturarak lökosit kemotaksisine yol açar (44). Hem intrasellüler hem de endositoz yoluyla alınan ekstrasellüler MIF'in, COP9 sinyalozum (CSN5) alt birimi 5 olarak da bilinen Jun aktivasyon

domain bağlayıcı protein 1'e (Jab1) bağlandığı ve JAB1'in aktivitelerini düzenleyebildiği görülmüştür. MIF, JAB1'e bağlandığında aktivatör protein-1 (AP-1) aktivitesinin JAB1 tarafından uyarılmasını antagonize eder. MIF, hem JAB1 ile indüklenen c-Jun-N-terminal kinaz (JNK) aktivitesini hem de AP-1 transkripsiyonel aktivasyonunu inhibe eder. JAB1, hücre döngüsünün durdurulmasını engeller ve sikline bağlı kinaz inhibitörünün, p27^{Kip1} degradasyonunu artırır. Ayrıca MIF, p27^{Kip1} proteininin stabilizasyonu yoluyla Jab1'e bağlı hücre döngüsü regülasyonunu antagonize eder (53). Öte yandan, JAB1, tümör baskılayıcı p53'ün degradasyonunu artırır (54).

Sitokinler hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol alırlar. Bazı sitokinlerin hücre tipine, spesifik hücrel aktivasyon ve fizyolojik şartlara bağlı olarak apoptozu ve hücre çoğalmasını hem destekleyebildiği hem de inhibe edebildiği gösterilmiştir. Çoğu uyaran tarafından uyarılan apoptozun MIF ile inhibisyonu % 20 - 60 arasında değişir. Ancak redoks stresile indüklenen apoptozun, daha yüksek bir inhibisyona uğradığı görülmüştür. Hudson ve diğ. açlık ve östradiol tedavisine bağlı fibroblastların apoptozunun inhibisyonunda MIF'in %20 oranında etkili olduğunu buna karşın MIF'in NO ile indüklenen makrofajların apoptozunun inhibisyonunda %70'e kadar daha fazla etkili olduğunu göstermişlerdir. Bu sebeple MIF'in apoptoz baskılanması üzerindeki en şiddetli etkisi oksidatif (veya nitrosatif) stresten kaynaklandığında gözlenmektedir (55). Jab1/CSN5 birkaç steroid hormon reseptörü (SHRs) için bir koaktivatör olarak işlev gördüğünden, MIF'in Jab1/CSN5 – SHR etkileşimlerini değiştirebileceği düşünülmüştür. MIF-JAB1 etkileşiminin inflamatuvar süreç sırasında kritik bir rol oynadığı görülmüş ve özellikle MIF-JAB1 kompleksi aterosklerotik plak dokusunda ve hipofiz tümörlerinde gözlemlenmiştir (56).

2.2.7. MIF ve Glikoz Metabolizması

MIF, glikoz metabolizmasının çeşitli seviyelerinde etkiler gösterir, hem insülin üretimini hem de insülinin hedef hücrelerini etkiler (57). MIF proteini, Langerhans adacıkları β hücrelerinin insülin içeren granülleri içinde bulunur. Bununla birlikte, insüline ek olarak, beta hücrelerinin salgı granülleri, MIF dahil olmak üzere en az 50 polipeptit içerir (58). Yüksek derecede farklılaşmış, insülin

salgılayan hücre hattı INS-1’de MIF’in ifade edildiği, glikoz konsantrasyonu ve zamana bağımlı bir şekilde up-regüle edildiği belirtilmiştir. Bu etki, GLUT2 geni veya MIF mRNA’sının stabilizasyonu gibi transkripsiyonel olarak regüle edilebilir (59). MIF, glikoz stimülasyonuna cevap olarak adacıklardan insülin sekresyonunu artırır, insülin de MIF ve glikoz seviyelerinin azalmasına yol açar. Pankreastaki adacıkların anti-MIF ile muamele edilmesi ile insülin sekresyonu azaltmıştır. Buna ek olarak sıçan MIF’inin sıçan pankreatik hücrelerine ilavesi ile glikoz indüklü insülin sekresyonu artmıştır. Bu bilgiler bize MIF’in β hücrelerinde üretilen ve insülin salınımında otokrin regülatuar görev gören bir salgı ürünü olduğunu göstermektedir. MIF $^{-/-}$ farelerde 6 aylıkken obezite, glikoz intoleransı ve hipergliseminin gelişimi görülmüştür (58).

2.2.8. MIF ve İnsülin Direnci

Obezite ve insülin direnci kronik inflamasyon ile ilişkilidir. Adipoz dokunun kendisi, proinflamatuvar sitokinler, akut faz reaktanları ve prokoagülan faktörler (örn., IL-6, serum amiloid A [SAA], CRP, fibrinojen) üretimi yoluyla obezite ile ilişkili inflamasyonda aktif bir role sahip olarak, böylece insülin direnci ve ateroskleroz patogenezinin katılabilir (60). İnsülin direncinin patogenezindeki ilk olay, makrofajların beyaz adipoz dokuya sızmasıdır. Aktif olan makrofajlar sitokin salgılayarak düşük dereceli adipoz doku inflamasyonunun gelişmesine sebep olur, adipositlerin insülin duyarlılığını bozabilir ve periferik monositlerin ve makrofajların yağ dokusuna sızmalarını ve aktivasyonunu uyarabilir. Bu yükseltici sinyaller, adipositin insülin sinyal yolunu giderek bozabilmekte ve sonunda sistemik insülin direncine sebep olmaktadır.

Proinflamatuvar sitokin MIF inflamatuvar kaskadın tepesinde bulunduğu için esansiyeldir. MIF geninin inhibisyonu, glikoz intoleransı, insülin direnci ve ateroskleroz gelişimini engeller. Daha önemlisi, MIF eksikliği beyaz adipoz dokuya makrofaj sızmasını ve obezite etkilemeden hem dokuya özgü hem de sistemik kronik inflamasyonu azaltır. Böylece seçici olarak beyaz dokunun insülin duyarlılığını artırır. Bununla birlikte, MIF $^{-/-}$ farelerde şiddetli inflamasyon (LPS ile indüklenen endotoksemi) şartlarında; beyaz adipoz dokuya glikoz alımı artarken, iskelet kasına

glikoz alımı ve karaciğer glikoz üretiminin etkilenmediği bulunmuştur. Son epidemiyolojik verilere göre MIF'ın insanlarda insülin direnci gelişiminde rolünü olduğu tespit edilmiştir. Herder ve arkadaşları, sistemik MIF konsantrasyonları ile bozulmuş glikoz toleransı ve Tip 2 DM arasında güçlü pozitif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, MIF genotipinin (rs1007888CC) dolaşımında artmış MIF seviyesi ve Tip 2 DM riskinde artış ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Metabolik ve bağışıklık cevap yolları bağlantılıdır, bu sebeple inflamatuvar risk faktörlerinin düzenlenmesi genellikle metabolik risk faktörleriyle karşılıklı olarak etkileşim halindedir (61). Aslında MIF, insülinle tetiklenen sinyal yolundaki her adımı etkileyebilir, kaskad üzerinde gözlenen etki, hücre tipine, patolojiye ve incelenen model sistemine (*in vitro* veya *in vivo*) bağlı olarak değişkenlik gösterir. MIF, hücre tipine bağlı olarak insülinle tetiklenen sinyali uyarır veya inhibe eder.

Miyositler: MIF, AMPK aracılı GLUT4'nün membrana göç etmesi yoluyla glikoz alımını artırarak ve 6-fosfrukto-2-kinaz (PFK-2) aracılı glikoliz indüklenmesini sağlayarak insülin ile tetiklenen glikoz katabolizmasını uyarır.

Adipositler: MIF, Glut4 mRNA ekspresyonunu, insülin reseptörü substrat-1 (IRS-1), p85 ve Akt'ın fosforilasyonunu inhibe ederek insülinin doğrudan reseptörüne bağlanmasıyla başlatılan sinyali engeller veya pro-inflamatuvar sitokinlerin (IL-6, IL-1 β , TNF- α) uyarılmasıyla insülinle tetiklenen sinyal ileti dolaylı olarak inhibe edilmektedir.

Astrositler: MIF; ERK fosforilasyonu, kolesterol 25-hidroksilaz ve fosfolipaz A2 grup IIA'nın aktivasyonu ve ardından glikoz alımının inhibisyonu yoluyla insülin direncini artırır.

Nöronlar: MIF, IRS1 ve Akt fosforilasyonunun inhibisyonu yoluyla insülin direncini uyarır (58).

2.2.9. MIF Regülasyonunda İnsülin Rölü

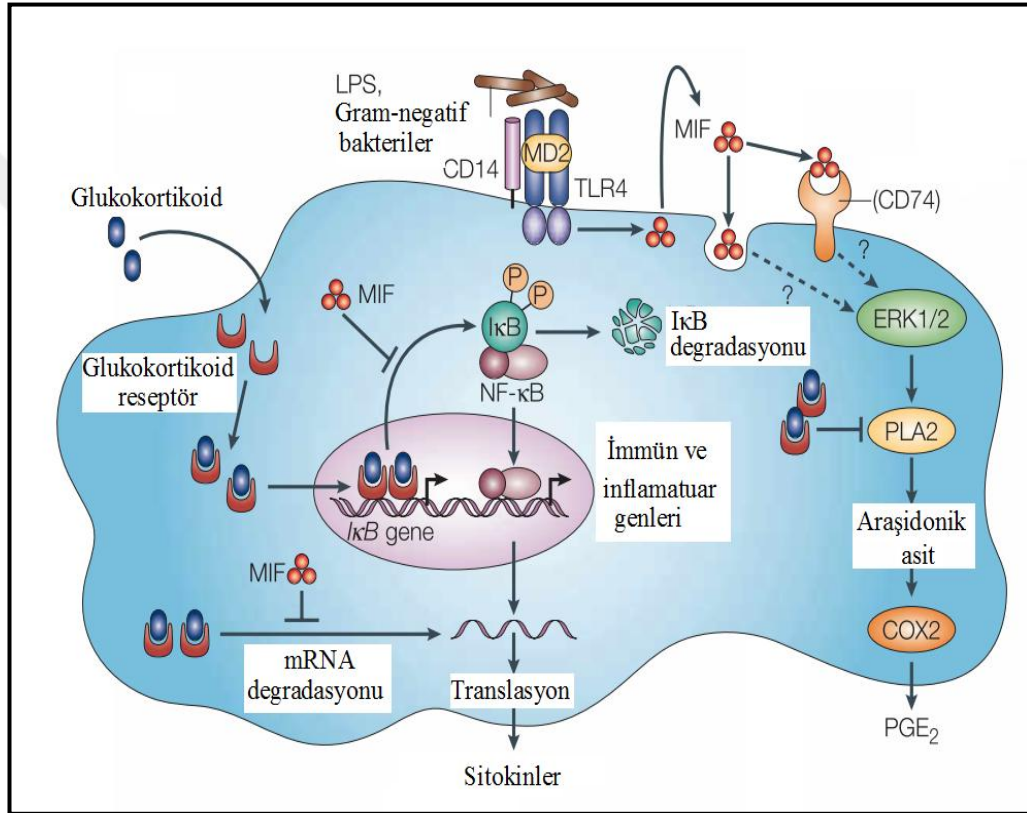
İnflamatuvar ve insülin sinyal yolları arasında çapraz iletişim vardır. Bu etki insülinin bir anti-inflamatuvar hormon ve makro besin alımının proinflamatuvar

olması ile ilişkilendirilebilir. İnsülinin, nükleer faktör (NF)- κ B, Egr-1, MIF, aktive edici protein-1 (AP-1) ve inflamasyona aracılık eden ilgili genler gibi bazı proinflamatuvar transkripsiyon faktörlerini baskıladığı gösterilmiştir (15). MIF, insülinin immünosupresif etkisi için hedef olarak tanımlanan çok yönlü proinflamatuvar sitokindir. Hiperinsülinemi, insan lenfositlerinden MIF sekresyonundaki azalmaya eşlik eder. İnsülin beta hücrelerinde MIF ekspresyonunu, glikoz mevcudiyeti aracılığıyla dolaylı olarak modüle edebilir (58). Antidiyabetik ilaç metforminin, obez bireylerde MIF'nin plazma konsantrasyonlarında bir azalmaya sebep olur (62). İnsülin etkisinin bozulması insülin direncine yol açar, bu da proinflamatuvar transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna ve ilgili genlerin ekspresyonunda artışa sebep olur (15).

2.2.10. MIF ve İnflamasyon

MIF, inflamasyonu tetikleyen bir sitokindir. MIF üretildiğinde, makrofajlardan TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-8 ve IL-12 gibi diğer sitokinlerin salınmasını uyararak güçlü bir inflamasyon cevabı oluşmasını sağlamaktadır. Ayrıca MIF kendisi de dahil olmak üzere, nitrik oksit ve siklooksijenaz 2 (COX-2) gibi birkaç pro-inflamatuvar molekülün ekspresyonunu düzenlemektedir. Böylece oluşan inflamatuvar ortam COX-2 üretiminde önemli bir artışa yol açmaktadır. COX-2 ise inflamatuvar aktiviteye sahip olan prostaglandin 2 (PGE2) üretimini artırarak inflamatuvar yanıtı pozitif geri bildirim üretmektedir (45). MIF'in salınımı diğer sitokinlerin aksine glukokortikoidler tarafından tetiklenir (63). Bu indüksiyon çift fazlı ve konsantrasyona bağlıdır. Çoğunlukla düşük fizyolojik konsantrasyonlarda 10^{-11} - 10^{-9} M deksametazon gibi gerçekleşir (64). Glukokortikoidler, inflamasyonu düzenlemek için stres veya yaralanmaya yanıt olarak sentezlenirler. MIF ise adrenal bezler tarafından üretilir ve glukokortikoid hormonların anti-inflamatuvar ve immünosupresif etkilerine karşı koyan bir hipofiz hormonu olarak rol oynar (45). Glukokortikoid ile indüklenen lösin fermuarının aşağı akışı ile etkileşime girerek inflamasyon ve bağışıklık tepkisinin aktivasyonunu gerçekleştirir (63). Glukokortikoid ile indüklenen anti-inflamatuvar olan MKP-1'in ekspresyonu MIF tarafından inhibe edilir, MKP-1, ERK, JNK ve p38 MAPK aktivitelerinin negatif

regülatörü olarak işlev görür. p38, JNK ve ERK, pro-inflamatuar sitokin ekspresyonunu düzenler. Ayrıca çok sayıda inflamatuvar ve bağışıklık geninin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörü NF- κ B, glukokortikoidler tarafından inhibe edilir. Glukokortikoidlerin I κ B α 'nın sitoplazmik düzeylerini arttırdığı gösterilmiştir, I κ B α , sitoplazmada NF- κ B'yi yakalayarak nükleer translokasyonunu ve NF- κ B duyarlı genlerin transaktivasyonunu önler. MIF'nin hidrokortizon kaynaklı I κ B α artışını inhibe ettiği ve MIF'in transkripsiyonel düzeyde baskın etkisinin olduğu gösterilmiştir (64).



Şekil 2.3. MIF ve glukokortikoidlerin etkileşim mekanizması (6).

MIF, ETS ailesi transkripsiyon faktörleri üzerine etki ederek TLR4 ekspresyonunu artırır. TLR4, Gram-negatif bakteri hücre duvarlarının ana bileşeni olan lipopolisakkariti (LPS) tanır. TLR4, NF- κ B gibi bir sinyal yolunu aktive ederek bağışıklık ve inflamatuvar cevaplarının artmasına sebep olur (65). Bu sebeple MIF, endotoksin içeren bakterilerin tespit edilmesini kolaylaştırır, makrofajlar gibi antimikrobiyal savunma sisteminde bulunan hücrelerin, invaziv bakterilere daha hızlı cevap vermesini sağlar. Bu veriler MIF'in özellikle vücudun doğal ortamı ile

doğrudan temas halinde olan hücreler ve dokular tarafından ifade edilmesi için bir gerekçe sağlar (6).

2.3. Kronik İnflamasyon ve Kanser

İnflamasyon ve kanser arasındaki ilişki, 1863'te Rudolf Ludwig Carl Virchow tarafından tanımlanmıştır. Virchow tümör gelişimine uygun ortam sağlayan inflamatuvar süreci tanımlamış ve infiltrate olmuş bağışıklık hücrelerinin inflamasyonlu dokuda, kanser lezyonlarının başladığı yeri yansıttığını belirtmiştir (66,67). Örneğin, *Helicobacter* gastrit ve mide kanseri, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve kolon karsinomu arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (7). Hücre proliferasyonu ve doku onarımına ek olarak, inflamasyon ölü hücreleri ve diğer kalıntıları temizlemekten de sorumludur. Bu tür fizyolojik inflamatuvar cevap kendi kendini sınırlar ve saldırgan ajan çıkarıldıktan veya onarım tamamlandıktan sonra sona erer. Bununla birlikte, kontrolsüz inflamasyon kronik hale gelebilir, böylece sürekli üretilen büyüme faktörlerinin yanı sıra çoğalmakta olan epiteliumun DNA'sı ile etkileşen ve kalıcı genomik değişikliklere sebep olan reaktif oksijen ve azot türlerinin üretilmesini sağlar. Bu durum çevredeki dokularda tümör metastazına sebep olur ve malign büyümeyi tetikler. Tümör başlangıcına ek olarak, inflamasyon, tümör gelişimi, malign dönüşüm ve metastatik yayılımda kritik bir rol oynar. Birçok farklı inflamatuvar araçlar, sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri, serbest radikaller, prostaglandinler ve proteolitik enzimler dahil olmak üzere tümör gelişimini uyaramaktadır. Bu faktörler makrofajlar, nötrofiller, lenfositler, dendritik hücreler, doğal öldürücü hücreler, fibroblastlar, adipositler ve endotel hücreleri gibi tümör mikroçevresinde bulunan çeşitli hücreler ve kanser hücrelerinin kendileri tarafından üretilmektedir (67).

Kanserin çevresel sebeplerinden ve risk faktörlerinden birçoğu, kronik inflamasyon ile ilişkilidir. Kanserlerin %20'si kronik enfeksiyonlara bağlanabilir, %30'u tütün içimine, silika ve asbest gibi solunan kirlleticilere ve %35'i diyet faktörleri (%20'sinin sebebi obezite) ile ilişkilendirilmektedir (68).

2.4. MIF ve Kanser

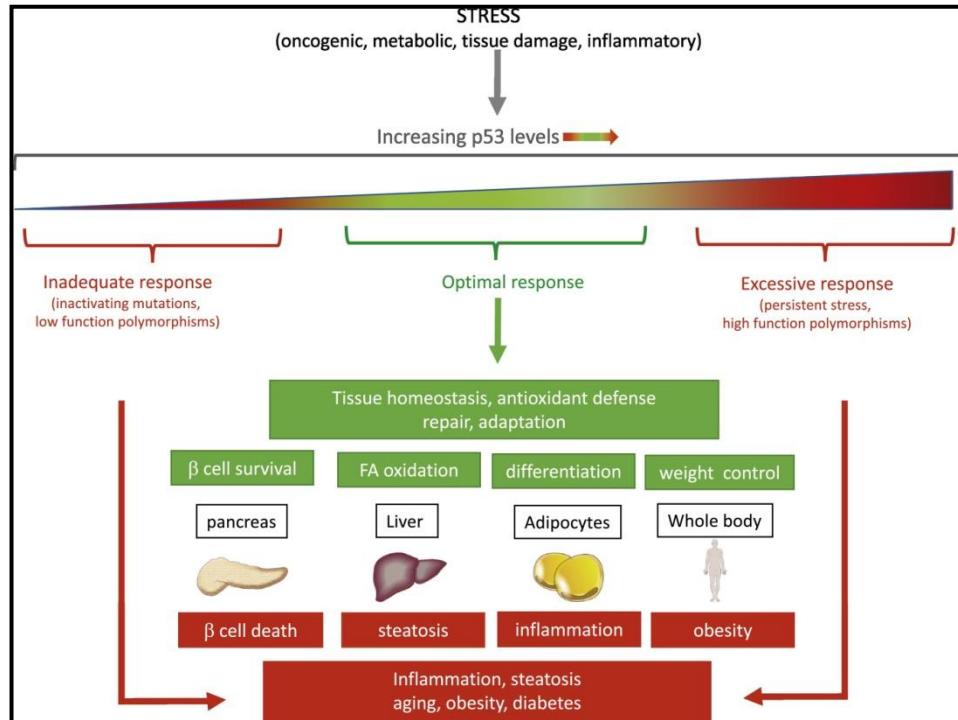
MIF'in benzersiz biyolojik aktivitelere sahip olması, özellikle anjiyogenezin ve hücre yaşlanmasındaki rolleri, kronik inflamasyon ve kanser gelişimi açısından önemli olduğunu düşündürmektedir (69). Çeşitli insan kanseri tiplerinde dikkat çekici bir MIF ifadesi bulunmuştur; bunlar arasında: özofagusun yassı hücreli karsinomu, servikal kanser, meme, prostat, karaciğer, akciğer, glioblastom, nöroblastom, kolon ve kolorektal kanser, mesane, yumurtalık, endometriyum, mide ve pankreas, renal karsinomlar ve lenfositik lösemi B hücreleri vardır (45). Rekombinant MIF (rMIF), hücre proliferasyonunu ve göçünü hızlandırır ve MIF'in antikorlar veya gen delesyonu tarafından bloke edilmesi, proliferasyonun azalmasına ve tümör büyümesinin ve anjiyogenezin inhibisyonuna yol açar. MIF'nin protümörjenik aktiviteleri, MIF reseptörü CD74'ü ve fosfoinositid3-kinaz (PI3K) / AKT / SRC sinyal transdüksiyon kaskadının uyarılmasını içerir (70). Akt aktivasyonu, hücreye önemli bir hayatta kalma sinyali sağlayarak apoptoza direnme imkanı verir. MIF ile indüklenen Akt aktivasyonunun antiapoptotik fonksiyonu, hücrenin proapoptotik proteinler olan BAD ve Foxo3a'nın fosforilasyonu ve inaktivasyonu yolu ile aracılık eder. Akt tarafından fosforile edilen BAD artık mitokondriyal apoptoz yolu üzerinde Bcl-2 veya Bcl-xL'nin anti-apoptotik fonksiyonunu inhibe edemez ve hücrenin hayatta kalmasını teşvik eder. Akt tarafından hücrenin hayatta kalmasının kontrolünün başka bir dolaylı yolu, Foxo ile denetlenen Fas ligand veya Bim gibi proapoptotik genlerin ifadesinin ortadan kaldırılmasıyla oluşturulur (71). CD74 çeşitli kanser hücrelerinde (B lenfoması, mide karsinomu veya prostat kanseri) eksprese edilir (70). MIF ve MIF bağlayıcı reseptör CD74'ün inhibisyonu prostat kanseri invazyonunu zayıflatır (7). CD44, MIF-CD74 arasındaki sinyal iletimi için bir yardımcı protein olarak görev görür (70). CD74/CD44 kompleksleri, protümörjenik MIF sinyal iletimi süreçlerinde rol oynar. MIF sinyal reseptörü CD44'ün uyarılması hücreleri aktive etmekte ve inflamatuvar cevabı artırmaktadır. Ancak CD44'ün uzun süreli aktivasyonu malignitede önemli rol oynar. Artmış CD44 aktivasyonunun meme kanser hücresi invazyonuna yol açtığı gösterilmiştir. Sonuç olarak CD44'ün aşırı ekspresyon ve aktivasyonunun metastatik kanser hücrelerinin uzak bölgelere göçünde önemli rol oynadığı söylenebilir (7). MIF, CD74'e bağlandığında ERK1/2'i aktive ederek siklin D1 ekspresyonunu sağlar ve proliferatif aktiviteyi artırır (72). MIF, sürekli bir ERK1/2 MAPK aktivasyonu yoluyla

onkojenik protein Ras'ın etkilerini yansıtabilir. Ras mutasyonları, birçok tümörde yüksek yüzdelerde meydana gelir ve sürekli MAPK aktivasyonu, bu sürecin tipik bir özelliğidir. MIF'nin tümöre özgü doğal öldürücü NK ve Sitotoksik T lenfositleri (CTL) hücrel aktivitesini inhibe ederek antikanser bağışıklığı üzerinde etkisi olduğu gösterilmiştir (73). MIF'in insan kolon karsinom hücrelerinde CXCR4'e bağlandığında, invazyon ve metastaz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (72). Ayrıca, MIF p53'e bağımlı gen ekspresyonunu inhibe eder ve apoptozu baskılar. Tümör hücreleri tarafından ifade edilen diğer büyüme faktörleri gibi MIF salgılanmasının da, otokrin amplifikasyon ile tümör hücresi çoğalmasını arttırdığı ifade edilmiştir (55,70). Ayrıca, MIF üretimi, sıklıkla tümör gelişimi ve ilerlemesi ile ilişkili olan hipoksik şartlarda up-regüle edilir (73).

2.5. p53 Proteini

p53 proteini “genomun koruyucusu” olarak bilinir, çok sayıda genin ekspresyonunu düzenleyen bir transkripsiyon faktörü olarak işlev görür ve hücre döngüsünün kontrol edilmesinde önemli bir rol oynar. Normal hücrelerde p53, p53ün degradasyonunu indükleyerek fonksiyonunu baskılayan Mdm2 ile bağlıdır. DNA sentezi sırasında yanlış baz eşleşmesi meydana geldiğinde, p53 fosforile edilir, Mdm2'den ayrılır ve hücre döngüsünü durdurmak ve DNA hatasını onarma işlevini yerine getirir. Onarım tamamlandıktan sonra p53 degradasyona uğrar ve döngünün devamı sonucu hücre bölünmesi gerçekleşir (45). Başlangıçta p53'ün tümör gelişimini önleme yeteneği, hücre büyümesini engelleyen yanıtlara sebep olmasından ötürü kaynaklanmaktadır (16). Son çalışmalar, glikoliz, oksidatif fosforilasyon ve amino asit metabolizması gibi metabolik yolları düzenlemede p53'ün rolünü ortaya çıkarmıştır. Metabolizma ve p53 ile ilgili yapılan çalışmalar p53'ün tümör baskılayıcı rolüne odaklanmıştır çünkü hücrel metabolik devrelerin yeniden programlanması kanserin ilerlemesi için gereklidir. Hücreler çoğalabilmek için, biyolojik içeriklerini ikiye katlar ve bu sebeple katabolik metabolizmadan anabolik metabolizmaya geçmeleri gerekir. Kanser hücrelerinde en belirgin metabolik değişiklik, "Warburg etkisi"dir. Warburg etkisinde glikoliz hızı artar. Artan glikoliz oranı sebebiyle, glikolitik yoldaki ara maddeler, hücre çoğalması için gerekli olan anabolik yollara, esas olarak nükleotid ve lipid sentezine götürülür. Glikoz yoksunluğunun ardından,

p53 aktive olur ve kreatin sentezinde rol oynayan bir enzim olan guanidinoasetat N-metiltransferazın (GAMT) ekspresyonunu indükler. GAMT'nin bu p53'e bağımlı indüksiyonu, 24 saatlik açlık dönemini takiben fare karaciğerinde ve glikozdan yoksun kültürlenmiş insan hücrelerinde artan yağ asidi oksidasyonuna (FAO) yol açar, ancak artan FAO için mekanizma hala bilinmemektedir. Dolayısıyla, besinlerin yokluğunda p53, FAO'yu glikolize alternatif bir enerji kaynağı olarak artırır. Bu sebeple FAO, glikolizin inhibisyonuna ve dolayısıyla anabolizmanın azalmasına yol açar. Sonuç olarak, dengeyi lipid katabolizmasına doğru kayar ve p53 tümör ilerlemesini baskılayabilir (74). p53'ün tümörü baskılayıcı özelliğinin metabolizma ile ilişkili genlerin regülasyonu yoluyla ortaya çıktığı ve dolayısıyla bu hipotezi desteklediği öne sürülmektedir. p53'ün *in vivo* metabolik rolü karmaşıktır ve sinyal bağımlıdır. p53, metabolik strese cevap olarak indüklenebilir ve bazı şartlar altında p53 ekspresyonu, homeostazın korunmasına yardımcı olabilirken, sürekli p53 aktivitesi, obezite ve diğer metabolik sendrom belirteçlerinin gelişimi ile bağlantılıdır. p53'ün hücre dışı aktiviteleri, bazı organlarda p53'ün tüm vücut metabolizmasını sistematik olarak etkilemesine izin verebilir. Bu sebeple p53 indüksiyonunun sonucu, hangi dokunun strese maruz kaldığına ve bir p53 yanıtının aktivasyonuna bağlı olarak değişecektir (16).



Şekil 2.4. p53'ün metabolik etkisi (16).

2.5.1. p53 ve Obezite

p53'ün metabolik homeostaza katılımı, besin yoksunluğu veya aşırı bolluk durumlarına metabolik adaptasyonu içerir. Birkaç fare modelinden elde edilen veriler, kahverengi adipoz dokunun (BAT) normal gelişimi için p53'ün gerekli olmadığını ve yalnızca kronik olarak gerekli hale geldiğini göstermektedir, bu çalışmalar, açlık altında olduğu kadar hiperkalorik uyarılar üzerinde p53 sinyali yolunun önemli bir rolünü önermektedir. Besin yoksunluğu derin bir stres uyarıcısı olduğundan p53'ün aktif hale getirilmesi ve akut besin kıtlığı durumlarına uyum sağlamak için gerekli olan yolları koordine etmesi mümkün görünmektedir. Öte yandan, kronik besin bolluğu, obeziteye ve insülin direnci gelişimine katkıda bulunan kronik p53 sinyalinin yükselmesine sebep olabilir (75). Yağ dokusunda p53 ekspresyonu, insülin direncinin gelişmesinde önemli bir rol oynar. Yapılan bir çalışmada aşırı kalori alımının, tip 2 diyabet benzeri hastalığı olan farelerin yağ dokusunda oksidatif stres birikimine yol açtığı ve p53'ün artmış ekspresyonu teşvik ettiğini bulunmuştur. Yağ dokusunda p53 aktivitesinin inhibisyonu, yaşlanma benzeri değişiklikleri önemli ölçüde iyileştirmiş, proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azaltmış ve tip 2 diyabet benzeri hastalığı olan farelerde insülin direncini iyileştirmiştir. Yağ dokusunda p53'ün upregüle olması ise, insülin direncine yol açan bir inflamatuvar tepkiye sebep olmuştur. Bu çalışmanın sonuçları, adipoz dokusundaki p53'ün artmış oksidatif stres kaynaklı nükleer transkripsiyon faktörü (NF) - κ B aktivasyonuna inflamatuvar sitokinlerin indüksiyonuna yol açabileceğini ve sonunda farelerde insülin direncinin gelişimini teşvik edebileceğini ileri sürmüştür (76). Yağ dokudaki MDM2 ekspresyon seviyeleri, lipogenezin (yani FASN ve ADIPOQ) gen belirteçleri ve insülin duyarlılığı (yani IRS1 ve GLUT4) ile pozitif olarak ilişkilendirilmiş ve obezite ile birlikte azalmıştır. Artan p53 seviyeleri p53 aracılı hücre ölümüne yol açsa da, MDM2'nin p53'ü düşük seviyelerde tutması ve çoğalan ve hareketsiz hücrelerde hücre ölümünü indüklemeye kabiliyetini bastırması gerekir. Omental yağ depolarında MDM2 ve p53'ün zıt ekspresyon modeli adipogenez sırasında obezite ile ilişkili modülasyonunu vurgular (77,78). Metabolik sendrom gelişimine katkısının yanı sıra obezite, kanser ile güçlü bir ilişki göstermektedir (79). Bu sebeple, hücresel metabolizmanın düzenlenmesine katkıda bulunan tümör baskılayıcılar, obezite ve kanseri birbirine bağlayan önemli bir bağlantı sunabilir. Bu, metabolik hastalıkları tedavi etmek için farmakolojik

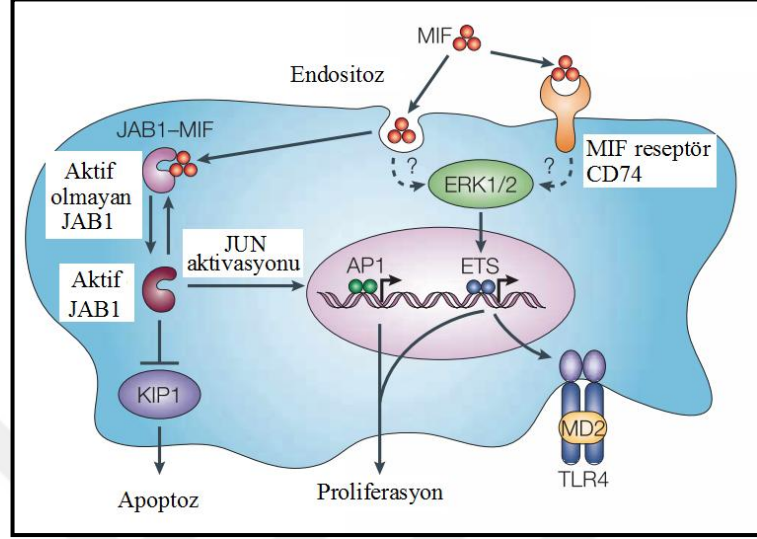
hedeflerin araştırılmasında özellikle önemlidir, çünkü p53'ün doğrudan manipülasyonu her zaman geniş aşağı akış etkilerine veya azaltılmış tümör baskılamasına yol açabilirken, terapötik olarak tek aşağı akış faktörlerini hedeflemek, daha odaklı tedavi sonuçlarına sebep olabilir (75).

2.5.2. MIF ve p53

MIF tedavisi p53 aktivitesinin engelleyebilmiştir. MIF'nin, hücrel ölümü ve hücrelerin genotoksik strese tepkisi ile ilişkili olan bir büyüme inhibisyon yolunun üstesinden gelme kabiliyeti sebebiyle önemli bir fizyolojik role sahip olduğu düşünülmektedir. İnflamasyon bölgesinde, MIF, T hücrelerinden ve makrofajlardan salgınır. MIF'nin yüksek lokal konsantrasyonu T hücresi aktivasyonuna katkıda bulunur ve makrofajların antimikrobiyal aktivitesini artırır. Aktif olan makrofajlar, NO ve diğer oksit radikallerini serbest bırakır. Bununla birlikte, NO makrofaj apoptozunu indükleyebilir. MIF, p53 yanıtını kısmen olumsuz etkileyebildiği ve makrofajları NO ile indüklenen apoptozdan koruyabildiği için bu faktör normalde makrofajları istilacı organizmaları öldürmek için kullandıkları yıkıcı araçlardan korumada etkili olabilir. İnflamatuvar bölgesi, yüksek hücre ölümü oranları ve komşu hücrelerde telafi edici çoğalma ile karakterizedir. Aynı zamanda, p53'ün yukarı düzenlenmesi sıklıkla gözlenir. MIF, p53 aktivitesini engelleyerek, hasar tepkisini sınırlamaya ve dolayısıyla konakçı hücrelerin kaybını sınırlamaya ve doku onarımı için lokal hücre proliferasyonuna izin vermeye yardımcı olabilmektedir. İnflamatuvar durumun sona ermesinden sonra, MIF'nin lokal seviyeleri azalır ve normal hasar cevabının geri vermesine izin verir (10).

p53 fonksiyonu, en az üç indirgenmiş sistein kalıntısına bağlı olan p53'ün çinko aracılı sekansa spesifik DNA bağlanma aktivitesine dayanır. Bu sisteinlerin oksidasyonu, p53 DNA bağlanma alanında konformasyonel değişikliklere yol açabilir, bu da DNA bağlanma aktivitesinin bozulmasına sebep olur. Böylece, p53 aktivitesi redoks tabanlı mekanizmalarla doğrudan ve güçlü bir şekilde düzenlenir. MIF, p53'ün sistein tiyol gruplarının indirgenmesini ve redoks stresi sırasında sistein oksidasyonundan korumasını sağlayabilmektedir (55). MIF'nin p53 ile doğrudan etkileşime girdiği *in vivo* olarak gösterilmiştir (69). İki ek kanıt MIF'nin p53

aktivitesinin redoks aracılı düzenlenebileceğini desteklemektedir. İlki MIF, transkripsiyonel koaktivatör JAB1/CSN5 ile etkileşime girer ve JAB1 yoluyla hücre döngüsünü değiştirir (55).



Şekil 2.5. MIF'in sinyal yolları (6).

Ayrıca MIF, p53 ve Mdm2 arasındaki bağlantının stabilizasyonu yoluyla p53 fonksiyonunu inhibe eder, p53'ün fosforile edilmemesini sağlayarak serbest hale gelmesini ve p53'ün sitoplazmadan çekirdeğe p53 translokasyonunu engellenmiş olur, sonuç olarak p53 ile indüklenen hücre döngüsü durması ve apoptozu bastırır, hücre hayatta kalımını destekler (72). MIF tarafından oluşturulan bu durum, p21 proteinleri, Bax ve p53'ün ekspresyonunda bir azalmaya yol açar. p53 aktivitesinin negatif regülasyonu, hücre döngüsü durması ve apoptoz ile hücre ölümünü inhibe eder. p53 fonksiyonunun inaktivasyonu, DNA onarım mekanizmalarını önemli ölçüde bozabilir, bu da mutasyonların birikmesine ve hücrenin malign transformasyon riskini artıran genomik instabiliteye sebep olabilmektedir. İnsan kanserinde p53 fonksiyonunun kaybı, en sık görülen olaylardan biridir. p53 fonksiyonu içermeyen hücreler, pekiştirilmiş çoğalma potansiyeline sahiptir, ömrünü uzatır ve kromozom hasarına cevap vermede yetersizdirler (45).

2.6. MIF, Hipoksi ve Anjiyojenez

Neovaskülarizasyon tümör hücresi aktivitesini, hayatta kalmayı ve yayılmasını sürdürdüğü için anjiyojenez tümör gelişmesi için gereklidir. Hipoksi, endotelial hücrelerin çoğalması ve migrasyonu aktif ederek damar büyümesini arttırmaktadır (72). Normoksik şartlar altında, ana transkripsiyon faktörü (Hipoksi ile indüklenebilir faktör) HIF-1 α hidroksile olup Von Hippel–Lindau tümör supressor geni (VHL)’ne bağlanır ve HIF-1 α ’ın degradasyonuna yol açar (80). Aksine, hipoksik şartlarda, HIF-1 α hızlı bir şekilde birikir ve hedef genlerin promoterinde HRE’lere (Hipoksi ile tetiklenen yanıtın elemanları) bağlanır böylece bu genlerin ekspresyonlarını aktive eder. Bu hedef genler, lizil oksidaz LOX, bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi kodlayan pro-invaziv ve pro-anjiyojenik genleri, matriks metalloproteinazları (MMPs) gibi ekstraselüler proteazların genlerini içermektedir. Aynı zamanda HIF1 α , trombospondin TSP-1 gibi anti-anjiyojenik hedefleri aşağı doğru düzenler (80,81). HIF-1 α , MIF ekspresyonunu artırır. Aynı zamanda MIF, pozitif geribildirim ile HIF-1 α birikimini sağlar (82).

HIF-1 α ’nın MIF tarafından stabilizasyonu iki yöntem ile gerçekleşir; ekstraselüller ortamda MIF, CD74’e bağlanmasıyla, HIF-1 α ’nın doğrudan aktivasyonunu indüklerken, intraselüler ortamda MIF, Jab/CSN5’e bağlanarak, HIF-1 α ’nın hidroksilasyonunu önler ve stabilitesini düzenler. Bunun sonucunda IL-8 ve VEGF gibi pro-anjiyojenik faktörlerin ekspresyonu görülür (72,83). İnsan meme kanser hücrelerinde, MIF aşırı ekspresyonu, anjiyojenez sürecinde rol alan IL-8 ve VEGF ekspresyonu ile ilişkilidir (81). Adenoid kistik karsinomda, matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ekspresyonunun MIF ekspresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. MIF, ERK/MAPK yollarını düzenleyerek VEGF gibi anjiyojenik büyüme faktörlerinin ve matriks metalloproteinazlarının ekspresyonunu etkiler (84).

Matriks metalloproteinazlar (MMPs) bazal membran (BM) dahil olmak üzere ekstraselüler matriksin (ECM) bileşenlerinin çoğunu parçalayan endopeptidazlardır. MMP’lerin, çeşitli solid tümörlerde aşırı eksprese edildiği ve metastatik sürecin birçok adımında önemli roller oynadığı bilinmektedir. MMP’ler, çevresindeki BM ve ECM’yi parçalayarak tümör hücrelerinin invazyonuna ve metastazına katkıda bulunur, bu da kanser hücrelerinin kolay göç etmesini ve yayılmasını sağlar. Ayrıca,

hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde, büyüme faktörlerinin salınmasında ve anjiyogenezde rol oynarlar (80,85). Anjiyogenik lezyonlarda bulunan nötrofillerin yüksek düzeyde matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ifade ettikleri bulunmuştur (86). Ayrıca melanom hücreleri tarafından üretilen MIF, endotel hücre göçünü inhibe eden anti-anjiyogenik bir olan faktör trombospondin 1'in (TSP-1) ekspresyonunu aşağı regüle ederek anjiyogenez üzerinde etki eder (87). Fare modelinde oldukça agresif melanom hücrelerinde MIF ekspresyonunu azaldığında TSP-1'in yukarı regüle edildiği ve tümör oluşumunun geciktiği belirtilmiştir (88). MIF'nin, anti-anjiyogenik faktör TSP-1, büyüme faktörü VEGF, pro-anjiyogenik kemokinler ve HIF-1 α gibi birçok faktöre etki ederek anjiyogenez düzenler (87).

2.7. Telomer

Telomer, ökaryotik kromozomların uçlarında bulunan bir nükleoprotein kompleksidir. Telomer yapısı 1938'de, Muller ve Meier tarafından keşfedilmiştir. Telomer, 5 ila 20 kb'lık tekrarlayan TTAGGG (telomerik DNA) heksanükleotit DNA dizisinden oluşur. Telomerik DNA tekrarlarını, 3'G açısından zengin ve 3' uç koruması sağlayan tek iplikli bir çıkıntı izler. Telomerik DNA, shelterin protein kompleksi ile ilişkilidir. Bu protein kompleksi birlikte kromozomal uçları korur ve nükleolitik degradasyonu, gereksiz rekombinasyonu ve kromozomlar arası füzyonları önleyerek genomik ve kromozomal bütünlüğü korurlar. Shelterin kompleksi, telomere-özü 6 adet protein grubundan oluşur; Telomer Tekrar Faktörü 1 ve 2 (TERF1, TERF2) ve POT1 (Telomer Korunması 1), TTAGGG tekrarlarıyla doğrudan etkileşime girer. Bu proteinler, diğer üç proteinle birbirine bağlıdır. Bu proteinler TERF1, TERF1 Etkileşen Nükleer Faktör 2 (TINF2), tripeptidil-peptidaz 1 (TPP1) ve baskılayıcı aktivatör proteini 1'dir (RAP1). Telomerik DNA, shelterin koruyucu kapaklarla maskelenir ve bu kompleksler, DNA hasarı onarım (DDR) makinelerinin telomerik DNA'yı genomik DNA hasarından ayırt etmesini sağlar (89). DNA polimeraz, replikasyon sorunu sebebiyle kesintili zincirlerin 3'ucunu tamamen kopyalayamadığından, telomerler her hücre bölünmesinde ~ 50-200 baz kadar kısalır. Telomerler kritik bir uzunluğa ulaşır ve hücreler replikatif yaşlanmaya girer (Hayflick limiti) (90).

2.8. Telomeraz

İnsan telomerazı, 1985 yılında, TTAGGG tekrarların ekleyerek telomerlerin 3' ucunu uzatmasını katalizleyen bir ribonükleoprotein enzimi olarak keşfedilmiştir (90). Telomerazın protein bileşenleri, keşfinden yaklaşık on yıldan sonra tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. Telomeraz, iki farklı alt birimden oluşan bir DNA polimerazdır. Diskerin ve telomeraz protein bileşeni (TEP1), telomeraz kompleksinin stabilize edilmesinde önemli bir role sahiptir. Es1p ve Es3p (Ku heterodimer), telomeraz enzimatik kompleksine de katkıda bulunan, montaj ve olgunlaşmada rol oynayan ek protein alt birimleridir (89). hTR ve telomeraz ile ilişkili proteinler tüm insan hücrelerinde eksprese edilse de, hTERT yalnızca telomeraz pozitif hücreler ve dokularda eksprese edilir. hTERT mRNA'nın ekspresyon seviyesi, hücresel telomeraz aktivitesi ile oldukça ilişkilidir. Bu durum hTERT'nin telomeraz aktivitesinin kritik bir belirleyicisi olduğunu düşündürür (91). hTERT, hücre döngüsü regülasyonu, hücresel sinyalleme ve hücre proliferasyonunda yer alan yaklaşık 300 genin ekspresyonunu düzenleyebilir (92).

Çoğu somatik hücrede telomeraz aktivitesi saptanamaz. Bu sebeple, normal hücreler sınırlı bir çoğalma yeteneğine sahiptir. Öte yandan, germ hücreleri ve kendini yenileyen dokular (ör. Yumurtalık, bağırsak epitelyumu ve hematopoietik kök hücreler) telomeraz aktivitesine sahiptir (90). Telomeraz aktivitesinin, telomer uzunluğunu stabilize etmek ve hücre ölümsüzlüğüne yol açabilecek replikatif yaşlanmanın üstesinden gelmek için gerekli olduğu düşünülmektedir (93).

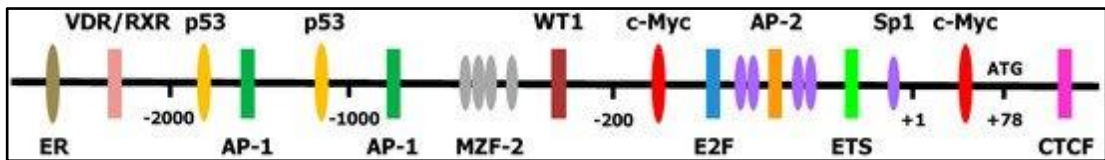
2.8.1. Telomer ve Yaşam Tarzı

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile hücresel antioksidan savunmalar arasındaki dengesizlik sebebiyle oksidatif stres, kanser dahil birçok hastalığın patogenezinde rol oynar. TTAGGG tekrarlarının G bakımından zengin doğası, telomerleri oksidatif hasara karşı oldukça duyarlı hale getirir ve oksidatif stres, telomer kısalmasını hızlandırır (94). Sigara, obezite, egzersiz eksikliği, stres ve sağlıksız beslenme gibi belirli yaşam tarzı faktörleri, telomer kısalmasını hızlandırır (19). Hızlandırılmış telomer kısalması, koroner kalp hastalığı (95), kalp yetmezliği (96), diyabet ve osteoporoz dahil olmak üzere yaşa bağlı birçok sağlık sorununun

erken başlaması ile ilişkilidir (19). Yaşlılarda telomer uzunluğu değerlendirildiğinde, kısa telomerlere sahip bireylerin, uzun telomerlere sahip olanlara göre ölüm oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmektedir (97). Kısa telomerler kromozomlar arası füzyona aracılık ederek genomik dengesizliği indükleyebilir, ayrıca telomer stabilizasyonuna ve kanser gelişimine sebep olabilir (98). Bununla birlikte, telomer koruma mekanizmalarının inhibisyonu ve sürekli telomer kısalması, kanser hücrelerinde yaşlanma ve apoptozu indükler (19). Telomeraz aktivitesi, çoğu tümör türünden elde edilen ekstraktın yüksek bir yüzdesinde, örneğin, oral karsinomların % 75'inde, akciğer kanserlerinin % 80'inde, nöroblastomların % 94'ünde, kolorektal kanserlerin % 95'inde ve mesane kanserlerinin % 98'inde, gösterilmiştir. Bu durum telomeraz ile telomerik DNA eklenmesinin kanser hücrelerinin sonsuz çoğalmasına katkıda bulunduğunu göstermektedir (99).

2.8.2. Telomerazın Düzenlenmesi

hTERT'in 5' promoter bölgesi klonlanmıştır (100). hTERT promoter bölgesine, C-Myc, SP-1, NF- κ B(101), aktivasyon artırıcı bağlayan protein-2 (AP-2) (102), HIF-1 α (103,104), ve östrojen bağlanan birkaç aktif edici transkripsiyon faktörü tanımlanmıştır (105,106). Telomeraz aktivasyonunun, hücre proliferasyonu ile sıkıca ilişkili olduğu bilinmektedir, bu da büyüme sinyallerinin hTERT ekspresyonunu doğrudan düzenleyebileceğini düşündürmektedir (105). PI3K-AKT yolu, tümörögenizde önemli olan proliferasyon ve farklılaşma gibi çeşitli hücrel olayları düzenler. Tert ekspresyonunun, yumurtalık kanseri hücrelerinde PI3K tarafından kontrol edilen reseptör tirozin kinazlar ve VEGF tarafından artırıldığı bildirilmiştir (92).



Şekil 2.6. hTERT'nin promoter bölgesi ve aktivitesini düzenlemek için gerekli olan transkripsiyon faktörleri (90).

Wilms tümör 1 tümör baskılayıcı (WT1) (107), miyeloid özgü çinko parmak proteini-2 (MZF-2) (108), transkripsiyon aktivatör protein AP-1(109), ve CCCTC

bağlayıcı faktörü (CTCF) de dahil olmak üzere çeşitli inhibe edici transkripsiyon faktörlerinin hTERT promoter üzerindeki belirli bölgelere bağlanarak hTERT transkripsiyonunu da baskıladığı bildirilmekte ancak inhibisyon mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir (110). Lin ve arkadaşları, menin, SIP1, Mad1, hSIR2 ve BRIT1 birkaç hTERT'ın negatif düzenleyici faktörü belirleyerek, özellikle normal hücrelerde çok sayıda tümör baskılayıcısının telomeraz baskılamasını sağlayabileceği fikrini ortaya çıkarmıştır (111). Ayrıca p53'ün hTERT Sp1'e bağımlı transkripsiyonunu bastırdığı gösterilmiştir. P53'ün, Sp1 ile bir kompleks oluşturarak Sp1'in transkripsiyonel aktivitesini baskılamaya yol açabileceği bildirilmiştir (112).

E2F transkripsiyon faktörleri, hücre döngüsünün düzenlenmesinde ve DNA sentezinde rol oynar (113). E2F1'in ektopik ekspresyonu, kanser hücrelerinde SP1'in DNA'ya bağlanmasının inhibisyonu yoluyla Tert promoter aktivitesini bastırmaktadır. Normal insan fibroblastlarında tam aksine, E2F1'in aşırı ekspresyonu, -51 ila -88 arasında bulunan bir E2F1 bölgesi yoluyla Tert promoter aktivitesini arttırdığını bildirilmiştir. Tüm bu veriler, E2F1'in Tert ifadesini düzenlemek için ikili bir role sahip olduğunu göstermektedir (114). Ayrıca telomer uzunluğunun, telomeraz aktivitesinin ve hTERT gen ekspresyonunun büyük ölçüde sitokinler tarafından yönetilebildiği düşünülmektedir. Telomer uzunluğunun düzenlenmesi karmaşık görünmektedir (115).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul İzni

Bu çalışma, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Yenimahalle Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul'unun 25/09/2018 tarihli ve 49 numaralı onayı ile gerçekleştirilmiştir.

3.2. Araştırma Grubu

Çalışmaya, 21-51 yaş aralığında, herhangi bir kronik rahatsızlığı bulunmayan 01/02/2019 ile 01/10/2019 tarihleri arasında Lokman Hekim Etlik hastanesi Beslenme ve Diyetetik polikliniğine başvuran, 54 obez birey, İlkform Beslenme ve Diyet Danışmanlık Merkezine başvuran 8 obez birey ve 20 sağlıklı birey kontrol grubu olarak dahil edildi. Diyetetik polikliniğine müracaat eden bireylerin, muayeneleri sırasında yaş, cinsiyet ve antropometrik ölçümleri tespit edilmiştir.

3.3. Kan Örneklerinin Toplanması

Çalışmaya katılmayı kabul etmiş bireylerden en az 8 saatlik açlık sonrası toplam 9 ml kan heparinli tüplerine alındı. Elisa testleri için alınan kan örneklerin 6 ml'si, 3000 RPM'de 5 dakika santrifüj edilip plazmaları ayrıldı, Elde edilen plazmalar analiz edilinceye kadar -80°C'de muhafaza edildi. Telomeraz aktivitesi tayin edilmesi için alınan kan örneklerin 3 ml'sinden mononükleer hücreler aşağıdaki açıkları gibi izole edildi.

- Alınan 3 ml periferik kan örneği eşit miktarda PBS ile sulandırıldı.
- Kan örneği PBS ile sulandırıldıktan sonra Fikol gradiyan santrifüj işlemine tabi tutuldu (1200 g 20 dk). Santrifüj işlemi sayesinde yoğunluk gradyanı oluştu.
- Santrifüj işleminden sonra mononükleer hücrelerin bulunduğu kısım (PBMC) toplandı ve PBS ile yıkamalar yapıldı.

- Daha sonra Thoma lamı ile hücre sayımı gerçekleştirildi. Sayımı yapılan hücreler analiz edilinceye kadar -80 °C’de saklandı.

3.4. Laboratuvar Ölçümleri

3.4.1. Plazma MIF Analizi

Plazma MIF tayininde, ticari ELISA (Sigma-Aldrich, RAB0360, USA) kiti kullanılmıştır. Kit protokolüne göre MIF analizi gerçekleştirildi.

1. -80°C’de saklanan plazma örnekleri ve tüm solüsyonlar oda sıcaklığına getirildi.
2. Her kuyucuğa 100 µL Standart veya plazma örnekleri eklendi ve oda sıcaklığında çalkalayıcı üzerene 2.5 saat inkübasyona bırakıldı.
3. Kuyucuklar içerisindeki sıvılar aspire edildikten sonra her kuyucuğa 300 µL yıkama solüsyonu eklendi ve bu işlem 4 kez tekrarlandı. Pleyt bir kağıt üzerine ters çevrilerek konuldu ve içeriğin uzaklaştırılması sağlandı.
4. Her kuyucuğa 100 µL Biotinylated Detection Antibody solüsyonu eklendi ve oda sıcaklığında çalkalayıcı üzerinde 1 saat inkübasyona bırakıldı.
5. Üçüncü aşama tekrarlandı.
6. Her kuyucuğa 100 µL HRP-Streptavidin solüsyonu eklendi ve oda sıcaklığında çalkalayıcı üzerinde 45 dakika inkübasyona bırakıldı.
7. Üçüncü aşama tekrarlandı.
8. Her kuyucuğa 100 µL TMB solüsyonu eklendi ve karanlıkta çalkalayıcı üzerinde 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
9. Her kuyucuğa 50 µL durdurma solüsyonu eklendikten sonra Clariostar Plus Microplate Reader marka ELISA okuyucu ile 450 nm dalga boyunda absorbanslar okundu.

3.4.2. Plazma p53 Analizi

Plazma p53 tayininde, ticari ELISA (p53 Human ELISA abcam, ab46067, UK) kiti kullanılmıştır. Kit protokolüne göre p53 analizi gerçekleştirildi.

1. -80°C’de saklanan plazma örnekleri ve tüm solüsyonlar oda sıcaklığına getirildi.
2. Her kuyucuğa 100 µL Standart veya plazma örnekleri eklendi ve oda sıcaklığında 2 saat inkübasyona bırakıldı.
3. Kuyucuklar içerisindeki sıvılar aspire edildikten sonra her kuyucuğa 300 µL yıkama solüsyonu eklendi ve bu işlem 2 kez tekrarlandı.
4. Her kuyucuğa 50 µL Biotinylated anti-p53 eklendi ve oda sıcaklığında 1 saat inkübasyona bırakıldı.
5. Üçüncü aşama tekrarlandı.
6. Her kuyucuğa 100 µL HRP-Streptavidin solüsyonu eklendi ve oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
7. Üçüncü aşama tekrarlandı.
8. Her kuyucuğa 100 µL TMB solüsyonu eklendi ve karanlıkta 20 dakika inkübasyona bırakıldı.
9. Her kuyucuğa 100 µL durdurma solüsyonu eklendikten sonra Clariostar Plus Microplate Reader marka ELISA okuyucu ile 450 nm dalga boyunda absorbanslar okundu.

3.4.3. Plazma TNF- α Analizi

Plazma TNF- α tayininde, ticari ELISA (Human TNF alpha SimpleStep ELISA, abcam, ab181421, UK) kiti kullanılmıştır. Kit protokolüne göre TNF- α analizi gerçekleştirildi. Standart ve örnekler kitin prosedürüne göre hazırlanmıştır.

1. Her kuyucuğa 50 µL Standart veya plazma örnekleri eklendi.
2. Her kuyucuğa 50 µL Antikorlar eklendi.
3. Oda sıcaklığında çalkalayıcı üzerinde 400 rpm’de 1 saat inkübasyona bırakıldı.

4. Kuyucuklar içerisindeki sıvılar aspire edildikten sonra her kuyucuğa 350 µL yıkama solüsyonu eklendi ve bu işlem 3 kez tekrarlandı. Pleyt bir kağıt üzerine ters çevrilerek konuldu ve içeriğin uzaklaştırılması sağlandı.
5. Her kuyucuğa 100 µL TMB solüsyonu eklendi ve karanlıkta çalkalayıcı üzerinde 400 rpm’de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
6. Her kuyucuğa 100 µL durdurma solüsyonu eklendikten sonra Clariostar Plus Microplate Reader marka ELISA okuyucu ile 450 nm dalga boyunda absorbanslar okundu.

3.4.4. Telomeraz Aktivitesi Analizi

Toplanan mononükleer hücrelerin TeloTAGGG Telomerase PCR ELISA (Roche, Germany) ile telomeraz aktivitesi tayin edildi. Hücre özütleri aşağıda açıklandığı gibi hazırlandı.

1. Temiz ependorff tüplerinin her birine 2×10^5 hücre eklendi.
2. $3000 \times g$ ($+4^\circ C$)’de 10 dk santrifüj edildi.
3. Süpernatant atıldı, pellet üzerine fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) eklendi.
4. $3000 \times g$ ($+4^\circ C$)’de 10 dk santrifüj edildi.
5. Süpernatant atıldı, pellet üzerine 200 µl Liziz tamponu eklendi.
6. $16\,000 \times g$ ($+4^\circ C$)’de 20 dk santrifüj edildi.
7. Süpernatant yeni bir ependorff tüpüne transfer edildi.

Tablo 3.1. Çizelge kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu.

Reaksiyon karışımı	25 µl
Hücre Özütü	3 µl
Distile su	50µl’e kadar tamamlanmıştır.

PCR uygulamaları için TurboCycler LITE Thermal Cycler Blue-Ray-Biotech cihazı kullanılmıştır.

Tablo 3.2. Polimeraz zincir reaksiyonu sıcaklık şartları.

	Zaman	Sıcaklık derecesi	Döngü sayısı
Başlangıç uzama	30dk	25°C	1
Telomeraz inaktivasyonu	5dk	94°C	1
Amplifikasyon			
Denatürasyon	30s	94°C	30
Yapışma	30s	50°C	
Polimerizasyon	90s	72°C	
	10 dk	72°C	1
Saklama		4°C	

Amplifikasyon ürünleri hazırlandıktan sonra aşağıdaki açıklanan prosedür uygulandı.

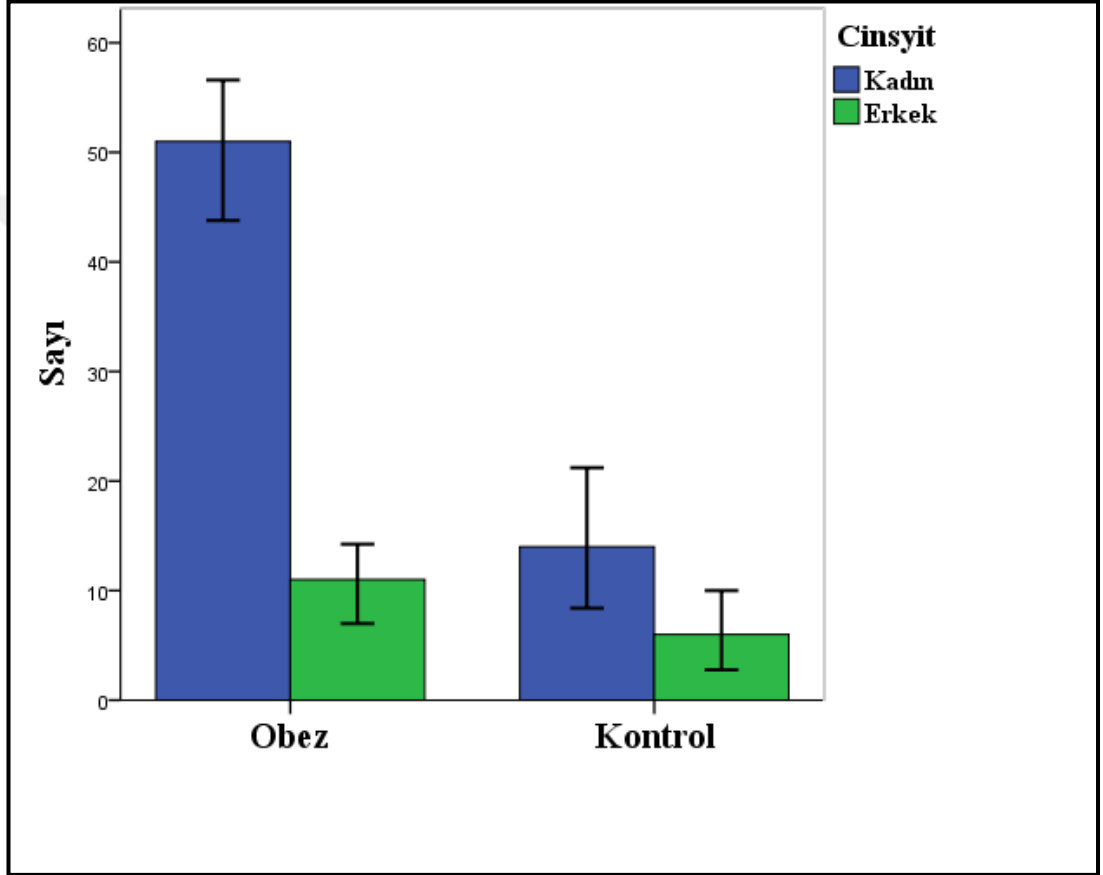
1. Her kuyucuğa 20 µL denatürasyon solüsyonu ve 5 µL amplifikasyon ürünü eklendikten sonra 25°C’de 10 dk inkübasyona bırakıldı.
2. Her kuyucuğa 225 µL hibridizasyon tamponu eklendi ve karıştırıldı.
3. Her karışımdan 100 µL pleyt kuyucuklarına transfer edildikten sonra 37°C’de çalkalayıcı üzerinde (300 rpm) 2 saat inkübasyona bırakıldı.
4. Kuyucuklar içerisindeki sıvılar aspire edildikten sonra her kuyucuğa 250 µL yıkama solüsyonu eklendi ve bu işlem 3 kez tekrarlandı.
5. Her kuyucuğa 100 µL anti-digoksinin-peroksidaz (Anti-DIG-POD) solüsyonu eklendi ve 25°C’de çalkalayıcı üzerinde (300 rpm) 30 dk inkübasyona bırakıldı.
6. Dördüncü aşama tekrarlandı.
7. Her kuyucuğa 100 µL TMB solüsyonu eklendi ve karanlıkta çalkalayıcı üzerinde (300 rpm) 20 dakika inkübasyona bırakıldı.
8. Her kuyucuğa 100 µL durdurma solüsyonu eklendikten sonra Clariostar Plus Microplate Reader marka ELISA okuyucu ile 450 nm dalga boyunda absorbanslar okundu.

3.5. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SPSS Statistics 22 (IBM SPSS statistics for Windows, version 22.0 Armonk, NY: IBM Corp.) programı ile yapılmıştır. Sayısal değişkenler ortalama, ortanca, standart sapma, minimum ve maksimum değerler ile özetlenmiştir. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. ELISA ve PCR verilerinin normal dağılıma göstermediği istatistiksel analizler ile tespit edilmiştir. Normal dağılıma göstermeyen sürekli sayısal değişkenler iki bağımsız grup karşılaştırması için parametrik olmayan bir test olan Mann Whitney U ile incelendi. Kategorik değişkenler ise iki bağımsız grup karşılaştırması için parametrik olmayan bir test olan ki kare testi ile incelendi. Değişkenler arasındaki istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olup olmadığı Spearman'ın korelasyon testi ile incelendi.

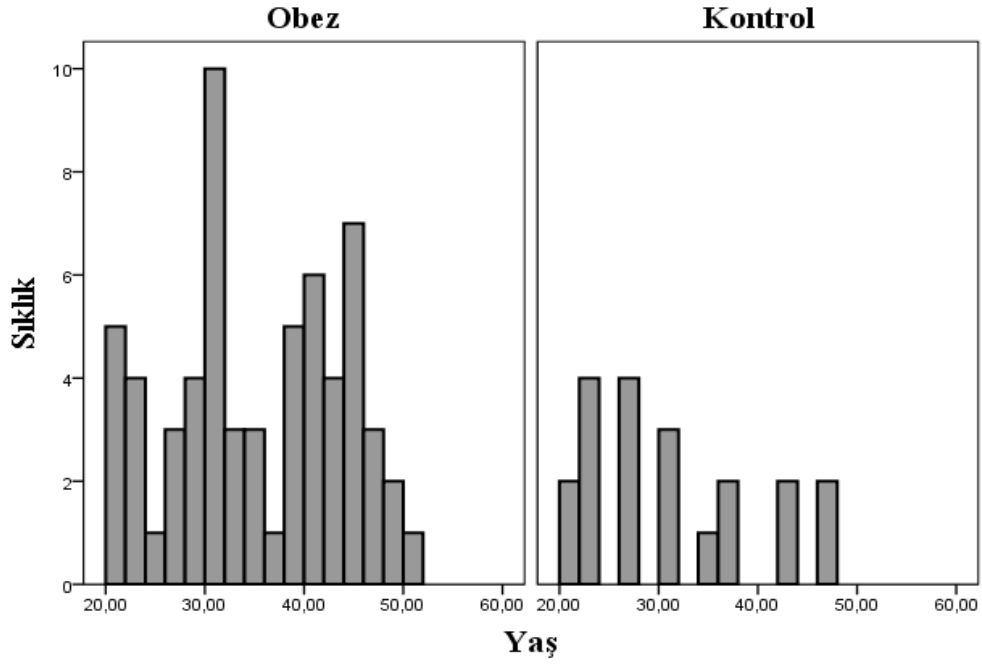
4. BULGULAR

Bu çalışmaya, 62 obez birey ve 20 sağlıklı birey dahil edildi. Obez bireylerin 51'i (%82.3) kadın, 11'i (%17.7) erkek, ve sağlıklı kontrol grubunun 14'ü (%70) kadın, 6'sı (%30) erkektir. Gruplar arasında kadın ve erkeklerin dağılımı istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($p=0.34$).



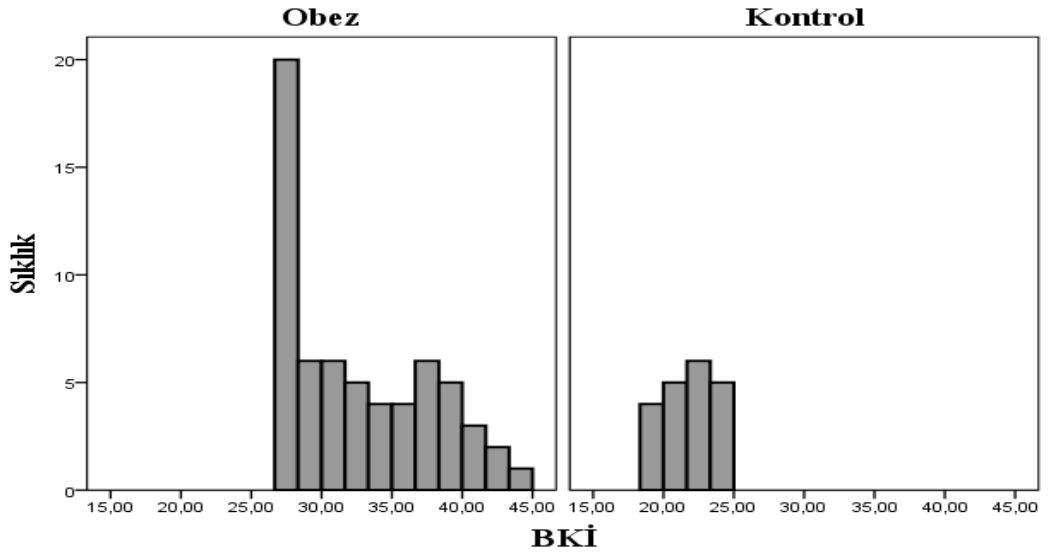
Şekil 4.1. Grupların cinsiyete göre dağılımları.

Obez bireylerin ($n=62$) yaş aralığı (21-51)'dir, yaş ortanca değeri ise 34.5'dir. Sağlıklı kontrol grubunun ($n=20$) yaş aralığı (21-47)'dir, yaş ortanca değeri ise 28.5'dir. Gruplar arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.063$).



Şekil 4.2. Grupların yaş aralığına göre dağılımları.

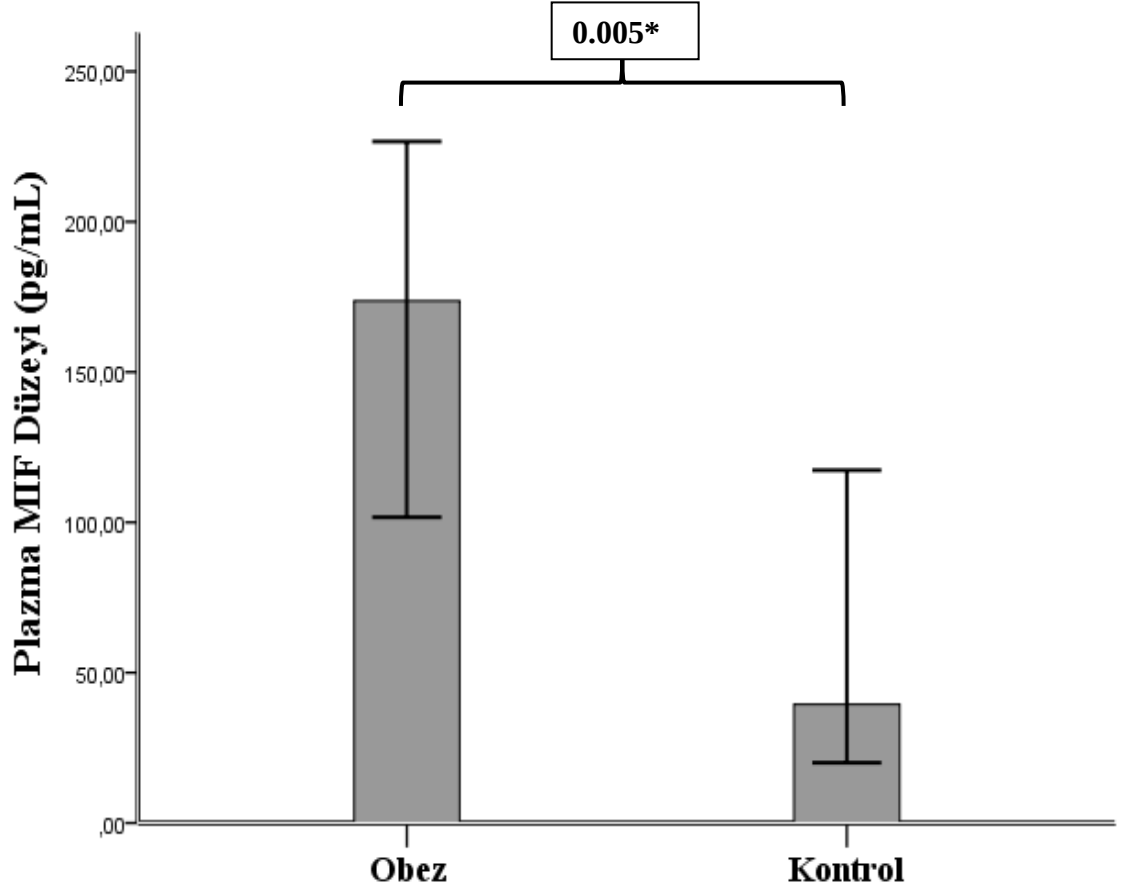
BKİ, yağsız vücut dokusu, yağ oranı, bel kalça oranı, ve yağ kütlesi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde obez bireylerde yüksek saptandı ($P=0.001$, $p<0.01$).



Şekil 4.3. Grupların BKİ aralığına göre dağılımları.

Gruplar arasında toplam vücut sıvısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.057$).

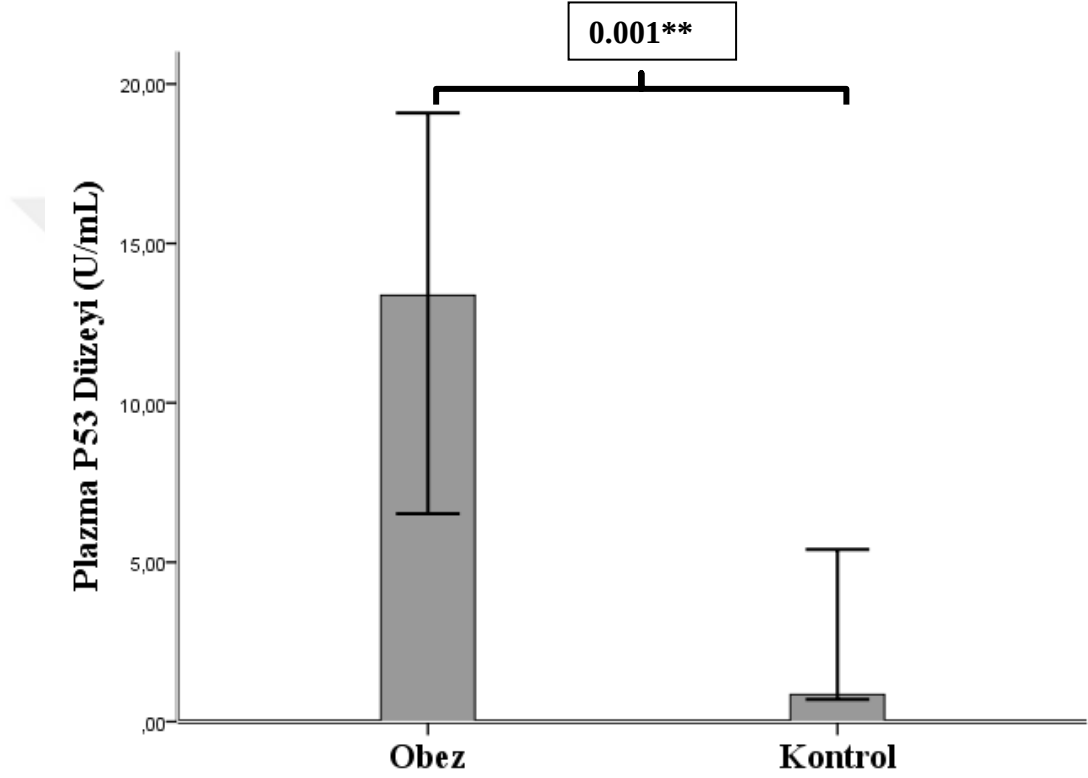
Obez grubunda plazma MIF ortalanca değeri 173.64 (8.92– 2389.69) pg/mL, ve sağlıklı kontrol grubunda ise 39.5 (8.92 – 438.65) pg/mL olarak tespit edildi. Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan Mann Whitney U test sonuçlarına göre; gruplar arasında MIF düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0.005$, $p<0.05$)



$*p<0.05$

Şekil 4.4. Obez bireylerle kontrol bireylerin plazma MIF düzeyleri.

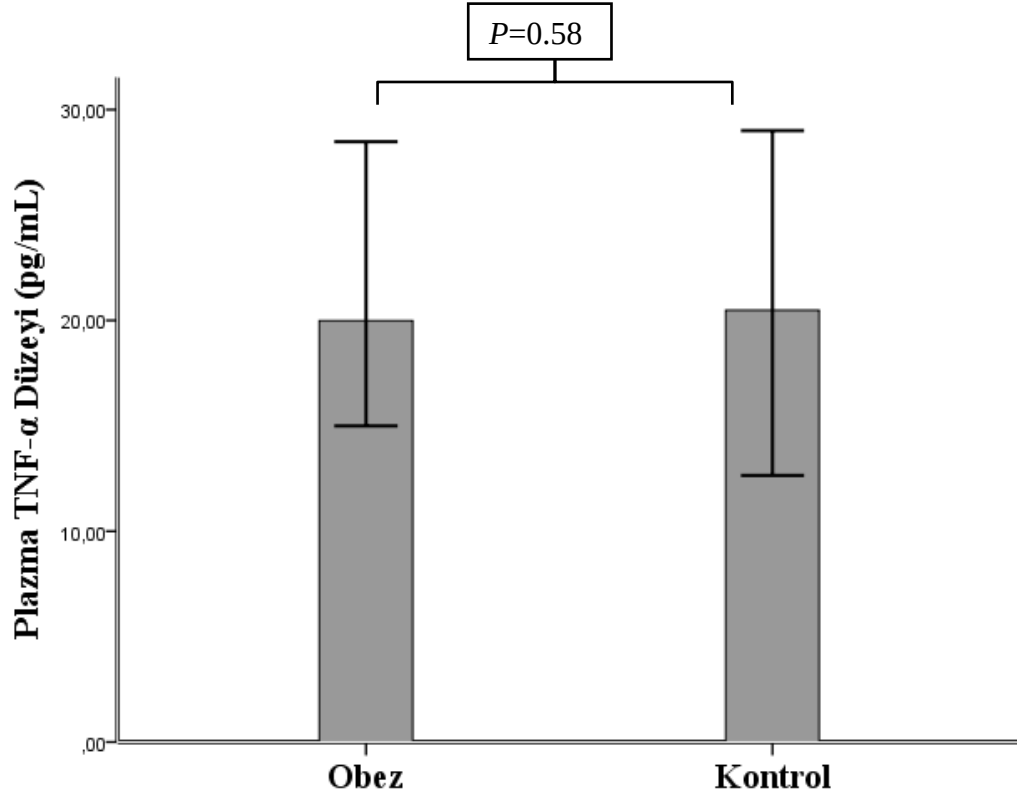
Obez grubunda plazma p53 ortalama değeri 13.37 (0.65 – 131.81) U/mL, ve sağlıklı kontrol grubunda ise 0.85 (0.5 – 31.41) U/mL olarak tespit edildi. Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan Mann Whitney U test sonuçlarına göre; gruplar arasında p53 düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0.001, p<0.05$)



**** $p<0.01$**

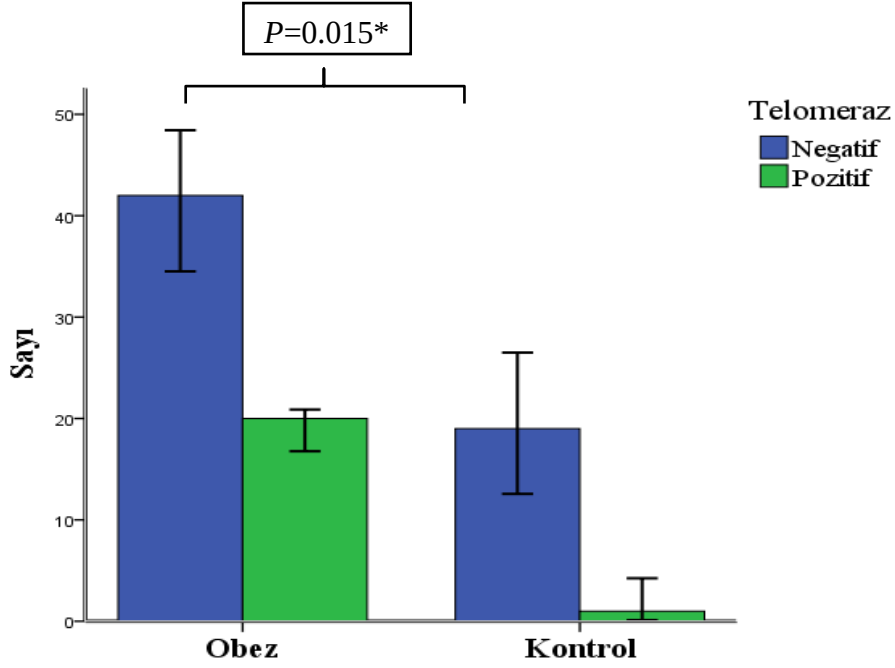
Şekil 4.5. Bireylerle kontrol bireylerin plazma p53 düzeyleri.

Obez grubunda TNF- α ortalanca değeri 19.98 (6.6 – 187.73) pg/mL, ve sağlıklı kontrol grubunda ise 20.48 (9.89 – 53.46) pg/mL olarak tespit edildi. Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan Mann Whitney U test sonuçlarına göre; gruplar arasında TNF- α düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.585$, $p>0.05$).



Şekil 4.6. Obez bireylerle kontrol bireylerin plazma TNF- α düzeyleri.

Obez bireylerin 20'si (%32.3) telomeraz aktivitesi pozitif, 42'si (%67.7) telomeraz aktivitesi negatif, ve sağlıklı kontrol grubunun 1'si (%5) telomeraz aktivitesi pozitif, 19'u (%95) telomeraz aktivitesi negatif olarak tespit edildi. Farklılığı belirlemek amacıyla yapılan ki kare testi sonuçlarına göre; gruplar arasında telomeraz aktivitesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0.015$, $p>0.05$).



*** $p<0.05$**

Şekil 4.7. Obez bireylerle kontrol bireylerin telomeraz aktivitesi.

Tablo 4.1.Katılımcıların özellikleri, Plazma MIF, p53, TNF- α , ve PMNC telomeraz aktivitesi ölçümlerinin gruplara göre değerlendirilmesi.

	Obez (n=62)	Kontrol (n=20)	P
Yaş (yıl)			
Ortanca	34.5	28.5	0.063
Ortalama $\pm$ Standart sapma	34.8 $\pm$ 8.5	30.6 $\pm$ 8.75	
(Minimum -Maksimum) değer	(21 - 47)	(21 - 51)	
BKİ (Kg/m2)			
Ortanca	31.44	21.91	0.001**
Ortalama $\pm$ Standart sapma	32.65 $\pm$ 5	21.71 $\pm$ 1.63	
(Minimum -Maksimum) değer	(27 - 43.85)	(19 - 24.11)	
Yağsız vücut dokusu (kg)			
Ortanca	52.1	34.1	0.001**
Ortalama $\pm$ Standart sapma	55.53 $\pm$ 13.69	35.74 $\pm$ 9.49	
(Minimum -Maksimum) değer	(25.57 - 88.60)	(24.65 - 55.7)	
Yağ kütlesi (Kg)			
Ortanca	31.45	15	0.001**
Ortalama $\pm$ Standart sapma	33.52 $\pm$ 10.21	21.86 $\pm$ 14.64	
(Minimum -Maksimum) değer	(16.9 - 57.3)	(7.26 - 47.65)	
Toplam vücut sıvısı			
Ortanca	39.2	32.72	0.057
Ortalama $\pm$ Standart sapma	41 $\pm$ 9.07	34.9 $\pm$ 6.64	
(Minimum -Maksimum) değer	(29.8 - 63.8)	(25 - 48.7)	
Yağ oranı			
Ortanca	36	21.5	0.001**
Ortalama $\pm$ Standart sapma	35.88 $\pm$ 6.5	21.32 $\pm$ 7.74	
(Minimum -Maksimum) değer	(15.4 - 47)	(10.4 -31.4)	
Bel kalça oranı			
Ortanca	0.9	0.8	0.001**
Ortalama $\pm$ Standart sapma	0.89 $\pm$ 0.06	0.76 $\pm$ 0.08	
(Minimum -Maksimum) değer	(0.79 - 1.03)	(0.64 - 0.81)	
MIF (pg/mL)			
Ortanca	173.64	39.5	0.005**
Ortalama $\pm$ Standart sapma	298.32 $\pm$ 411.9	94.7 $\pm$ 121.28	
(Minimum -Maksimum) değer	(8.92-2389.69)	(8.92-438.65)	
p53 (U/mL)			
Ortanca	13.37	0.85	0.001**
Ortalama $\pm$ Standart sapma	22.74 $\pm$ 31.26	6.14 $\pm$ 9.54	
(Minimum -Maksimum) değer	(0.65-131.81)	(0.5 -31.41)	
TNF-α (pg/mL)			
Ortanca	19.98	20.48	0.585
Ortalama $\pm$ Standart sapma	29.18 $\pm$ 29.9	21.67 $\pm$ 20.48	
(Minimum -Maksimum) değer	(6.6 - 187.73)	(9.89 - 53.46)	
Telomeraz aktivitesi			
Pozitif (%)	20 (%32.3)	1 (%)5	0.015*
Negatif (%)	42 (%68.9)	19 (%95)	

Değişkenler aralarındaki ilişkiyi incelemek amacıyla parametrik olmayan bir test olan Spearman'ın sıralama korelasyon katsayısı kullanıldı, istatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak anlamlı kabul edildi. Analiz sonucunda;

BKİ ile MIF, p53, telomeraz aktivitesi aralarında pozitif yönde zayıf düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulundu (sırayla $p = 0.034^*$ $r = 0.235$; $p = 0.028^*$ $r = 0.243$; $p = 0.048^*$ $r = 0.219$).

Yağsız vücut dokusu ve MIF arasında pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulundu ($p = 0.007^{**}$, $p < 0.01$, $r = 0.314$).

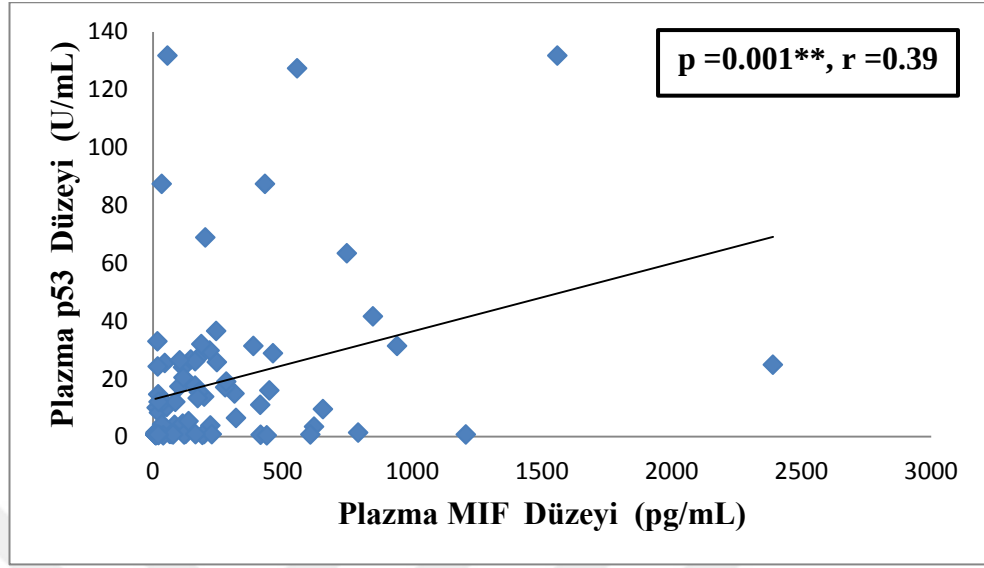
Tablo 4.2. Değişkenler arası ilişkiler.

		MIF	p53	TNF-α	Telomeraz aktivitesi
Yaş	r	0.102	0.003	0.036	-0.115
	p	0.363	0.98	0.75	0.305
BKİ	r	0.235	0.243	0.112	0.219
	p	0.034*	0.028*	0.315	0.048*
Bel Kalça Oranı	r	0.228	0.037	0.224	0.005
	p	0.119	0.802	0.125	0.974
Yağ Oranı	r	0.087	0.096	-0.02	0.089
	p	0.475	0.43	0.867	0.463
Yağ Kütlesi	r	0.095	0.093	0.062	0.161
	p	0.425	0.434	0.602	0.173
Yağsız vücut Dokusu	r	0.314	0.149	0.145	0.160
	p	0.007**	0.207	0.22	0.1675
Toplam vücut sıvısı	r	0.164	0.053	0.058	0.130
	p	0.165	0.653	0.627	0.274

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

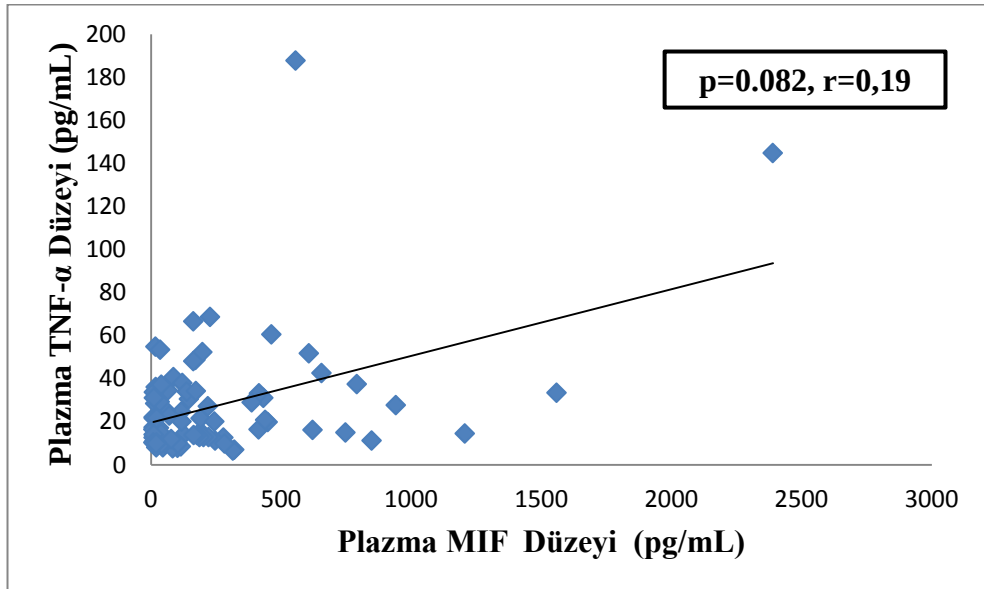
MIF ve p53 arasında pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulundu ($p=0.001$, $p<0.01$, $r=0.39$).



$** p < 0.01$

Şekil 4.8. MIF ve p53 arasındaki korelasyon.

MIF ve TNF- α arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon yoktur ($p=0.082$, $p>0.05$).



Şekil 4.9. MIF ve TNF- α arasındaki korelasyon.

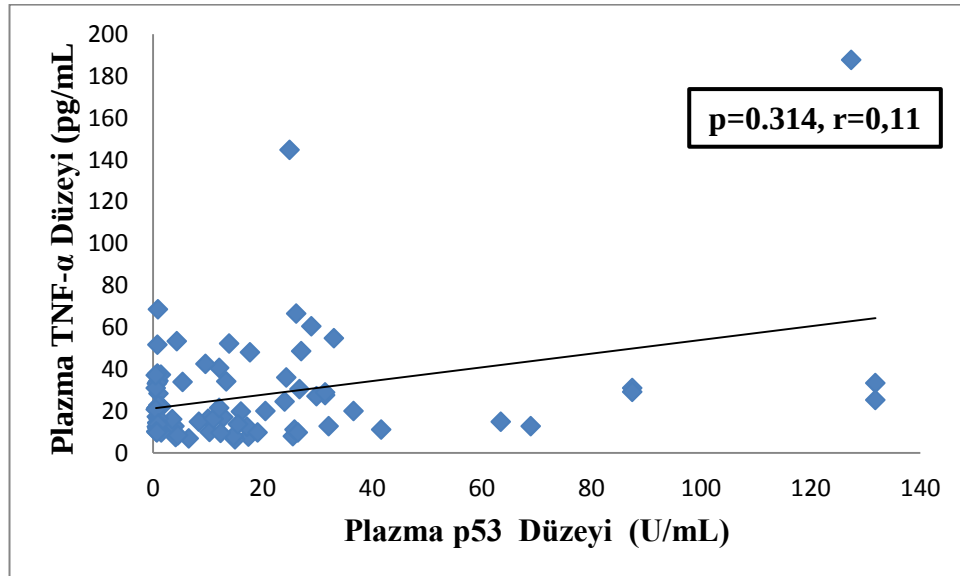
MIF ve telomeraz aktivitesi arasında pozitif yönde orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulundu ($p = 0.003$, $p < 0.01$, $r = 0.326$).

Tablo 4.3. MIF ve diğer parametreler arasındaki ilişkiler.

	MIF	
	r	p
p53	0.39	0.001**
Telomeraz aktivitesi	0.326	0.003**
TNF- α	0.193	0.082

** $p < 0.01$

TNF- α ve p53 arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon yoktur ($p = 0.314$, $p > 0.05$, $r = 0.113$).



Şekil 4.10. TNF- α ve p53 arasındaki korelasyon.

Telomeraz aktivitesi ve p53 arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon yoktur ($p= 0.53, p >0.05, r=0,07$).

Telomeraz aktivitesi ve TNF- α arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon yoktur ($p= 0.234, p >0.05, r=0,133$).



5. TARTIŞMA

Obezite, inflammatuar belirteçlerin dolaşımdaki yükselmiş seviyeleri ve inflamasyonla ilişkili adipokinlerin ekspresyonu ve salımı ile birlikte görülen kronik inflamasyon durumu ile karakterize edilmektedir. Bununla birlikte, bu adipokinler, oksidatif stres üreten reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini indükler. Kronik enfeksiyona sahip hastaların artmış kanser gelişim riskine sahip olduğu epidemiyolojik çalışmalardan bilinmektedir (4). MIF'in tümör baskılanmasında, anjiyogeneze ve hücre yaşlanmasında rolleri olduğu bilinmektedir (70). Bu özellikleri sebebiyle, MIF'in kronik inflamasyon ile kanser gelişimi arasında ilişki kurulmasına aracılık ettiği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda, tümör mikroçevresinde, p53, transforme hücreler tarafından veya bu hücreleri çevreleyen inflammatuar hücreler tarafından sağlanan yüksek MIF konsantrasyonları tarafından baskılanır, böylece MIF hücre çoğalmasını artırır, hücre ömrünü uzatır, genotoksik hasara karşı yetersiz bir cevap oluşturur ve onkojenik mutasyonların birikmesine izin verir (10).

Son çalışmalar, p53'ün glikoliz, oksidatif fosforilasyon ve amino asit metabolizması gibi metabolik yollarının düzenlemesinde rolü olduğunu göstermiştir. p53'ün *in vivo* metabolik rolü karmaşık ve sinyale bağımlıdır. Aşırı kalori alımının, inflamasyon tepkinin indüksiyonuna katkıda bulunan, kilo alımını ve insülin direncinin gelişmesini teşvik eden adiposit p53'ü aktive ettiği görülmektedir (75). Bu bilgilerin ışığında, obezitede, tümör mikroçevresindeki MIF ve p53 arasındaki bulunan negatif korelasyonun aksine pozitif korelasyon saptanması beklenmektedir. Bu sebeple monosit ve makrofaj fonksiyonunun sürdürülmesini sağlamak için MIF aracılı apoptoz inhibisyonunun p53'ten bağımsız olarak meydana gelebileceği düşünülmektedir.

Stres ve yaşlanma, lenfositlerdeki telomeraz seviyelerini etkileyebilir (19). Son çalışmalardan elde edilen kanıtlar tümör hücrelerinin telomeraz enzimini aktif hale getirerek hücreyi yaşlanmaktan uzak tutabileceğini göstermektedir. Bu yüzden telomeraz aktivasyonun hücre immortalitesi ve tümörögenez ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (93). Mevcut literatürde obezitede MIF konsantrasyonu, ile telomeraz aktivitesi arasındaki ilişkiyi açıklayan herhangi bir çalışmaya

rastlanmamıştır. Araştırmamızda obezitede plazma MIF konsantrasyonunun ile PBMC telomeraz aktivitesi arasındaki ilişkiyi incelenmiştir.

Yapılan neredeyse tüm *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda obezitede MIF konsantrasyonunun artmış olduğu bildirilmiştir (116,117,118,119,120,121,122). Örneğin Dandona ve ark. plazma MIF konsantrasyonu ve MNCs MIF'in mRNA obez bireylerde anlamlı derecede yüksek ve BKİ ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (62). Dumanovic ve ark. plazma MIF konsantrasyonunun obez kadınlarda zayıf kadınlara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir (123). Yapılan bir başka çalışmada, obez bireylerin fiziksel aktiviteye katılım ve diyet programı uyguladıktan sonra dolaşımdaki MIF konsantrasyonlarında önemli bir azalma olduğunu bildirmişlerdir (124).

Çalışmamızda literatürü destekler şekilde plazma MIF düzeyleri obez bireylerde kontrol bireylerine göre anlamlı derecede artmış bulundu ($p=0.005$), ayrıca bu artış BKİ ile ilişkili bulundu ($p=0.034$, $r=0.235$).

Literatürde aşırı kalori alımının, adipoz dokusunda p53 düzeyine olan etkisini incelemelere rağmen, plazma p53 düzeyine olan etkisini inceleyen herhangi bir çalışma rastlanmamıştır (125,126,128,129). Minamino ve ark. aşırı kalori alımının tip II diyabet olan farelerin adipoz dokusunda oksidatif stres birikimine yol açtığını, yaşlanma ile ilişkili p53 ekspresyonu ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini arttığını göstermişlerdir (76). Ortega ve ark. obez bireylerin omental adipoz dokularında p53 gen ekspresyonu ve proteininin arttığını bildirmişlerdir (77).

Çalışmamızda plazma p53 düzeyleri obez bireylerde kontrol bireylerine göre anlamlı derecede artmış bulundu ($p=0.001$), ayrıca bu artış BKİ ile ilişkili bulundu ($p=0.028$ * $r=0.243$). Bu da muhtemelen obez bireylerin periferik dokularında p53 aktivasyonunun insülin direnci geliştirerek adipositlerde insülinin lipojenik etkisini inhibe etmesi sonucunda, ek yağ dokusu birikmesine telafi edici bir yanıt oluşmasına sağlar. Böylece p53 aktivasyonunun kronik insülin yükselmesine karşı koruyucu bir mekanizma oluşturabileceği düşünülmektedir (126).

Telomeraz, periferik kan mononükleer hücrelerinde (PBMC) düşük konsantrasyonlarda eksprese edilir (130,131). Bu zamana kadar sadece birkaç çalışma bu hücrelerde telomeraz aktivitesini göstermiştir (132,133,134,135).

Literatürde obez bireylerde PBMC telomeraz aktivitesi inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Marcon ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, sigara içenlerde sigara içmeyen ikizlere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek telomeraz aktivite değerlerini göstermişlerdir, ayrıca telomeraz aktivitesi ile BKİ arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (133). Diğer bir çalışmada, obez kadınlarda telomerlerin aynı yaş grubundaki zayıf kadınlara göre önemli ölçüde daha kısa olduğu gösterilmiştir. Obez bireylerde telomer kaybının sigara içenlere göre daha hızlı olduğu saptanmıştır. Bu veriler, obezitenin telomerler üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğunu ve yaşlanma sürecini hızlandırabileceğini göstermektedir (136).

Çalışmamızda telomeraz aktivitesi değerlendirildiğinde obez bireylerde kontrol bireylere göre daha yüksekti ($p=0.015$). Ayrıca bu artış BKİ ile ilişkili bulundu ($p=0.028$, $r=0.243$). Bu durum obezitede bulunan kronik inflamasyon ve artmış oksidatif stres ile ilişkili olabilir (137,138). Yüksek guanin içeriği sebebiyle, telomer oksidatif hasara karşı oldukça hassastır ve oksidatif stres, telomer kısalmasını hızlandırır (94), bu da telomerazı aktive ederek orta derecede telomer uzamasına neden olabilir (139). Böylece telomeraz aktivasyonunun oksidatif stres artırmaya karşı koruyucu bir mekanizma oluşturabileceği değerlendirildi.

Litaratürde TNF- α proteininin üretimi yağ dokuda artışı göstermesine rağmen (140), dolaşımdaki TNF- α düzeyleri saptanamadı. Yapılan bir kaç çalışmada obez ve zayıf bireylerde dolaşımdaki TNF- α düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmiştir (141,142,143,144,145). Tsotra ve ark. adipokinlerin yağ dokusu, plasentadaki mRNA ekspresyonu ve dolaşımdaki düzeylerinin gestasyonel diyabette değişip değişmediğini incelemek üzere, 15 gestasyonel diyabet ve 23 normal glikoz toleransı, obez ve obez olmayan kadınlar çalışmaya dahil edilmiştir. Örnekler sezaryen sırasında alınmıştır. Tüm obez bireylerde serum TNF- α düzeylerinde bir miktar artış görülmesine rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (146).

Araştırmamızda obez bireylerde plazma TNF- α düzeylerinde bir miktar artış görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p=0.585$). TNF- α 'nın plazmadaki düşük konsantrasyonu ve yarı ömrü kısa olmasından dolayı

tespit edilmesi zordur (147). Ayrıca TNF üretimi karın bölgesindeki yağ dokuda yüksek olmasına rağmen, bu sitokinin lokal olarak etki etmesi ve birincil kan dolaşımına salınmaması muhtemeldir. Yapılan bir çalışmada hem önkol hem de subkutan abdominal yağdan TNF- α salınımı olmadığı bildirilmiştir(147,148).

Dolaşımdaki TNF- α düzeyleri obez ve zayıf bireyler arasında anlamlı bir fark olmadığına dair çalışmalar olduğu gibi, bunun aksine dolaşımdaki TNF- α düzeyleri obez bireylerde zayıflara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da görülmektedir (149,150,151,152). Örneğin, Moon ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, obez adölesanlarda serum TNF- α 'nın zayıflara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu, ayrıca obez grupta, erkeklerde kızlardan daha yüksek seviyeler göstererek, serum TNF- α seviyelerinde cinsiyete bağlı istatistiksel olarak anlamlı fark saptamışlardır (150). Pfeiffer ve ark. plazma TNF- α 'nın, tip 2 diyabetik erkeklerde (kadınlarda değil) diyabetik olmayanlara göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir (153). Yapılan bir başka çalışmada, plazma TNF- α , tip 2 diyabetik ve bozulmuş glukoz toleransı olan hastalarda her iki cinsiyette daha yüksek olduğu gösterilmiştir (154). Bizim yaptığımız çalışmada sonuçların tam tersi çıkmış olmasının sebebi çalışmaya dahil edilen bireyler arasında kadın sayısının daha fazla, yetişkin olmaları gibi demografik özelliklerinin diğer çalışmalardan farklı olması ve hasta olmamaları ile ilişkili olabilir.

Literatürde MIF ve p53 arasındaki ilişki incelendiğinde sonuçlar değişiklik göstermektedir. Nabizadeh Marvast ve ark. gastrik adenokarsinomunda MIF ekspresyonunun klinikopatolojik etkisini ve p53 ile MIF ifadeleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. MIF ekspresyonu ve tümörün lokasyonu ile anlamlı bir korelasyon bulmuşlardır ancak bu ekspresyon, tümörün evresi ve p53 ekspresyonu ile istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon göstermemiştir (155). Liu H ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, adenoid kistik karsinom dokusunda MIF'in ekspresyonunun arttığını ve p53 ekspresyonu ile anlamlı bir korelasyon saptanmadığını bildirmişler (156). P53'ü ifade etmeyen HeLa hücreleri ve MDA-MB-468 meme kanseri hücrelerinde yapılan bir başka çalışmada MIF aracılı Akt aktivasyonunun ve apoptoz inhibisyonunun p53'ten bağımsız olarak meydana gelebileceği gösterilmiştir (71).

Fu Pang ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmada önceki çalışmalara zıt olarak prostat kanseri olan 58 hastada p53 ekspresyonu ve MIF ekspresyonu arasında anlamlı pozitif bir ilişki saptanmıştır (157). Liang ve ark. da özofagus skuamöz hücreli karsinomda p53 ekspresyonu ve MIF ekspresyonu arasında pozitif korelasyon bulmuşlardır (158). Yapılan bir klinik çalışmada 230 kişide omental beyaz adipoz dokuda p53 ekspresyonu, inflamasyon (örn., TNF gen ekspresyonu ve CD68-pozitif makrofaj infiltrasyonu) ve BKİ arasında pozitif bir korelasyon gözlenmiştir (77). Obez kemirgenlerin ve insanların beyaz adipoz dokuda hem p53 aktivitesinin hem de inflamasyonun up-regülasyonu, yaygın olarak gözlemlenmesine rağmen, sebeysel ilişki hala bilinmemektedir (75).

Çalışmamızda da MIF ve p53 arasında pozitif bir korelasyon bulundu ($p=0,001$). Bu da obezitede MIF aracılı apoptoz inhibisyonunun p53'ten bağımsız olarak gerçekleştirebildiğini desteklemektedir.

Litaratürde obezlerde plazma MIF düzeyi ve PBMC telomeraz aktivitesini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Yalnız kanser gibi oksidatif stres durumlarında MIF ve telomeraz aktivitesi arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, 16 hafta boyunca MIF'e maruz bırakılan HS738 mide/bağırsak hücreleri, normal ortamda HS738'e kıyasla (TERT) gen ekspresyonunda 12 kat artış gözlenmektedir (159). Xia ve Hou, yaygın olarak kullanılan antikanser ilaç olan Doxorubicinin mezenkimal kök hücrelerin (MSC) yaşlanmasına sebep olduğunu ve MIF ile ön tedavinin proliferasyon oranını, canlılığı, parakrin fonksiyonunu arttığını, telomer uzunluğunu ve telomeraz aktivitesini iyileştirdiğini göstermişlerdir (139). Diğer bir çalışmada ise, miR34a'yı modüle ederek radyasyona maruz kalan kardiyomiyositlerde MIF'in hücreleri koruyucu bir etkiye sahip olup olmadığını belirlemeyi amaçlamışlardır. İnsan kardiyomiyositleri (HCM'ler) MIF ile inkübe edilmiş ve ardından radyasyona maruz bırakılmıştır. Radyasyona maruz kalan hücrelerde MIF tedavisi ile, hücre proliferasyonu artmış, yaşlanma ile ilişkili genler Cdkn1a ve Cdkn2c'nin ekspresyon seviyelerini düşmüş ve telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi geri kazanılmıştır(160).

Obezitenin oksidatif stres ile ilişkili olduğu bilinir (138), çalışmamızın bulguları arasında bunu destekler şekilde MIF ve telomeraz aktivitesi arasında pozitif

bir korelasyon bulunduğu gösterildi ($p=0.003<0.01$, $r=0.326$). Muhtemelen MIF ile bağlı AKT aktivasyonu, NF- κ B fonksiyonunun artmasını sağlayarak telomeraz aktivitesini artmaktadır. Böylece hücreye apoptoza direnme imkanı vermektedir. Bununla birlikte, MIF ile telomerazın birbirini nasıl etkilediği belirlenememiştir. Bu etkiyi açıkça göstermek için hücre düzeyinde çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yapılan neredeyse tüm *in vitro* alışmalarda p53 ve telomeraz aktivitesi arasında negatif korelasyon olduğu bildirilmiştir (161,162,163,164,165). Bizim yaptığımız çalışmada p53 ve telomeraz aktivitesi arasında bir ilişki saptanmadı. Bu bulgular *in vivo* bulgularımızla çelişiyor gibi görünmektedir, ancak *in vivo* bulguları *in vitro* bulgularla karşılaştırmak zordur. Ayırca, kanser patolojisi obezite patolojisinden farklıdır. Mevcut alışmalar çoğunu kanserde telomeraz aktivitesi ile p53 konsantrasyonu arasındaki ilişki incelenirken bizim çalışmamız bu ilişki obezitede incelenmiştir, obezitede kronik besin bolluğunun derin bir stres uyarıcısı olduğundan p53'n aktif hale getirilmesi ve aşırı kalori alımı durumlarına uyum sağlamak için gerekli olan metabolik yolları koordine etmesi düşünülmektedir.

MIF, p53 ve telomeraz aktivitesi her birinin diğer birçok sinyal yolaklarıyla ilişkilidir. Bundan dolayı çapraz konuşma oldukça karmaşıktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın amacı, obezitede MIF konsantrasyonu ile çoğunlukla kanser ile olan ilişkisi gündemde olan telomeraz aktivitesi arasındaki ilişkiyi incelemek ve böylece MIF'in hücrelerin sinyal yollarında yaptığı etkilerin daha iyi anlaşılmasına yönelik literatüre katkı sağlamaktır. Bu sayede obezite tedavisine yeni yaklaşımlar ortaya çıkmasını sağlamaktır.

Sonuç olarak çalışmamızda aşağıdaki bulgulara varılmıştır:

- Plazma MIF, p53 düzeyi ve PBMC telomeraz aktivitesi obez bireylerde anlamlı bir şekilde yüksek saptandı.
- Plazma TNF- α düzeyi ise obez bireylerde bir miktar artış görülmesine rağmen iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu.
- BKİ ile MIF, p53, telomeraz aktivitesi aralarında pozitif bir korelasyon saptandı.
- MIF ve p53 arasında pozitif bir korelasyon saptandı.
- MIF ve telomeraz aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon saptandı.
- p53 ve telomeraz aktivitesi arasında bir ilişki saptanmadı.
- TNF- α ile diğer değişkenler aralarında bir ilişki saptanmadı.

Bu *in vivo* çalışma, obezitede p53 ve inflamasyon arasındaki ilişkiyi gösteren önceki *in vitro* çalışmaları desteklemektedir. Ancak obezite ile ilişkili inflamasyonda adipoz doku içerisinde lokalize olan makrofajların sayıca fazla olduğu bilindiğine göre, p53'ün bu hücrelerde işlevini araştırmak önemlidir. Obezitede, p53 ve telomeraz aktivitesi arasındaki ilişkinin daha iyi değerlendirilmesi için adipoz doku düzeyinde de incelenmesi gereklidir. Ayrıca MIF ve telomeraz aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu söylebilsek bile, ikisinin birbirini nasıl etkilediği tespit edilememiştir. Bu etkinin net olarak ortaya konması için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Anderson JW, Konz EC. Obesity and Disease Management: Effects of Weight Loss on Comorbid Conditions. *Obes Res.*, 2001, 9:326-334.
2. Kelly T, Yang W, Chen CS, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes.*, 2008, 32(9):1431–1437.
3. Fernandez-Sanchez A, Madrigal-Santillan E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-Gonzalez A, Esquivel-Chirino C, et al. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci.*, 2011, 12(5):3117–3132.
4. Trayhurn P, Is W. Adipokines : inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue . *Br J Nutr.*, 2004, 92(3):347–355.
5. Grieb G, Merk M, Berhagen J, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): a promising biomarker. *Drug News Perspect.*, 2011, 23(4):257–264.
6. Calandra T, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: A regulator of innate immunity. *Nat Rev Immunol.*, 2003, 3(10):791–800.
7. Bucala R, Donnelly SC. Macrophage Migration Inhibitory Factor: A Probable Link between Inflammation and Cancer. *Immunity.*, 2007, 26(3):281–285.
8. Meyer-Siegler KL, Iczkowski KA, Leng L, Bucala R, Vera PL. Inhibition of Macrophage Migration Inhibitory Factor or Its Receptor (CD74) Attenuates Growth and Invasion of DU-145 Prostate Cancer Cells. *J Immunol.* 2006, 177(12):8730–8739.
9. Hagemann T, Wilson J, Kulbe H, Li NF, Leinster DA, Charles K, et al. Macrophages Induce Invasiveness of Epithelial Cancer Cells Via NF- B and JNK. *J Immunol.*, 2005, 175(2):1197–1205.
10. Hudson JD, Shoaibi MA, Maestro R, Carnero A, Hannon GJ, Beach DH. A Proinflammatory Cytokine Inhibits p53 Tumor Suppressor Activity. *J. Exp. Med.*, 1999, 190(10):1375–1382.

11. Petrenko O, Fingerle-Rowson G, Peng T, Mitchell RA, Metz CN. Macrophage migration inhibitory factor deficiency is associated with altered cell growth and reduced susceptibility to Ras-mediated transformation. *J Biol Chem.*, 2003, 278(13):11078–11085.
12. Mitchell RA, Liao H, Chesney J, Fingerle-Rowson G, Baugh J, David J, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) sustains macrophage proinflammatory function by inhibiting p53: Regulatory role in the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci.*, 2002, 99(1):345–350.
13. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PLC, et al. Specific Association of Human Telomerase Activity with Immortal Cells and Cancer. *Science*, 1994, 266(5193):2011–2015.
14. Von Zglinicki T. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci.*, 2002, 27(7):339–344.
15. Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A, Mohanty P, Garg R. Metabolic syndrome: A comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. *Circulation.*, 2005, 111(11):1448–1454.
16. Labuschagne CF, Zani F, Vousden KH. Control of metabolism by p53 – Cancer and beyond. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer.*, 2018, 1870(1):32–42.
17. Plunkett FJ, Franzese O, Finney HM, Fletcher JM, Belaramani LL, Salmon M, et al. The Loss of Telomerase Activity in Highly Differentiated CD8⁺ CD28[−] CD27[−] T Cells Is Associated with Decreased Akt (Ser 473) Phosphorylation. *J Immunol.*, 2007, 178(12):7710–7719.
18. Porton B, DeLisi LE, Bertisch HC, Ji F, Gordon D, Li P, et al. Telomerase levels in schizophrenia: A preliminary study. *Schizophr Res.* 2008, 106(2–3):242–247.
19. Shammass MA. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.*, 2011, 14(1):28–34.
20. Altunkaynak BZ, Özbek E. Obezite Nedenleri Ve Tedavi Seçenekleri. *Van Tıp Derg.*, 2006, 13(4):138–142.

21. Schetz M, De Jong A, Deane AM, Druml W, Hemelaar P, Pelosi P, et al. Obesity in the critically ill: a narrative review. *Intensive Care Medicine.*, 2019, 45:757–769.
22. Griffiths C, Jimenez E, Chalas E. Causal effect of obesity on gynecologic malignancies. *Current Problems in Cancer.*, 2019, 43:145–150.
23. Efe FK, Dönderici Ö, Gülден F, Demircan SK. Türk Kadınlarında Metabolik Sendromu Öngörmede Antropometrik Ölçümlerin Etkinliği ve Kesim Noktaları. *Genel Tıp Derg.* 2017, 3(27):84-90.
24. Pan W, Flegal KM, Chang H, Yeh W, Yeh C, Lee W. Body mass index and obesity-related metabolic disorders in Taiwanese and US whites and blacks : implications for definitions of overweight and obesity for Asians. *Am j Clin Nutr.*, 2004, 79(1):31–39.
25. Caballero B. The global epidemic of obesity: An overview. *Epidemiol Rev.*, 2007, 29(1):1–5.
26. TEMD. *Obezite Tanı ve Tedavi Kılavuzu 2019*, 8'inci baskı, Ankara, BAYT Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın ve Tanıtım Ltd. Şti., 2019, 11–18.
27. Wilborn C, Beckham J, Campbell B, Harvey T, Galbreath M, La Bounty P, et al. Obesity: Prevalence, Theories, Medical Consequences, Management, and Research Directions. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2005, 2(2):4–31.
28. Aktar N, Kabir Qureshi N, Ferdous HS. Obesity: A Review of Pathogenesis and Management Strategies in Adult. *Delta Med Col J.*, 2017, 5(1):35–48.
29. Ghanemi A, Yoshioka M, St-Amand J. Broken Energy Homeostasis and Obesity Pathogenesis: The Surrounding Concepts. *J Clin Med.*, 2018, 7(11):453–465.
30. Bollapragada MK, Shantaram M, R. SK. Obesity: Development, Epidemiology, Factors Affecting, Quantity, Health Hazards, Management And Natural Treatment-A Review. *Int J Pharm Pharm Sci.*, 2017, 9(2):12–26.
31. Pi-Sunyer FX. Medical Hazards of Obesity. *Ann Intern Med.*, 1993, 119(2):655–660.

32. Trayhurn P, Wood IS. Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. *Biochemical Society Transactions*, 2005, 33(5):1078–1081.
33. Divella R, De Luca R, Abbate I, Naglieri E, Daniele A. Obesity and cancer: The role of adipose tissue and adipo-cytokines-induced chronic inflammation. *J Cancer*, 2016, 7(15):2346–2359.
34. Flaster H, Bernhagen J, Calandra T, Bucala R. The Macrophage Migration Inhibitory Factor-Glucocorticoid Dyad: Regulation of Inflammation and Immunity. *Mol Endocrinol.*, 2007, 21(6):1267–1280.
35. Bernhagen J, Calandra T, Mitchell RA, Martin SB, Tracey KJ, Voelter W, et al. MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxaemia. *Nature*, 1993, 365:756–759.
36. Lacy M, Kontos C, Brandhofer M, Hille K, Gröning S, Sinitski D, et al. Identification of an Arg-Leu-Arg tripeptide that contributes to the binding interface between the cytokine MIF and the chemokine receptor CXCR4. *Sci Rep.*, 2018, 8(1):1–16.
37. Kok T, Wasieleski AA, Cool RH, Melgert BN, Poelarends GJ, Dekker FJ. Small-molecule inhibitors of macrophage migration inhibitory factor (MIF) as an emerging class of therapeutics for immune disorders. Vol. 23, *Drug Discovery Today*, 2018, 23(11): 1910–1918.
38. Fingerle-Rowson G, Koch P, Bikoff R, Lin X, Metz CN, Dhabhar FS, et al. Regulation of Macrophage Migration Inhibitory Factor Expression by Glucocorticoids in Vivo. *American Journal of Pathology*, 2003, 162(1): 47–56.
39. Roger T, Schlapbach LJ, Schneider A, Weier M, Wellmann S, Marquis P, et al. Plasma levels of macrophage migration inhibitory factor and d-dopachrome tautomerase show a highly specific profile in early life. *Front Immunol.* 2017, 8(26):1–10.
40. Budarf M, McDonald T, Sellinger B, Kozak C, Graham C, Wistow G. Localization of the human gene for macrophage migration inhibitory factor (MIF) to chromosome 22q11.2. *Genomics*. 1997, 39(2):235–236.

41. Chitnis S, Monteiro J, Lin X, Wolfe F, Bucala R. A functional promoter polymorphism in the macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene associated with disease severity in rheumatoid arthritis. *Genes Immun.* 2003, 3:170–176.
42. Reid D, Shenoi S, Singh R, Wang M, Patel V, Das R, et al. Low expression Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) alleles and tuberculosis in HIV infected South Africans. *Cytokine X*, 2019, 1(1):1–6.
43. Su H, Na N, Zhang X, Zhao Y. The biological function and significance of CD74 in immune diseases. *Inflammation Research*, 2017, 66(3): 209–216.
44. Shi X, Leng L, Wang T, Wang W, Du X, Li J, et al. CD44 Is the Signaling Component of the Macrophage Migration Inhibitory Factor-CD74 Receptor Complex. *Immunity*, 2006, 25(4):595–606.
45. Nobre CCG, de Araújo JMG, Fernandes TAA de M, Cobucci RNO, Lanza DCF, Andrade VS, et al. Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF): Biological Activities and Relation with Cancer. *Pathology and Oncology Research*, 2017, 23:235–244.
46. Jung H, Kim T, Chae HZ, Kim KT, Ha H. Regulation of Macrophage Migration Inhibitory Factor and Thiol-specific Antioxidant Protein PAG by Direct Interaction. *J Biol Chem*, 2001, 276(18):15504–15510.
47. Jung H, Seong HA, Ha H. Direct interaction between NM23-H1 and macrophage migration inhibitory factor (MIF) is critical for alleviation of MIF-mediated suppression of p53 activity. *J Biol Chem.* 2008, 283(47):32669–79.
48. Kleemann R, Mischke R, Kapurniotu A, Brunner H, Bernhagen J. Specific reduction of insulin disulfides by macrophage migration inhibitory factor (MIF) with glutathione and dihydrolipoamide: Potential role in cellular redox processes. *FEBS Lett.*, 1998, 430(3):191–196.
49. Schindler L, Dickerhof N, Hampton MB, Bernhagen J. Post-translational regulation of macrophage migration inhibitory factor: Basis for functional fine-tuning. *Redox Biology*, 2018, 15:135–142.

50. Flaster H, Bernhagen J, Calandra T, Bucala R. The macrophage migration inhibitory factor-glucocorticoid dyad: Regulation of inflammation and immunity. *Mol Endocrinol.*, 2007, 21(6):1267–1280.
51. Stathas T, Athanassiou SD, Drakouli S, Giannopoulou E, Mastronikolis NS, Naxakis S, et al. MIF attenuates the suppressive effect of dexamethasone on IL-6 production by nasal polyp. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.*, 2013, 17: 1455–1466
52. Xu L, Li Y, Sun H, Zhen X, Qiao C, Tian S, et al. Current developments of macrophage migration inhibitory factor (MIF) inhibitors. *Drug Discov Today*. 2013, 18(11–12):592–600.
53. Burger-Kentscher A, Finkelmeier D, Thiele M, Schmucker J, Geiger G, Tovar GEM, et al. Binding of JAB1/CSN5 to MIF is mediated by the MPN domain but is independent of the JAMM motif. *FEBS Lett.* 2005, 579(7):1693–1701.
54. Park YH, Jeong MS, Ha KT, Yu HS, Jang SB. Structural characterization of As-MIF and hJAB1 during the inhibition of cell-cycle regulation. *BMB Rep.*, 2017, 50(5):269–274.
55. Nguyen MT, Lue H, Kleemann R, Thiele M, Tolle G, Finkelmeier D, et al. The Cytokine Macrophage Migration Inhibitory Factor Reduces Pro-Oxidative Stress-Induced Apoptosis. *J Immunol.*, 2003, 170(6):3337–3347.
56. Berndt K, Kim M, Meinhardt A, Klug J. Macrophage migration inhibitory factor does not modulate co-activation of androgen receptor by Jab1/CSN5. *Mol Cell Biochem.*, 2008, 307(1–2):265–271.
57. Toso C, Emamaullee JA, Merani S, Shapiro AMJ. The role of macrophage migration inhibitory factor on glucose metabolism and diabetes. *Diabetologia.*, 2008, 51:1937–1946.
58. Stošić-Grujičić S, Saksida T, Miljković Đ, Stojanović I. MIF and insulin: Lifetime companions from common genesis to common pathogenesis. *Cytokine*, 2020, 125:1–10.

59. Diego S. Insulin secretion is regulated by the glucose-dependent production of islet β cell macrophage migration inhibitory factor. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1997, 94:4782–4787.
60. Koska J, Stefan N, Dubois S, Trinidad C, Considine R V., Funahashi T, et al. mRNA concentrations of MIF in subcutaneous abdominal adipose cells are associated with adipocyte size and insulin action. *Int J Obes.*, 2009, 33(8):842–850.
61. Verschuren L, Kooistra T, Bernhagen J, Voshol PJ, Ouwens DM, Van Erk M, et al. MIF deficiency reduces chronic inflammation in white adipose tissue and impairs the development of insulin resistance, glucose intolerance, and associated atherosclerotic disease. *Circ Res.*, 2009, 105(1):99–107.
62. Dandona P, Aljada A, Ghanim H, Mohanty P, Tripathy C, Hofmeyer D, et al. Increased plasma concentration of macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) and MIF mRNA in mononuclear cells in the obese and the suppressive action of metformin. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2004, 89(10):5043–5047.
63. Bloom J, Metz C, Nalawade S, Casabar J, Cheng KF, He M, et al. Identification of iguratimod as an inhibitor of macrophage migration inhibitory factor (MIF) with steroid-sparing potential. *J Biol Chem.*, 2016, 291(51):26502–26514.
64. Aeberli D, Leech M, Morand EF. Macrophage migration inhibitory factor and glucocorticoid sensitivity. *Rheumatology.*, 2006, 45:937–943.
65. Ohkawara T, Takeda H, Miyashita K, Nishiwaki M, Nakayama T, Taniguchi M, et al. Regulation of Toll-like receptor 4 expression in mouse colon by macrophage migration inhibitory factor. *Histochem Cell Biol.*, 2006, 125(5):575–582.
66. Korniluk A, Koper O, Kemoni H, Dymicka-Piekarska V. From inflammation to cancer. *Irish Journal of Medical Science*, 2017, 186:57–62.
67. Todoric J, Antonucci L, Karin M. Targeting inflammation in cancer prevention and therapy. *Cancer Prevention Research*, 2016, 9(12):895–905.
68. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, Inflammation, and Cancer. *Cell.*, 2010, 140:883–899.

69. Babu SN, Chetal G, Kumar S. Macrophage migration inhibitory factor: A potential marker for cancer diagnosis and therapy. *Asian Pacific J Cancer Prev.*, 2012, 13(5):1737–1744.
70. Verjans E, Noetzel E, Bektas N, Schütz AK, Lue H, Lennartz B, et al. Dual role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in human breast cancer. *BMC Cancer.*, 2009, 9:1–18.
71. Lue H, Thiele M, Franz J, Dahl E, Speckgens S, Leng L, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) promotes cell survival by activation of the Akt pathway and role for CSN5/JAB1 in the control of autocrine MIF activity. *Oncogene.*, 2007, 26(35):5046–5059.
72. Kindt N, Journe F, Laurent G, Saussez S. Involvement of macrophage migration inhibitory factor in cancer and novel therapeutic targets (Review). *Oncology Letters.*, 2016, 12:2247–2253.
73. O'Reilly C, Doroudian M, Mawhinney L, Donnelly SC. Targeting MIF in Cancer: Therapeutic Strategies, Current Developments, and Future Opportunities. *Med Res Rev.*, 2016, 36(3):440–460.
74. Goldstein I, Rotter V. Regulation of lipid metabolism by p53 - fighting two villains with one sword. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2012, 23:567–75.
75. Krstic J, Reinisch I, Schupp M, Schulz TJ, Prokesch A. P53 functions in adipose tissue metabolism and homeostasis. *Int J Mol Sci.* 2018, 19(9):1-21.
76. Minamino T, Orimo M, Shimizu I, Kunieda T, Yokoyama M, Ito T, et al. A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nat Med.*, 2009, 15(9):1082–1087.
77. Ortega FJ, Moreno-Navarrete JM, Mayas D, Serino M, Rodriguez-Hermosa JJ, Ricart W, et al. Inflammation and insulin resistance exert dual effects on adipose tissue tumor protein 53 expression. *Int J Obes.*, 2014, 38(5):737–745.
78. Marine JC, Francoz S, Maetens M, Wahl G, Toledo F, Lozano G. Keeping p53 in check: Essential and synergistic functions of Mdm2 and Mdm4. *Cell Death Differ.*, 2006, 13(6):927–934.

79. Colditz GA, Lindsay L. Obesity and cancer: Evidence, impact, and future directions. *Clin Chem.*, 2018, 64(1):154–162.
80. Choi JY, Jang YS, Min SY, Song JY. Overexpression of MMP-9 and hif-1 α in breast cancer cells under hypoxic conditions. *J Breast Cancer.*, 2011, 14(2):88–95.
81. Conroy H, Mawhinney L, Donnelly SC. Inflammation and cancer: Macrophage migration inhibitory factor (MIF)-the potential missing link. *QJM.*, 2010, 103:831–836.
82. Perveen S, Ayasolla K, Zagloul N, Patel H, Ochani K, Orner D, et al. MIF inhibition enhances pulmonary angiogenesis and lung development in congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Res.*, 2019, 85(5):711–8.
83. Choudhary S, Hegde P, Pruitt JR, Sielecki TM, Choudhary D, Scarpato K, et al. Macrophage migratory inhibitory factor promotes bladder cancer progression via increasing proliferation and angiogenesis. *Carcinogenesis.*, 2013, 34(12):2891–2899.
84. Li Q, He Q, Baral S, Mao L, Li Y, Jin H, et al. MicroRNA-493 regulates angiogenesis in a rat model of ischemic stroke by targeting MIF. *FEBS J.*, 2016, 283(9):1720–1733.
85. MIF and MMP-9 expression levels positively correlate with pathological stages of gingival cancer. *Int J Clin Exp Med.*, 2019, 12(9):11178-11184.
86. Christoffersson G, Vågesjö E, Vandooren J, Lidén M, Massena S, Reinert RB, et al. VEGF-A recruits a proangiogenic MMP-9-delivering neutrophil subset that induces angiogenesis in transplanted hypoxic tissue. *Blood*, 2012, 120:4653-4662.
87. Soumoy L, Kindt N, Ghanem G, Saussez S, Journe F. Role of macrophage migration inhibitory factor (Mif) in melanoma. *Cancers.* 2019, 11(4):529-540.
88. Culp WD, Tsagozis P, Burgio M, Russell P, Pisa P, Garland D. Interference of macrophage migration inhibitory factor expression in a mouse melanoma inhibits tumor establishment by up-regulating thrombospondin-1. *Mol Cancer Res.*, 2007, 5(12):1225–1231.

89. Leão R, Apolónio JD, Lee D, Figueiredo A, Tabori U, Castelo-Branco P. Mechanisms of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) regulation: Clinical impacts in cancer. *J.Biomed Sci.*, 2018, 25.
90. Eitsuka T, Nakagawa K, Kato S, Ito J, Otoki Y, Takasu S, et al. Modulation of telomerase activity in cancer cells by dietary compounds: A review. Vol. 19, *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, 19(2):478–496.
91. Takakura M, Kyo S, Kanaya T, Tanaka M, Inoue M. Expression of human telomerase subunits and correlation with telomerase activity in cervical cancer. *Cancer Res.*, 1998, 58(7):1558–1561.
92. Akincilar SC, Unal B, Tergaonkar V. Reactivation of telomerase in cancer. *Cell Mol Life Sci.*, 2016, 73(8):1659–1670.
93. Kanaya T, Kyo S, Hamada K, Takakura M, Kitagawa Y, Harada H, et al. Adenoviral Expression of p53 Represses Telomerase Activity through Down-Regulation of Human Telomerase Reverse Transcriptase Transcription. *Clin. Cancer Res.*, 2000, 6:1239–1247.
94. Fouquerel E, Lormand J, Bose A, Lee HT, Kim GS, Li J, et al. Oxidative guanine base damage regulates human telomerase activity. *Nat Struct Mol Biol.*, 2016, 23(12):1092–1100.
95. Fitzpatrick AL, Kronmal RA, Gardner JP, Psaty BM, Jenny NS, Tracy RP, et al. Leukocyte telomere length and cardiovascular disease in the cardiovascular health study. *Am J Epidemiol.*, 2007, 165(1):14–21.
96. van der Harst P, van der Steege G, de Boer RA, Voors AA, Hall AS, Mulder MJ, et al. Telomere Length of Circulating Leukocytes Is Decreased in Patients With Chronic Heart Failure. *J Am Coll Cardiol.*, 2007, 49(13):1459–1464.
97. Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet*, 2003, 361(9355):393–395.
98. De Lange T. Telomere-related genome instability in cancer. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.*, 2005, 70:197–204.

99. Samadi FM, Suhail S, Sonam M, Singh S, Singh D. Original Article Telomerase Activity in Oral Leukoplakia and Oral Squamous Cell Carcinoma. *J Adv Med Dent Sci Res.*, 2018, 6:120–124.
100. Horikawa I, Cable PLA, Afshari C, Barrett JC. Cloning and characterization of the promoter region of human telomerase reverse transcriptase gene. *Cancer Res.*, 1999, 59(4):826–830.
101. Shalem-Cohavi N, Beery E, Nordenberg J, Rozovski U, Raanani P, Lahav M, et al. The effects of proteasome inhibitors on telomerase activity and regulation in multiple myeloma cells. *Int J Mol Sci.*, 2019, 20(10):2509–2521.
102. Deng WG, Jayachandran G, Wu G, Xu K, Roth JA, Ji L. Tumor-specific activation of human telomerase reverses transcriptase promoter activity by activating enhancer-binding protein-2 β in human lung cancer cells. *J Biol Chem.*, 2007, 282(36):26460–26470.
103. Fragkiadaki P, Tsoukalas D, Fragkiadoulaki I, Psycharakis C, Nikitovic D, Spandidos DA, et al. Telomerase activity in pregnancy complications (Review). *Mol Med Rep.*, 2016, 14(1):16–21.
104. Nishi H, Nakada T, Kyo S, Inoue M, Shay JW, Isaka K. Hypoxia-Inducible Factor 1 Mediates Upregulation of Telomerase (hTERT). *Mol Cell Biol.*, 2004, 24(13):6076–6083.
105. Kyo S, Takakura M, Fujiwara T, Inoue M. Understanding and exploiting hTERT promoter regulation for diagnosis and treatment of human cancers. *Cancer Sci.*, 2008, 99(8):1528–1538.
106. Misiti S, Nanni S, Fontemaggi G, Cong Y-S, Wen J, Hirte HW, et al. Induction of hTERT Expression and Telomerase Activity by Estrogens in Human Ovary Epithelium Cells. *Mol Cell Biol.*, 2000, 20(11):3764–3671.
107. Oh S, Song Y, Yim J, Kim TK. The Wilms' tumor 1 tumor suppressor gene represses transcription of the human telomerase reverse transcriptase gene. *J Biol Chem.*, 1999, 274(52):37473–37478.

108. Fujimoto K, Kyo S, Takakura M, Kanaya T, Kitagawa Y, Itoh H, et al. Identification and characterization of negative regulatory elements of the human telomerase catalytic subunit (hTERT) gene promoter: Possible role of MZF-2 in transcriptional repression of hTERT. *Nucleic Acids Res.*, 2000, 28(13):2557–2562.
109. Takakura M, Kyo S, Inoue M, Wright WE, Shay JW. Function of AP-1 in Transcription of the Telomerase Reverse Transcriptase Gene (TERT) in Human and Mouse Cells. *Mol Cell Biol.*, 2005, 25(18):8037–8043.
110. Renaud S, Loukinov D, Bosman FT, Lobanenkov V, Benhattar J. CTCF binds the proximal exonic region of hTERT and inhibits its transcription. *Nucleic Acids Res.*, 2005, 33(21):6850–6860.
111. Lin SY, Elledge SJ. Multiple tumor suppressor pathways negatively regulate telomerase. *Cell*, 2003, 113(7):881–89.
112. Jafri MA, Ansari SA, Alqahtani MH, Shay JW. Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies. *Genome Med.*, 2016, 8(1):69–87.
113. Nevins R. Toward an Understanding of the Functional Families the accumulation Complexity of the. *Cell growth Differ.*, 1998, 9:585–93.
114. Won J, Yim J, Kim TK. Opposing regulatory roles of E2F in human telomerase reverse transcriptase (hTERT) gene expression in human tumor and normal somatic cells. *FASEB J.*, 2002, 16(14):1943–1945.
115. Fathi E, Valipour B, Sanaat Z, Nozad Charoudeh H, Farahzadi R. Interleukin-6, -8, and TGF- β Secreted from Mesenchymal Stem Cells Show Functional Role in Reduction of Telomerase Activity of Leukemia Cell Via Wnt5a/ β -Catenin and P53 Pathways. *Adv Pharm Bull.*, 2020, 10(2):307–314.
116. Ghanim H, Aljada A, Hofmeyer D, Syed T, Mohanty P, Dandona P. Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state. *Circulation*, 2004, 110(12):1564–1571.

117. Sheu WHH, Chang TM, Lee WJ, Ou HC, Wu CM, Tseng LN, et al. Effect of weight loss on proinflammatory state of mononuclear cells in obese women. *Obesity*, 2008, 16(5):1033–1038.
118. Kamchybekov U, Figulla HR, Gerdes N, Jung C. Macrophage migration inhibitory factor is elevated in obese adolescents. *Arch Physiol Biochem.*, 2012, 118(4):204–209.
119. Skurk T, Herder C, Kräfft I, Müller-Scholze S, Hauner H, Kolb H. Production and release of macrophage migration inhibitory factor from human adipocytes. *Endocrinology*, 2005, 146(3):1006–1011.
120. González-Muniesa P, Marrades MP, Martínez JA, Moreno-Aliaga MJ. Differential proinflammatory and oxidative stress response and vulnerability to metabolic syndrome in habitual high-fat young male consumers putatively predisposed by their genetic background. *Int J Mol Sci.*, 2013, 14(9):17238–17255.
121. Alvehus M, Burén J, Sjöström M, Goedecke J, Olsson T. The human visceral fat depot has a unique inflammatory profile. *Obesity*, 2010, 18(5):879–883.
122. Fenske WK, Dubb S, Bueter M, Seyfried F, Patel K, Tam FWK, et al. Effect of bariatric surgery-induced weight loss on renal and systemic inflammation and blood pressure: A 12-month prospective study. *Surg Obes Relat Dis.*, 2013, 9(4):559–568.
123. Sumarac-Dumanovic M, Stevanovic D, Ljubic A, Jorga J, Simic M, Stamenkovic-Pejkovic D, et al. Increased activity of interleukin-23/interleukin-17 proinflammatory axis in obese women. *Int J Obes.*, 2009, 33(1):151–156.
124. Church TS, Willis MS, Priest EL, LaMonte MJ, Earnest CP, Wilkinson WJ, et al. Obesity, macrophage migration inhibitory factor, and weight loss. *Int J Obes.*, 2005, 29(6):675–681.
125. Yahagi N, Shimano H, Matsuzaka T, Najima Y, Sekiya M, Nakagawa Y, et al. P53 Activation in Adipocytes of Obese Mice. *J Biol Chem.*, 2003, 278(28):25395–25400.
126. Homayounfar R, Jeddi-Tehrani M, Cheraghpour M, Ghorbani A, Zand H. Relationship of p53 accumulation in peripheral tissues of high-fat diet-induced obese

rats with decrease in metabolic and oncogenic signaling of insulin. *Gen Comp Endocrinol.*, 2015, 214:134–139.

127. Porteiro B, Díaz-Ruíz A, Martínez G, Senra A, Vidal A, Serrano M, et al. Ghrelin requires p53 to stimulate lipid storage in fat and liver. *Endocrinology*. 2013, 154(10):3671–3679.

128. Yokoyama M, Okada S, Nakagomi A, Moriya J, Shimizu I, Nojima A, et al. Inhibition of endothelial p53 improves metabolic abnormalities related to dietary obesity. *Cell Rep.*, 2014, 7(5):1691–1703.

129. Yahagi N, Shimano H, Matsuzaka T, Sekiya M, Najima Y, Okazaki S, et al. p53 Involvement in the pathogenesis of fatty liver disease. *J Biol Chem.*, 2004, 279(20):20571–20575.

130. Weng NP, Levine BL, June CH, Hodes RJ. Regulated expression of telomerase activity in human T lymphocyte development and activation. *J Exp Med.*, 1996, 183(6):2471–2479.

131. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, Dhabhar FS, Adler NE, Morrow JD, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *PNAS.*, 2004, 101 (49) 17312-17315.

132. Ornish D, Lin J, Daubenmier J, Weidner G, Epel E, Kemp C, et al. Articles Increased telomerase activity and comprehensive lifestyle changes: a pilot study. *Lancet Oncol.*, 2008, 9:1048–1057.

133. Marcon F, Siniscalchi E, Andreoli C, Allione A, Fiorito G, Medda E, et al. Telomerase activity, telomere length and hTERT DNA methylation in peripheral blood mononuclear cells from monozygotic twins with discordant smoking habits. *Environ Mol Mutagen.*, 2017, 58(8):551–559.

134. Boccardi V, Esposito A, Rizzo MR, Marfella R, Barbieri M, Paolisso G. Mediterranean Diet, Telomere Maintenance and Health Status among Elderly. *PLoS One.*, 2013, 8(4):4–9.

135. Ornish D, Lin J, Chan JM, Epel E, Kemp C, Weidner G, et al. Effect of comprehensive lifestyle changes on telomerase activity and telomere length in men

with biopsy-proven low-risk prostate cancer: 5-year follow-up of a descriptive pilot study. *The Lancet Oncology*, 2013, 20(5):387–389.

136. Giles M, Flossmann E, Redgrave J, Lovelock C, Mehta Z, Rothwell P, et al. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *ACC Curr J Rev*. 2005, 14(10):12–13.

137. Mundstock E, Sarria EE, Zatti H, Mattos Louzada F, Kich Grun L, Herbert Jones M, et al. Nutrition and lifestyle in healthy aging: the telomerase challenge. *Obesity*, 2015, 23:2165–2174.

138. Furukawa S, Matsuda M, Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome Find the latest version : Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest.*, 2017, 114(12):1752–1761.

139. Xia W, Hou M. Macrophage migration inhibitory factor rescues mesenchymal stem cells from doxorubicin-induced senescence though the PI3K-Akt signaling pathway. *Int J Mol Med.*, 2018, 41(2):1127–1137.

140. Hasan A, Akhter N, Al-Roub A, Thomas R, Kochumon S, Wilson A, et al. TNF- α in combination with palmitate enhances IL-8 production via the MyD88-independent TLR4 signaling pathway: Potential relevance to metabolic inflammation. *Int J Mol Sci.*, 2019, 20(17):1–22

141. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.*, 1995, 95(5):2409–2415.

142. Hauner H, Bender M, Haastert B, Hube F. Plasma concentrations of soluble TNF-alpha receptors in obese subjects. *Int J Obes.*, 1998, 22:1239–1243.

143. Ezquerro S, Mocha F, Frühbeck G, Guzmán-Ruiz R, Valentí V, Mugueta C, et al. Ghrelin Reduces TNF- α -Induced Human Hepatocyte Apoptosis, Autophagy, and Pyroptosis: Role in Obesity-Associated NAFLD. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2020, 104(1):21–37.

144. Strackowski M, Dzienis-Strackowska S, Stępień A, Kowalska I, Szelachowska M, Kinalska I. Plasma interleukin-8 concentrations are increased in obese subjects and related to fat mass and tumor necrosis factor- α system. *J Clin Endocrinol Metab.*, 2002, 87(10):4602–4606.
145. Founds SA, Powers RW, Patrick TE, Ren D, Harger GF, Markovic N, et al. A comparison of circulating TNF- α in obese and lean women with and without preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.*, 2008, 27(1):39–48.
146. Tsiotra PC, Halvatsiotis P, Patsouras K, Maratou E, Salamalekis G, Raptis SA, et al. Circulating adipokines and mRNA expression in adipose tissue and the placenta in women with gestational diabetes mellitus. *Peptides.*, 2018, 101:157–166.
147. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, Katz DR, Miles JM, Yudkin JS, et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , in vivo. *J Clin Endocrinol Metab.*, 1997, 82(12):4196–4200.
148. Fontana L, Eagon JC, Trujillo ME, Scherer PE, Klein S. Visceral Fat Adipokine Secretion Is Associated With Systemic Inflammation in Obese Humans. *Diabetes*, 2007, 56:1010–1013.
149. Zahorska-Markiewicz B, Anowska J, Olszanecka-Glinianowicz M, Zurakowski A. Serum concentrations of TNF- α and soluble TNF- α receptors in obesity. *Int J Obes.*, 2000, 24(11):1392–1395.
150. Moon YS, Kim DH, Song DK. Serum tumor necrosis factor- α levels and components of the metabolic syndrome in obese adolescents. *Metabolism*, 2004, 53(7):863–867.
151. Katsuki A, Sumida Y, Murashima S, Murata K, Takarada Y, Ito K, et al. Serum Levels of Tumor Necrosis Factor-Are Increased in Obese Patients with Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998, 83(3):859–862.
152. Miyazaki Y, Pipek R, Mandarino LJ, DeFronzo RA. Tumor necrosis factor α and insulin resistance in obese type 2 diabetic patients. *Int J Obes.*, 2003, 27(1):88–94.

153. Pfeiffer A, Janott J, Möhlig M, Ristow M, Rochlitz H, Busch K, et al. Circulating tumor necrosis factor α is elevated in male but not in female patients with type II diabetes mellitus. *Horm Metab Res.*,1997, 29(3):111–114.
154. Zinman B, Hanley AJG, Harris SB, Kwan J, Fantus IG. Circulating Tumor Necrosis Factor-Concentrations in a Native Canadian Population with High Rates of Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*,1999, 84(1):272–277.
155. Nabizadeh Marvast M, Sima HR, Ghaffarzadehgan K, Taghizadeh Kermani A, Norouzi N. Clinicopathological significance of macrophage migration inhibitory factor and its relation with P53 in gastric cancer. *J Gastrointest Cancer.*,2011,42(1):5–10.
156. Liu H, Chen G, Zhang W, Zhu JY, Lin ZQ, Gong ZC, et al. Overexpression of macrophage migration inhibitory factor in adenoid cystic carcinoma: Correlation with enhanced metastatic potential. *J Cancer Res Clin Oncol.*, 2013, 139(2):287–295.
157. Pang F, Fang Li J, Ding P. The Expression of p53 and MIF in Human Prostatic Carcinoma and Their Clinical Significances. *Journal of Nanhua University (Medical Edition)*, 2008, 36(4)452–454.
158. Liang C, Xi ZHA, The YUZ, Hospital A. Significance of Expression of MIF, p53 and MVD in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Practical Medical Techniques*, 2008, 25. http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotalsYYJ200825003.htm. 13 Kasım 2020.
159. Morris KT, Nofchissey RA, Pinchuk I V., Beswick EJ. Chronic macrophage migration inhibitory factor exposure induces mesenchymal epithelial transition and promotes gastric and colon cancers. *PLoS One*. 2014, 9(6). <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0098656>. 13 Kasım 2020.
160. Hu Y, Xia W, Hou M. Macrophage migration inhibitory factor serves a pivotal role in the regulation of radiation-induced cardiac senescence through rebalancing the microRNA-34a/sirtuin 1 signaling pathway. *Int J Mol Med.*, 2018, 42(5):2849–2858.

161. Kanaya T, Kyo S, Hamada K, Takakura M, Kitagawa Y, Harada H, et al. Adenoviral expression of p53 represses telomerase activity through down-regulation of human telomerase reverse transcriptase transcription. *Clin Cancer Res.*, 2000, 6(4):1239–1247.
162. Xu D, Wang Q, Gruber A, Bjorkholm M, Chen Z, Zaid A, et al. Downregulation of telomerase reverse transcriptase mRNA expression by wild type p53 in human tumor cells. *Oncogene.*, 2000, 19:5123–5133.
163. Kusumoto M, Ogawa T, Mizumoto K, Ueno H, Niiyama H, Sato N, et al. Adenovirus-mediated p53 Gene Transduction Inhibits Telomerase Activity Independent of Its Effects on Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Pancreatic Cancer Cells. *Clin. Cancer Res.*, 1999, 5(8):2140–2147.
164. Rong–Chen J, Wu P-H, Ho C-T, Way T-D, Pan M-H, et al. P53-dependent downregulation of hTERT protein expression and telomerase activity induces senescence in lung cancer cells as a result of pterostilbene treatment. *Cell Death Dis.*, 2017, 8:1–11.
165. Qin QP, Wang SL, Tan MX, Wang ZF, Luo DM, Zou BQ, et al. Novel tacrine platinum(II) complexes display high anticancer activity via inhibition of telomerase activity, dysfunction of mitochondria, and activation of the p53 signaling pathway. *Eur J Med Chem.*, 2018, 158:106–122.

