

T.C.  
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

MMTV-TGF- $\alpha$  POZİTİF FARELERDE FARKLI  
KALORİ KISITLAMASI UYGULAMALARININ  
HAYVANLARIN FARKLI YAŞLARDAKİ  
İNFLAMASYON PARAMETRELERİ ÜZERİNE  
ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İLKER ÇOBAN

İstanbul-2018

T.C.  
YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

MMTV-TGF- $\alpha$  POZİTİF FARELERDE FARKLI  
KALORİ KISITLAMASI UYGULAMALARININ  
HAYVANLARIN FARKLI YAŞLARDAKİ  
İNFLAMASYON PARAMETRELERİ ÜZERİNE  
ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İLKER ÇOBAN

DANIŞMAN

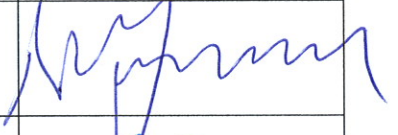

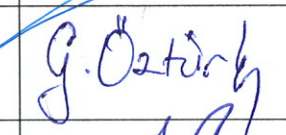


Doç. Dr. Soner DOĞAN

İstanbul-2018

## TEZ ONAYI FORMU

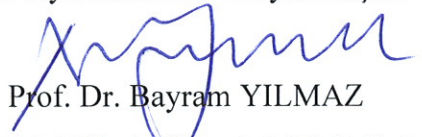
Kurum : Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Program : Fizyoloji Yüksek Lisans Programı  
Tez Başlığı : MMTV-TGF- $\alpha$  Pozitif Farelerde Farklı Kalori Kısıtlaması Uygulamalarının Hayvanların Farklı Yaşlardaki İnflamasyon Parametreleri Üzerine Etkisi  
Tez Sahibi : İlker ÇOBAN  
Sınav Tarihi : 26.11.2018

Bu çalışma jürimiz tarafından kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı, Adı-Soyadı (Kurumu)	İmza
Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Bayram YILMAZ Yeditepe Üniversitesi	
Tez danışmanı:	Doç. Dr. Soner DOĞAN Yeditepe Üniversitesi	
Üye:	Prof. Dr. Güler ÖZTÜRK İstanbul Medeniyet Üniversitesi	
Üye:	Doç. Dr. Aylin YABA UÇAR Yeditepe Üniversitesi	
Üye:	Doç. Dr. Mehtap KAÇAR Yeditepe Üniversitesi	

### ONAY

Bu tez Yeditepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun 30./11./2018 tarih ve 2018/20-32 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Bayram YILMAZ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## BEYAN

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışım olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışım olmadığını beyan ederim.

İlker ÇOBAN



## İTHAF

Sait Faik, “İnsan sevdiklerine en iyi yapabildikleri şeyleri veriyor.” demişti.

Bende naçizane bu eserimi:

İlk olarak benden hiçbir desteğini esirgemeyen annem Sürüye ÇOBAN’a, babam Muammer ÇOBAN’a, biricik kardeşim Yiğit Türker ÇOBAN’a ve dayım Coşkun TEZEN’e, daha sonra, her konuda arkamda olan ve bu eserin ortaya çıkmasında bana yol gösteren Sayın Emekli Tümamiral Dr. Haydar Mücahit ŞİŞLİOĞLU ve Profesör Dr. Bayram YILMAZ hocalarıma ve en son olarak, bu eserimi hazırlamam esnasında bana her türlü yardımda bulunan ve yanımda olan çok değerli Hasret Gülüş OYMAK ve Sâbahat DALAN EKER’e ithaf ediyorum ve teşekkürlerimi sunuyorum.

## TEŐEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleőtirilmesinde, iki yıl boyunca değerli bilgilerini bizlerle paylaőan, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam; Doç. Dr. Soner DOğAN'a, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen ve çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen laboratuvar arkadaşlarım Burak DEMİR, Göktuğ KARABIYIK ve Ozan ŐEN arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



## İÇİNDEKİLER TABLOSU

TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
SEMBOLLER ve KISALTMALAR LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2. 1. İnflamasyon.....	2
2. 2. İnflamasyonun Rol Aldığı Patofizyolojik Olaylar.....	4
2. 3. İnflamasyonu Etkileyen Faktörler.....	6
2. 4. İnflamatuvar Sitokinler.....	7
2. 4. 1. İnterlökin -1 Alfa (IL-1 $\alpha$ ).....	8
2. 4. 2. İnterlökin-6 (IL-6).....	10
2. 4. 3. İnterlökin-10 (IL-10).....	11
2. 4. 4. İnterlökin-13 (IL-13).....	13
2. 4. 5. Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- $\alpha$ ).....	15
2. 4. 6. Monosit Kemotaktik Protein-1 (MCP-1, CCL2).....	17
2.5. İnflamasyon ve Kanser İlişkisi.....	17
2. 5. 1. IL-1 ve Kanser İlişkisi.....	18
2. 5. 2. IL-6 ve Kanser İlişkisi.....	20
2. 5. 3. IL-10 ve Kanser İlişkisi.....	22
2. 5. 4. IL-13 ve Kanser İlişkisi.....	24
2. 5. 5. TNF- $\alpha$ ve Kanser İlişkisi.....	26
2. 5. 6. MCP-1 ve Kanser İlişkisi.....	29
2. 6. Yaşa Bağlı Olarak İnflamasyon Parametrelerinin Değişimi.....	31
2. 7. Kalori Kısıtlamasının İnflamasyon Parametreleri Üzerine Etkisi.....	33

3. GEREÇ ve YÖNTEM .....	39
3.1. Deney Hayvanları .....	39
3.1.2. Deney Grupları .....	39
3.3.1. Kit Solüsyonlarının Hazırlanması.....	40
3.3.2. İmmunoassay Prosedürü .....	41
4. İSTATİSTİK.....	44
5. BULGULAR .....	45
5.1. Farklı Şekilde Uygulanan Kalori Kısıtlamasının Serum Sitokin Seviyeleri Üzerine Etkisi .....	45
5.1.1. Farklı Şekilde Uygulanan Kalori Kısıtlamasının 17. Haftada Serum Sitokin Seviyeleri Üzerine Etkisi. ....	45
5.1.2. Farklı Şekilde Uygulanan Kalori Kısıtlamasının 50. Haftada Serum Sitokin Seviyeleri Üzerine Etkisi. ....	51
5.2. Yaşlanma ile Beraber Kalori Kısıtlamasının Sitokin Seviyeleri Üzerine Etkisi .....	57
5.2.1 Yaşlanma ile Beraber Farklı Kalori Kısıtlaması Uygulamalarının Aynı Hayvanlar Üzerinde Sitokin Seviyelerine Etkisi .....	57
5.2.2. Yaşlanma ile Beraber Farklı Kalori Kısıtlaması Uygulamalarının Farklı Hayvanlar Üzerinde Sitokin Seviyelerine Etkisi .....	67
6. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	77
7. KAYNAKLAR.....	85
8. EKLER.....	101
8.1. Özgeçmiş .....	101
8.2. Etik Kurul Raporu.....	105



## TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo 1:</b> Hücre Hatlarına Göre IL-1 mRNA Seviyeleri.....	18
<b>Tablo 2:</b> MCP-1'in Çeşitli Hücre Tipleri Üzerine Etkisi.....	29
<b>Tablo 3:</b> Yaşlanma Mekanizmaları ve Sinyal Yolakları .....	32
<b>Tablo 4:</b> 17 Haftalık Yaşta Olan Hayvanların, Serum IL-1 $\alpha$ Sitokininin, Hayvanlara Uygulanan Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Değişimi. ....	45
<b>Tablo 5:</b> 17 Haftalık Yaşta Olan Hayvanların, Serum IL-6 Sitokininin, Hayvanlara Uygulanan Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Değişimi. ....	46
<b>Tablo 6:</b> 17 Haftalık Yaşta Olan Hayvanların, Serum IL-10 Sitokininin, Hayvanlara Uygulanan Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Değişimi. ....	47
<b>Tablo 7:</b> 17 Haftalık Yaşta Olan Hayvanların, Serum IL-13 Sitokininin, Hayvanlara Uygulanan Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Değişimi. ....	48
<b>Tablo 8:</b> 17 Haftalık Yaşta Olan Hayvanların, Serum MCP-1 Sitokininin, Hayvanlara Uygulanan Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Değişimi. ....	49
<b>Tablo 9:</b> 17 Haftalık Yaşta Olan Hayvanların, Serum TNF- $\alpha$ Sitokininin, Hayvanlara Uygulanan Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Değişimi. ....	50
<b>Tablo 10:</b> 50 Haftalık Yaşta Olan Hayvanların, Serum IL-1 $\alpha$ Sitokininin, Hayvanlara Uygulanan Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Değişimi. ....	51
<b>Tablo 11:</b> 50 Haftalık Yaşta Olan Hayvanların, Serum IL-6 Sitokininin, Hayvanlara Uygulanan Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Değişimi. ....	52
<b>Tablo 12:</b> 50 Haftalık Yaşta Olan Hayvanların, Serum IL-10 Sitokininin, Hayvanlara Uygulanan Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Değişimi. ....	53
<b>Tablo 13:</b> 50 Haftalık Yaşta Olan Hayvanların, Serum IL-13 Sitokininin, Hayvanlara Uygulanan Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Değişimi. ....	54
<b>Tablo 14:</b> 50 Haftalık Yaşta Olan Hayvanların, Serum MCP-1 Sitokininin, Hayvanlara Uygulanan Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Değişimi. ....	55
<b>Tablo 15:</b> 50 Haftalık Yaşta Olan Hayvanların, Serum TNF- $\alpha$ Sitokininin, Hayvanlara Uygulanan Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Değişimi. ....	56
<b>Tablo 16:</b> Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Olan Aynı Hayvanların Yaşlanmaya Bağlı Olarak Serum IL-1 $\alpha$ Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler.....	57
<b>Tablo 17:</b> Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Olan Aynı Hayvanların Yaşlanmaya Bağlı Olarak Serum IL-6 Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler.....	59

<b>Tablo 18:</b> Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Olan Aynı Hayvanların Yaşlanmaya Bağlı Olarak Serum IL-10 Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler.....	60
<b>Tablo 19:</b> Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Olan Aynı Hayvanların Yaşlanmaya Bağlı Olarak Serum IL-13 Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler.....	62
<b>Tablo 20:</b> Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Olan Aynı Hayvanların Yaşlanmaya Bağlı Olarak Serum MCP-1 Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler. ....	63
<b>Tablo 21:</b> Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Olan Aynı Hayvanların Yaşlanmaya Bağlı Olarak Serum TNF- $\alpha$ Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler. ....	65
<b>Tablo 22:</b> Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Olan Farklı Hayvanların Yaşlanmaya Bağlı Olarak Serum IL-1 $\alpha$ Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler.....	67
<b>Tablo 23:</b> Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Olan Farklı Hayvanların Yaşlanmaya Bağlı Olarak Serum IL-6 Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler.....	68
<b>Tablo 24:</b> Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Olan Farklı Hayvanların Yaşlanmaya Bağlı Olarak Serum IL-10 Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler.....	70
<b>Tablo 25:</b> Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Olan Farklı Hayvanların Yaşlanmaya Bağlı Olarak Serum IL-13 Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler.....	72
<b>Tablo 26:</b> Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Olan Farklı Hayvanların Yaşlanmaya Bağlı Olarak Serum MCP-1 Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler. ....	74
<b>Tablo 27:</b> Farklı Kalori Kısıtlamaları Etkisinde Olan Farklı Hayvanların Yaşlanmaya Bağlı Olarak Serum TNF- $\alpha$ Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler.....	75

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: IL-1 Sinyalizasyonu .....	9
Şekil 2: IL-6 Sinyalizasyonu .....	11
Şekil 3: IL-10 Sinyalizasyonu .....	12
Şekil 4: IL-13 ve IL-4 Sinyalizasyonu .....	14
Şekil 5: TNF Sinyalizasyonu.....	16
Şekil 6: IL-1'in Tümör Hücreleri ve Diğer İmmün Hücreler Üzerine Etkisi.....	19
Şekil 7: IL-6'nın Çeşitli Hücre Tipleri Üzerine Etkisi .....	20
Şekil 8: IL-13'ün Sinyal İletimi ve Tümör Hücreleri Üzerine Etkisi .....	25
Şekil 9: TNF- $\alpha$ 'nın Tümörojenik ve Pro-Tümörojenik Etkileri .....	28



## SEMBOLLER ve KISALTMALAR LİSTESİ

<b>APC</b>	Antijen Sunan Hücreler
<b>BMMC</b>	Kemik İliği Mononükleer Hücreler
<b>CLS</b>	Taç Benzeri Yapılar
<b>CRP</b>	C-Reaktif Protein
<b>CSF</b>	Koloni Uyarıcı Faktör
<b>DAMPs</b>	Hasarla İlişkili Makrofajlar
<b>EGF</b>	Epidermal Büyüme Faktörü
<b>FAAD</b>	Fas İlişkili Protein ölüm Alanı
<b>HGF</b>	Hibridoma üyüme Faktörü
<b>ICAM</b>	Hücreler Arası Yapışma Molekülü
<b>I<math>\kappa</math>B</b>	IKK Kinaz
<b>MHC</b>	Major Doku Uygunluk Kompleksi
<b>MMTV</b>	Fare Meme Tümörü Virüsü
<b>NF-KB</b>	Nükleer Faktör Kappa-B
<b>NO</b>	Nitrik Oksit
<b>OSM</b>	Onkostatın M
<b>PAMPs</b>	Patojen İlişkili Makrofajlar
<b>RIP</b>	Reseptör Etkileşim Proteini
<b>ROS</b>	Reaktif Oksijen Türleri
<b>SBE</b>	Smad Bağlanma Elemanı
<b>SIRT</b>	Sirtuin
<b>SOCS</b>	Sitokin Sinyal Baskılayıcı
<b>TAMs</b>	Tümörle İlişkili Makrofajlar
<b>TGF</b>	Dönüştürücü Büyüme Faktörü
<b>TIPE</b>	TNF- $\alpha$ Kaynaklı Protein 8
<b>TRADD</b>	TNFR1 ilişkili Ölüm Alanı Proteini
<b>VCAM</b>	Vasküler Hücre Adhezyon Molekülü
<b>VEGF</b>	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü

## ÖZET

**Çoban, İ. (2018). MMTV-TGF- $\alpha$  Pozitif Farelerde Farklı Kalori Kısıtlaması Uygulamalarının Hayvanların Farklı Yaşlardaki İnflamasyon Parametreleri Üzerine Etkisi. Yeditepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji ABD., Master Tezi. İstanbul.**

Bu çalışma; farklı kalori kısıtlaması yöntemlerinin, sitokin seviyeleri üzerindeki etkilerini anlama ve yaşa bağlı değişimini değerlendirme amacıyla, 115 adet fare kullanılarak yapılmıştır. Fareler, MMTV-TGF- $\alpha$  türü transgenik dişi ve post-menapozal dönemde spontane olarak meme tümörü geliştiren farelerdir. Çalışmamızda hayvanlara kronik kalori kısıtlaması (KKK) ve aralıklı kalori kısıtlaması (AKK) uygulanarak, hayvanların 10, 17 ve 50 haftalık yaşlardaki serum sitokin seviyeleri değerlendirilmiştir. Kalori kısıtlaması, kontrol gurubu olan ve ad-libitum (AL) gurubu olarak adlandırılan gurubun haftalık tükettiği yem miktarı referans alınarak uygulanmıştır. KKK gurubuna, AL gurubuna göre %15 oranında; AKK gurubuna ise AL gurubuna göre %60 oranında kalori kısıtlaması uygulanmıştır. AKK gurubuna yönelik kalori kısıtlaması, 1 hafta kalori kısıtlaması ve 3 hafta AL besleme şeklinde olmak üzere tekrar eden periyotlar halinde ve çalışmanın sonuna kadar uygulanmıştır. Çalışma sürecinde hayvanlardan retro-orbital yöntemle kan alınmış ve serum örnekleri elde edilmiştir. Serum örneklerinden IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-10, IL-13, TNF- $\alpha$  ve MCP-1 seviyeleri Multiplex Elisa yöntemiyle ölçülmüştür. İstatiksel analizler GraphPad Prism 7.0 Windows sürümü kullanılarak yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda, yaşlanmanın ilk periyodu olan 10 haftalık yaşlardan 17 haftalık yaşlara geçişte KKK besleme modelinin IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-13 gibi proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerinde azalmaya ( $p>0,05$ ) ve antiinflamatuvar etkili IL-10 seviyelerinde artmaya sebep olduğu ( $p>0,05$ ) anlaşılmıştır. Yaşlanmanın ikinci periyodu olan 17 haftalık yaşlardan 50 haftalık yaşlara geçişte ise AKK beslenme modelinin benzer bir etkinliğe neden olduğu açığa çıkarılmıştır. ( $p>0,05$ ). Sonuç olarak kalori kısıtlaması ile inflamatuvar yanıtların değiştirildiği anlaşılmış olsa da elde edilen verilerin istatistiksel olarak anlam taşımamaları nedeniyle, ayrıca hangi kalori kısıtlama yönteminin inflamasyon olaylarını baskıladığının daha ayrıntılı tespiti amacıyla daha fazla çalışma yapılması gerektiği anlaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kalori Kısıtlaması, İnflamasyon, C57BL

## ABSTRACT

**Çoban, İ. (2018). Effects of Different Types of Calorie Restriction Application on Inflammatory Parameters in MMTV-TGF- $\alpha$  Mice at Different Ages. Yeditepe University Institute of Health Science, Department of Physiology, MSc Thesis, İstanbul.**

This Article examines the effects of different calorie restriction methods on cytokine levels and the relation between different calorie restriction methods on aging, according to the research on 115 mice. The mice are the MMTV-TGF- $\alpha$  type, female and that spontaneously develop breast tumours during the post-menopausal period. The serum cytokine levels of mice that have been subject to chronic calorie restriction (CCR) and intermittent calorie restriction (ICR), in the ranges of 10, 17 and 50 weeks are assessed. The calorie restriction has been applied with reference to weekly feed consumption of the control group which is named as ad-libitum (AL) group. The calorie restriction rates have been determined as 15 % for the CCR group and 60 % for ICR group, compared to the AL group. The calorie restriction on the CCR group has been periodically progressed, up to the end of the research, as one-week calorie restriction and three-weeks AL feeding. During the process, the mice have been taken blood by the retro-orbital method, and the serum samples have been produced. The levels of IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-10, IL-13, TNF- $\alpha$  and MCP-1 have been tested, from the serum samples, by the Multiplex Elisa method. Statistical analyses have been carried out by the Windows version of GraphPad Prism 7.0. As a result of the research, it is established that the CCR feeding model causes the decrease ( $p>0,05$ ) in the levels of pro-inflammatory cytokines such as IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-13 whereas it increases ( $p>0,05$ ) the level of the anti-inflammatory IL-10, during the range of 10-17 weeks as the first period of ageing. It is also revealed that the ICR feeding model results in similar consequences ( $p>0,05$ ) during the range of 17-50 weeks as the second period of ageing. Consequently, although it is established that the calorie restriction can change inflammatory responses, more researches are needed due to the statistical non-significance of data obtained and for the purpose of better understanding of which calorie restriction type represses the inflammatory responses.

**Keywords:** Calorie Restriction, Inflammation, C57BL

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnflamasyonun ne olduğu ve etkileri hakkında milattan önceki yıllardan günümüze kadar birçok çalışma ve araştırma yapılmıştır. Gün geçtikçe inflamasyonun mekanizmaları ve diğer hastalıklarla olan ilişkisi daha iyi anlaşılmıştır. Ancak her yeni araştırma ve bu araştırmalar sonucunda elde edilen yeni bilgiler ışığında bilim insanlarının zihninde yeni soru işaretleri ortaya çıkmıştır. Bu soru işaretlerini aydınlatmak isteyen bilim insanları bugün de çalışmalarına devam etmektedir. Bu da bizi inflamasyonun hala tam olarak anlaşılamadığı ve üzerinde daha çok çalışılması gerektiği gerçeğine götürmektedir<sup>1</sup>.

Günümüzde de inflamasyonla ilgili birçok hastalık ilişkilendirilmektedir. Neden-sonuç ilişkisi içerisinde değerlendirildiğinde inflamasyon ya birçok hastalığın başlangıcında ya da inflamasyon olayları ile ilgili parametrelerin değişimi, birçok hastalık için işaret aracı olmaktadır. Özellikle kanser hastalığı, yaşlanma ve obezite ile ilişkilendirilmiş ve inflamasyonun, çeşitli yöntemlerle önüne geçilmeye çalışılarak ya da etkileri bastırılarak, bu hastalıkların ortaya çıkması engellenmeye çalışılmıştır<sup>2-7</sup>.

Yukarda bahsedilen hastalık ve sendromları engellemek için çalışmalar yapılırken inflamasyonu baskılayacak veya etkilerini ortadan kaldıracak birçok antiinflamatuvar ilaç kullanılmıştır. Ancak oluşturdukları yan etkiler dikkate alındığında alternatif yöntemlere başvurmak gerektiğinin önemi de ortaya çıkmıştır<sup>8</sup>. Alternatif yöntemler arasında kalori kısıtlaması dikkat çekicidir. Çünkü inflamasyona neden olan etkenler arasında gereğinden fazla kalori tüketiminin de olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir<sup>9-21</sup>.

**Bu tezin amacı** farklı şekillerde uygulanan kalori kısıtlaması protokollerinin (aralıklı kalori kısıtlaması veya kronik kalori kısıtlaması) inflamatuvar sitokinler üzerine etkisini araştırmak ve aynı zamanda bu sitokinlerin yaşa bağlı olarak değişimini göstermektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2. 1. İnflamasyon

İnflamasyon doku hasarı veya enfeksiyonun olduğu bölgelerde konak savunma hücrelerinin toplanması ve toplanan bu hücreler ile hasarlı dokunun beraberce meydana getirmiş olduğu tepkiler bütünüdür<sup>22</sup>. Ancak inflamasyon bu ifade ile sınırlı değildir. Hem inflamasyona uğrayan dokunun hem de vücudun immun hücrelerinin katıldığı binlerce reaksiyonlar mekanizmasıdır. Doku hasarının veya enfeksiyon şekillenmesinin yanında, hücrelerde veya dokularda meydana gelen stres sonucunda da veya iriten toksinlere maruz kalma durumlarında da inflamasyon reaksiyonları şekillenebilmektedir<sup>23,24</sup>. Bir dokuda inflamasyon meydana geldiğinde dokunun karakterine ve bulunduğu yere göre değişmekle beraber genelde şişlik, kızarıklık, ısı artışı (ateş), ağrı meydana gelmekte ve inflamasyonun derecesine bağlı olarak inflamasyonun meydana geldiği doku ya da dokularda değişen derecelerde fonksiyon kayıpları da meydana gelebilmektedir<sup>23,25,26</sup>.

İnflamasyonun oluş mekanizmalarında damarsal ve hücrel olaylar şekillenmektedir. Ancak bu iki olayı kesin çizgilerle birbirinden ayırt edebilmek pek olası değildir. Çünkü her iki olayda sebep-sonuç ilişkisi içerisinde birbirleri ile olan ilişkili mekanizmalarını tetikleyebilmektedirler<sup>27</sup>.

Vücudumuz bakteriler, virüsler, mantarlar, parazitler, travama, stress, alerjen maddeler gibi inflamasyona yol açabilen etkenler ile karşılaştığında ilk olarak vücudumuzda doğuştan var olan doğal bağışıklığa ait savunma sistemleri ile karşılık vermektedir. Bunu epitel tabakada ve retikülo endotelial sistemde doğal bağışıklığa ait mast hücreleri, dentritik hücreler, doğal öldürücü hücreler (NK-neutral Killer cells) ve diğer fagositik hücreler aracılığı ile gerçekleştirmektedir<sup>22</sup>.

Epitel tabaka ilk olarak savunmasını defansinler ve katelesidinler gibi kendine ait doğal antibiyotikler ile gerçekleştirmektedir ve devamında epitel tabaka içinde bulunan intraparietal lenfositler ilk savunma hattını oluşturmaktadır. Etken tarafından bu ilk bariyerlerin aşılması durumunda dolaşımdaki nötrofiller inflamasyonun gerçekleştiği bölgelerde fagositik savunma engelini meydana getirmektedirler. Buna ilaveten, retikülo-endotelial sistem olarak adlandırılan dolaşımdaki monositler ve dolaşımdan dokulara geçebilen makrofajlarda fagositoz için ilgili inflamasyon bölgesine doğru hareket ederler (kemotaksi). Bu şekilde inflamasyonun ilk basamağı şekillenmiş ve akut inflamasyon başlamış olur. Akut olarak belirtilmesinin sebebi bu bahsedilen fagositik hücrelerin



özellikle nötrofillerin savunmalarını ancak birkaç saat gibi kısa sürede gerçekleştirmeleridir<sup>22</sup>.

Retikülo-endotelyal sistemin aktif olması ile beraber özellikle makrofajların ürettiği sitokinler gibi inflamatuvar mediyatörlerin de salgılanması ile beraber doğal bağışıklık savunma sistemine edinsel bağışıklık savunma sistemleri de eklenmiş olur<sup>28</sup>. Eklenen bu ikinci savunma sisteminin faktörlerinden olan inflamatuvar medyatörlerin inflamasyon sürecine dahil olması ile beraber bu medyatörlerin etkisi ile damarlarda geçirgenlik artışı ve buna bağlı ozmotik basınç değişiklikleri ile ödem, kan akımında akış dinamiği değişiklikleri ve buna bağlı inflamasyon bölgesinde kızarıklık ve şişlik, inflamasyon bölgesine immun sistem hücrelerinin göçü ve doku incinmesi ile buna bağlı olarak ağrı belirtileri ortaya çıkmış olur<sup>25-27</sup>.

Hücre sel anlamda inflamasyon mekanizmaları ilk olarak doğal bağışıklık sistemine ait hücrelerin mikroorganizmalara ait inflamasyon oluşturabilecek ve PAMPs (patojen ilişkili moleküler örgüler) olarak adlandırılan bakteri endotoksinleri (LPS), terminal mannoz, çift zincirli RNA (dsRNA) ve metillenmemiş sitozin-guanin (CpG) gibi yapılarını tanınması ile başlamaktadır. Bu yapılar konak hücreye ait olmayıp mikroorganizmaların çoğunun ortak yapılarıdır. Diğer taraftan doğal bağışıklığa ait hücreler hasar görmüş ya da nekroza uğramış dokuları ve hücreleri de tanıyabilmektedir. Bunlar ise DAMPs (hasar ilişkili moleküler örgüler) olarak adlandırılır. Yukarıda anlatılan DAMPs ve PAMPs'lar doğal bağışıklığa ait hücrelerde bulunan PRR (örgüleri tanıyan reseptörler) reseptörleri tarafından tanınmaktadır. Bu PRR reseptörler, Toll benzeri reseptörler (TLRs), NOD benzeri reseptörler (NLR), RIG benzeri reseptörler (RLR) ve Lektin reseptörleri olabilmektedirler. Bunların dışında dolaşımda da çeşitli reseptörler bulunabilmektedir<sup>22,29</sup>.

Tüm bu hücre yüzeyi reseptörlerinin ve NK hücreler tarafından üretilen tip II interferonun uyarıları ile klasik makrofaj etkinleşmesi meydana gelmektedir. Burada etkinleşen makrofajlar M1 makrofajlar olarak isimlendirilirler. M1 makrofajların etkinleşmesi ile etkin makrofajlardan interlökin-1(IL-1), tümör nekroz faktör (TNF) ve interlökin-6 (IL-6) sekresyonu meydana gelir. IL-1 ateşin yükselmesinde ve kemotakside anahtar rolü oynayan sitokindir ve bu şekilde hem hücre sel anlamda hem de kronik anlamda inflamasyon başlamış olur. Akabinde yukarıda bahsedilen sitokinlerin etkisi ile C-reaktif proteinlerin (CRP) karaciğerde üretimi başlar ve dolaşıma karışması ile doğal bağışıklığın diğer bir önemli kolun olan komplement sistem aktifleşir. Aktifleşen komplement sistem ile beraber hem inflamatuvar etkene karşı edinsel bağışıklık öğeleri (T

ve B lenfositler) aktiflik kazanır hem de inflamasyon reaksiyonları genişletilmiş olur. Özellikle inflamasyonun akut evresinde ortaya çıkan C3a komplement ve inflamasyonun kronik evresinde ortaya çıkan C5a komplement inflamasyondan ve kemotaksiden sorumlu önemli komplement sistem proteinleridir<sup>14,22,30,31</sup>.

Damarsal anlamda inflamasyon yine sitokinlerin etkisi ile gerçekleşmektedir. Damarsal değişiklikler; damar geçirgenliği değişiklikleri ve kan akım dinamiği değişiklikleridir. Damar geçirgenliğinde artış meydana gelmesi ile lökositlerin inflamasyon bölgesine göçü ve ödem olgusu gerçekleşebilmektedir ve buna bağlı olarak bölgede ağrı ve sıcaklık artışı ile şişlik meydana gelebilmektedir. Damar epiteli inflamatuvar etkenle karşılaştığında burada bulunan doku makrofajları aktifleşerek sitokin üretimine başlarlar. Ürettikleri önemli sitokinler IL-1 ve TNF'tir. Özellikle bu iki sitokin bölgeye lökosit kemotaksisi için diğer hücrelere MCP gibi kemokin salgılatmadan hem de akış dinamiğine etki eden selektin (E-selektin, P-selektin) ve integrinlerin (ICAM, VCAM) salgılanmasında etkilidirler. Selektinler ve integrinler lökositlerin damar endoteline yapışma ve yuvarlanma hareketinden sorumludurlar. Bu şekilde damar endoteline tutunabilen lökositler inflamasyon bölgesine aktif bir şekilde hareket ederek inflamasyon alanını genişletir ve inflamasyonun devamını sağlarlar<sup>22,27,32,33</sup>.

İnflamasyon sadece yıkım ve savunma mekanizmalarından oluşmamaktadır. İnflamasyon aynı zamanda onarım ve doku hasarının giderilmesinden de sorumludur. Ölü hücrelerin kaldırılması ve zarar görmüş dokuların temizlenmesi de inflamasyon aracılığı ile gerçekleşmektedir. Diğer taraftan inflamasyon olaylarını başlatan inflamatuvar hücreler, inflamasyon olaylarını sona erdirme ve antiinflamatuvar etkilerin ortaya çıkmasında da sorumludurlar. İnflamatuvar etkenler uzaklaştırıldığında ya da TLR reseptörlerinin uyarımı ile tip II interferon uyarımı ortadan kalktığında veya azaldığında interlökin-13 (IL-13) ve interlökin-4 (IL-4) sitokinlerinin etkisine maruz kalan makrofajlar alternatif etkinleşme yolağına girerler. Bu makrofajlar M2 makrofaj adını alırlar. M2 makrofajlar ürettikleri interlökin-10 (IL-10) ve transforming growth faktör (TGF- $\beta$ ) sitokinlerinin de etkisi ile antiinflamatuvar etki ve yara onarımı gibi yapıcı onarıcı görevleri de yerine getiriler<sup>14,34,35</sup>.

## **2. 2. İnflamasyonun Rol Aldığı Patofizyolojik Olaylar**

Bir önceki bölümde açıklanan (bakınız 2.1.) mekanizmaların ve dengelerin değişmesi, bozulması veya eksiklikleri nedeni ile birçok rahatsızlık ve hastalık ortaya çıkabilmektedir. Bu mekanizmaların bozulması ile ilk olarak immün kökenli hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Bu immün hastalıkların bazıları doğuştan olurken bazıları sonradan

meydana gelebilmektedir. Bunlar arasında ağır kombine immun yetersizlik (SCID) hastalığı doğuştan olanlar arasında en sık karşılaşılanlar listesinin başında yer almaktadır. Bu hastalık tablosu, genel olarak IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 ve IL-15 gibi sitokinlerin reseptörlerinde meydana gelen mutasyonlar sonucu ortaya çıkmaktadır. Diğer yandan lenfoid organların doğumsal olarak bozukluklarına bağlı B ve T lenfosit gelişim eksiklikleri meydana gelebilmektedir. Bunun sonucunda bakteriyel ve özellikle viral enfeksiyonlara karşı oldukça düşük immünite oluşmaktadır. Fagositik hücrelerin yapısal bozuklukları ve kopleman sistemdeki bozukluklar sonucu kronik granülamatoz hastalığı ortaya çıkabilmektedir. Bir diğer doğumsal immün hastalık olan Chediak Higashi sendromunda ise TLR reseptör mutasyonları ve lökositlerin lizozomal enzim eksiklikleri gözlenmektedir. Diğer yandan edinsel olarak kazanılan immün hastalıkların başında yardımcı T lenfositleri (CD4<sup>+</sup>) enfekte eden bir retro-virüsle ortaya çıkan kazanılmış immün yetersizlik sendromunu (AIDS) görülmektedir.<sup>22,36-40</sup>.

İnflamasyonun sinir sistemi hastalıklarının gelişimdede rol aldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Örneğin, IL-1 sitokininin üretiminin bloke edildiğinde ALS (amyotrophic lateral sclerosis) hastalarının yaşam sürelerinde ve motor nöron aktivitelerinde artışlar gözleendiği rapor edilmiştir<sup>43</sup>. Bunu da dolaşımda bulunan sitokininin kendilerine has reseptörlerle kan-beyin bariyerini geçerek yaptığı düşünülmektedir. Bu örnek sistemik inflamasyonun lokal olarak meydana gelen hastalıklar üzerine etkili olduğunu göstermektedir. Buna ilaveten, inflamasyonun depresif ve psikiyatrik rahatsızlıklarda da rol aldığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu hasta, hastalığın farklı dönemlerine göre değişmekle beraber hem serum hem de beyin omurilik sıvılarında TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-6 ve IL-10 seviyelerinin iki uçlu bozukluk (bipolar disorder) hastalarında arttığı gösterilmiştir. Bu sitokinlerin hem hastalığın prognozunda biyo-işaretçi olarak kullanılabilceği hem de tedavisinde antiinflamatuvar ilaçların eklenmesi ile olumlu sonuçlar alınabileceği rapor edilmiştir<sup>44</sup>. Benzer şekilde antiinflamatuvar tedavi ile bazı hastalıkların gelişiminin de engellendiği gösterilmiştir. Örneğin yaygın olarak kullanılan antiinflamatuvar bir ilaç olan aspirinin uzun dönem düzenli olarak kullanılmasının bazı kardiyovasküler hastalıklar üzerinde olumlu etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu durum inflamasyonun kardiyovasküler hastalıklar ile de ilişkili olduğunun kanıtıdır. Yine antiinflamatuvar ve proton pompası inhibitörü olarak kullanılan omprazole inflamatuvar barsak hastalıklarının (IBD) tedavisinde kullanılmaktadır<sup>43</sup>. Yapılan çalışmalar, inflamasyonun çocuklarda uyku bozukluğuna sebep olan hastalıklar ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Özellikle solunum epitelinde meydana gelen

inflamasyon olayları ile artan IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyelerinin tıkalı uyku apnesi (OSA) ile ilişkili olduğunu göstermiştir<sup>45</sup>. Yine, haddinden fazla genişlemiş yağ dokuda makrofaj akümülyasyonunun olduğu bilinmektedir ve yağ doku genişledikçe buradaki makrofajlar M2 karakterinden M1 karakterine doğru ilerlemektedirler. Bunun sonucu olarak M1 makrofajların yüksek miktarda kemokinleri ve proinflamatuvar sitokinleri (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) salgıladıkları görülmüştür. Tip 2 diyabet ve obezite ile seyreden metabolik sendromlu hastalarda ve deneysel olarak metabolik sendrom oluşturulan fare modellerinde yağ dokularında ve dolaşımlarında yüksek miktarda proinflamatuvar sitokinlere rastlanılmıştır. Cerrahi olarak ya da diyet ve egzersizle zayıflatılıp yağ dokuları küçültülen hastalarda ise proinflamatuvar seviyelerinde önceki durumlarına göre azalmalar gözlenmiş ve hastalığın prognozu iyiye gitmiştir. Bu durum da yine inflamasyon ve metabolik sendrom (obezite + tip 2 diyabet) arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir<sup>46</sup>.

Bunların dışında son yıllarda inflamasyonla ilişkilendirilen birçok hastalık patogenezi de ortaya çıkmıştır. İnflamasyon ya bu hastalıkların etkeni konumunda ya da biyo-işaretçisi konumundadır. Normal inflamasyon olayları sırasında M1 makrofajların aktivasyonu ile (TLR, tip II interferon etkisi) makrofajlar mikrobisidal etkinlik için nitrik oksit (NO) ve reaktif oksijen ara ürünleri (ROS) salgırlar. Bu maddeler lizozomal proteazlarla beraber fagosite edilmiş inflamatuvar etkenlerin ortadan kaldırılmasından sorumludurlar ancak, yüksek düzeyde ve uzun süre TNF- $\alpha$  ve tip II interferon sekresyonu sonucu hem ROS ve NO miktarlarında artış ile hücresel düzeyde oksidatif strese hem de DNA hasarına sebep olmaktadır<sup>41,42</sup>.

### **2. 3. İnflamasyonu Etkileyen Faktörler**

Yaşam şartları, stres, beslenme düzeni, alınan kalori miktarı hatta yaşanan ortamın hava kirliliği ve kalitesi inflamasyon parametrelerini etkileyebilmekte ayrıca inflamasyonla ilişkilendirilebilen insülin direnci, tip II diyabet ya da çocuklarda uyku bozuklukları gibi sendromlara yol açabilmektedir. Bir beslenme hatası olarak kabul edilebilecek olan yüksek miktarda şekerli ve yağlı gıdalarla beslenme inflamasyonla ilgili genlerin sentez seviyelerini artırabilmekte ve IL-6, IL-8, MCP-1, TNF- $\alpha$  gibi proteinler ile çeşitli adezyon moleküllerinin sentez seviyesini de yükseltmektedir. Aynı şekilde dolaşımda ki CRP seviyelerini de yükseltmektedir. Bunun temelinde bölgesel yağlanma artışı ve yağ doku içine göç eden makrofajlar yatmaktadır<sup>47</sup>.

Hipertrofik hale gelen yağ dokuda biriken makrofajların sentezledikleri proinflamatuvar sitokinler ve kemokinler ile yukarıda anlatılan reaksiyonlar

şekillenmektedir<sup>46</sup>. Diğer yandan yaşanan ortamın hava kalitesinin kötü olması metabolizmada oksidatif stres yükünü artırmakta bu da ateroskleroz gibi inflamasyonla ilişkilendirilebilen hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir<sup>42</sup>. Depresyonun şekillendiği ya da çeşitli sebeplerle depresif ruh hali yaşayan veya yoğun stres altında olan bireyler ile uyku düzensizliği olan çocuklarda serum IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  ve CRP seviyeleri yükselmekte bu şekilde inflamatuvar rahatsızlıkların önü açılmaktadır<sup>24,45,48</sup>.

Yaşam şartlarının iyileştiği, daha az kalorili ve bitkisel lif yönünden zengin gıdalarla beslenen bireyler ile fiziksel aktivitelerini artıran bireyler de proinflamatuvar sitokinler ve CRP seviyeleri düşmektedir. Hatta antiinflamatuvar etkili IL-10 gibi sitokinlerin seviyelerinin arttığı ve metabolizmada antiinflamatuvar etkinliğin yükseldiği görülmektedir<sup>47</sup>.

## **2. 4. İnflamatuvar Sitokinler**

Her ne kadar birçok farklı sitokin tanımlansa da bu farklı sitokinlerin ortak birçok özellikleri bulunmaktadır<sup>49,50</sup>.

1. Sitokinler doğal ve spesifik immunitenin efektör fazında üretilirler ve bağışıklık ile inflamatuvar yanıtın oluşmasını sağlarlar
2. Sitokin salınımı kısa ve kendini sınırlayan bir olgudur.
3. Sitokin salınımı geçicidir, bir kez sentezlendiğinde sitokinler hızla salınırlar.
4. Sitokinler birçok farklı hücre tipine etki ederler. Bu özelliğe “pleiotropizm” denir.
5. Sitokinlerin aynı hedef hücrede farklı etkileri söz konusudur.
6. Sitokinler diğer sitokinlerin sentezini etkilerler.
7. Sitokinler genellikle diğer sitokinlerin fonksiyonlarını da etkileyebilirler.
8. Sitokinler hedef hücre yüzeyindeki kendilerine has trans-membran reseptörlere bağlanarak etkilerini gösterirler.
9. Sitokinler hücre bölünmesini düzenlerler böylelikle büyüme faktörü gibi etki ederler.
10. Sitokinler bazı kültür ortamındaki hücrelerden kendiliğinden salgılanabilse de çoğu sitokin, hücrelerin aktivasyonundan sonra salgılanmaktadır.
11. İstirahat halindeki hücrelerden sitokin salgılanmamaktadır.
12. Sitokinler CD4+ T lenfosit ve Aktif Makrofajlar gibi birçok immun sistem hücrelerinden köken alan medyatörlerdir.
13. Çok çeşitli inflamatuvar olaylarla uyarılabilen sitokinler polipeptid yapıdadırlar.

## 2. 4. 1. İnterlökin -1 Alfa (IL-1 $\alpha$ )

İnterlökin-1, 17-17.5 kDa büyüklüğünde olup monomer yapıda bir sitokindir. IL-1 ailesi,  $\alpha$  ve  $\beta$  başta olmak üzere 11 sitokin üyesine sahiptir. IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  birbirlerinin agonistleri olup hücre membranında veya ekstra sellüler ortamda sentezlenmektedirler. İnsanda ikinci kromozom üzerindeki iki ayrı gen tarafından kodlanmaktadır. IL-1 $\alpha$ , 7 ekzondan oluşmakta ve 2q14 gen bölgesinde lokalize olmaktadır. IL- $\alpha$  ve IL- $\beta$  antijenik yapılar açısından farklı olsalar da genel olarak işlevleri aynı yöndedir. IL-1 $\alpha$ 'nın asıl kaynağı aktive mononükleer fagositler olsa da uyarılan hemen hemen bütün çekirdekli hücreler tarafından salgılanabilmektedir. Bunun dışında genel olarak makrofajlar, langerhans hücreler, endotel hücreler, fibroblastlar, keratonositler, astrositler ve dendritik hücreler salgı kaynaklarını oluşturmaktadırlar<sup>51,52</sup>.

IL-1'in salgılanması, çoğunlukla antijen sunan hücreler (ASH) üzerinde bulunan ve HLA Sınıf II molekülü ile sunulan antijenin, CD4 hücreleri tarafından tanınması sonucu meydana gelir. Bu esnada makrofajlar tarafından IL-1 salgılanır. Diğer yandan antijenle karşılaşan T hücreleri de TNF, koloni uyarıcı faktör (CSF) ve interferon gibi çeşitli sitokinler salgırlar. Bunlar da aynı şekilde makrofajları uyararak IL-1 salgılanmasına neden olurlar<sup>51</sup>.

IL-1, sentezlendiğinde pro-interlökin-1 formundadır ve yaklaşık 31 kDa ağırlığındadır. Bu formu biyolojik olarak aktif değildir. Pro-interlökin-1 kaspaz ailesine ait proteazlarla parçalanarak aktif IL-1 formuna dönüşür. İnsan ve fare IL-1 $\alpha$  arasındaki homoloji %62 oranındadır<sup>51</sup>.

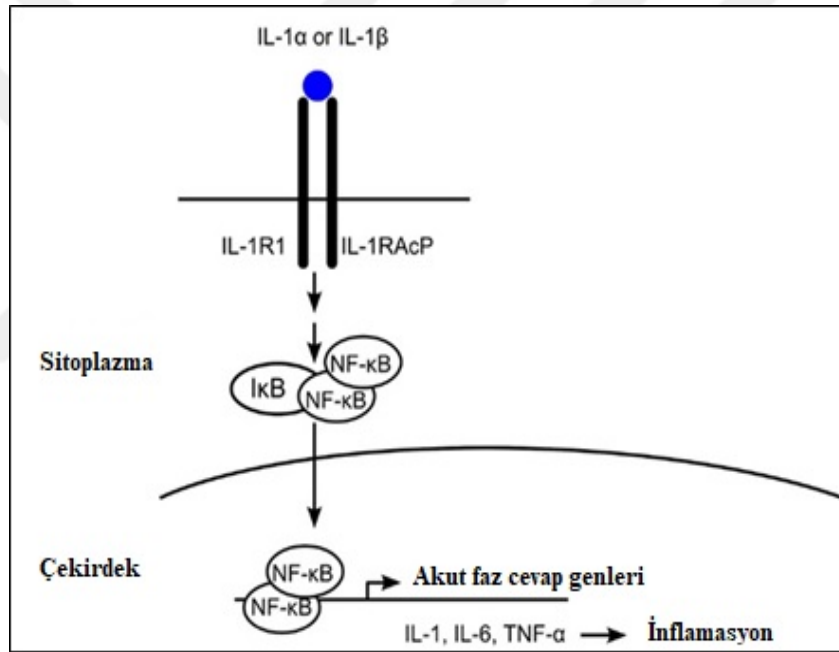
Normalde IL-1, uyarı sonrası sentezlenmesine rağmen IL-1 $\alpha$  epitelyal hücrelerde aktif halde çok miktarda bulunmaktadır. Monositlerin uyarılmasından itibaren ortalama 1 saat içerisinde aktivitesi tespit edilebilir. Glukokortikoidler IL-1 $\alpha$  sentezi için inhibitördürler. Tüm bunların dışında beyin, deri ve amniyotik sıvı gibi yapılar herhangi bir uyarı olmadan da IL-1 salgılayabilmektedirler<sup>51,53</sup>.

IL-1 çoğunlukla koruyucu etkilere sahiptir, özellikle de kemik doku üzerinde. IL-1, antijen sunan hücrelerin ve T hücrelerinin sayısını artırmaktadır. Düşük dozlarda TNF ile sinerjik etki göstermektedir. Aynı şekilde IL-1, prostaglandin ve TNF salgı seviyelerinde de artışa sebep olmaktadır. Bu şekilde hipotalamusa etki ederek ateş seviyesinin yükselmesine, pro-koagulan aktivitede artışa ve akut faz proteinlerinin artışına neden olmaktadır. Negatif geri beslemesi, adrenal kortekse etki ederek steroid salgılanması ve salgılanan steroidlerin IL-1 ve TNF'in salınımını inhibe etmesi üzerinden olur<sup>22,54,55</sup>.

IL-1 iki tip reseptöre sahiptir. Bunlar; Tip I (CDw121a-80 kDa) ve Tip II (CDw121b-60 kDa) olarak bilinmektedirler. Bu reseptörler trans-membran glikoprotein yapısındadırlar ve IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-1 $\gamma$  sitokinlerini bağlarlar. Sadece tip I reseptör hücre içi sinyal oluşumunu sağlamaktadır. Tip II reseptör ise IL-1 $\alpha$  için antagonist özelliğindedir ve tuzak reseptör gibi davranmaktadır<sup>51</sup>.

IL-1, JAK-STAT sinyal yolağını kullanır ve kalsiyum salınımı olmadan protein kinaz C salınımına yol açmaktadır<sup>51</sup>.

Rosenzweig (<sup>56</sup>), IL-1'in sinyalizasyonunu şematik diyagram halinde vermiştir (Şekil 1).



**Şekil 1:** IL-1'in sinyalizasyonu "Rosenzweig (56)'den değiştirilerek" IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ , IL-1R reseptör ve reseptöre bağlı olan IL-1RAcP aksesuar proteinine bağlanarak reseptör aktivasyonunu gerçekleştirir. Aktivasyon sonunda NF- $\kappa$ B serbestlenerek çekirdekte akut faz proteinlerinin ve inflamasyon etkili diğer sitokinlerin serbestlenmesine sebep olarak inflamasyonun önünü açmış olur.

## 2. 4. 2. İnterlökin-6 (IL-6)

İnterlökin-6, 26 kDa ağırlığında 212 amino asitten oluşan bir proteindir<sup>57</sup>. Dört  $\alpha$ -helikal uzun zincir ailesine aittir. IL-6 ve reseptörleri 7p21-14 gen bölgesinde lokalize olmuştur. IL-6'nın insan ve fare arasında ki homolojisi %42'dir. İnsanda üretilen IL-6 fare hücrelerinde fonksiyonel iken farede üretilen IL-6'nın insan hücrelerinde aktivitesi yoktur. T ve B lenfositlerden, astrositlerden, nöronlardan, mast hücrelerinden, endotel hücrelerden, dendritik hücrelerden, osteoblastlardan, monositler ve makrofajlardan salgılanmaktadır<sup>51</sup>.

Tunika mediadaki düz kas hücrelerinden de üretilmektedir ancak bu üretilen IL-6 proinflamatuvar görevindedir. Lenfositler dışında myeloma ve hipernefroma gibi tümör hücreleri tarafından da oluşturulabilmektedir. Bu sebepten, Myeloma/Plazmasitoma Büyüme Faktörü gibi isimler de almıştır<sup>51,58,59</sup>.

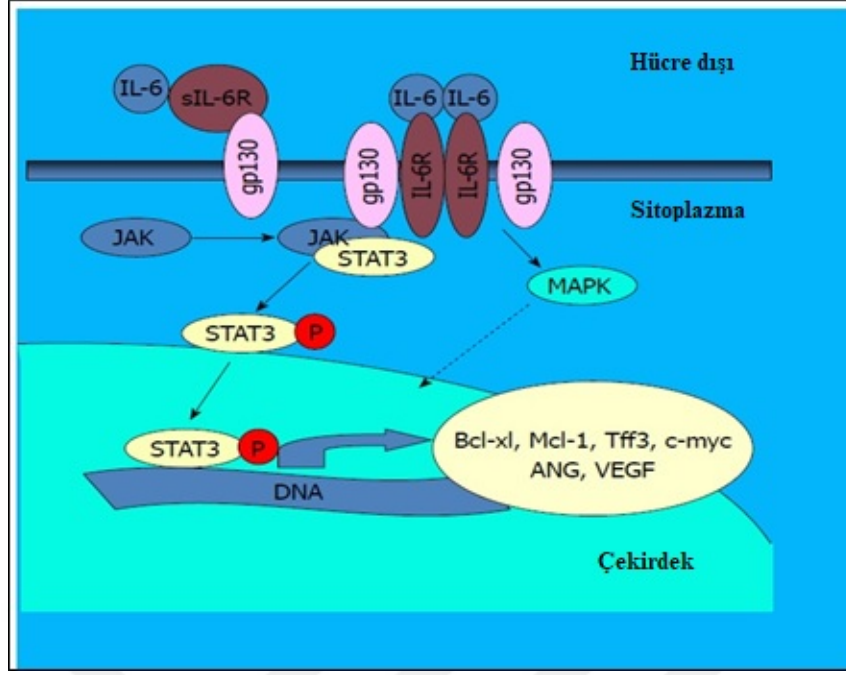
IL-1 ve TNF seviyelerinde artışa sebep olmaktadır. IL-6, B lenfositlerin antikor yapabilmeleri için temel faktörlerinden biridir. Endotoksinler IL-1, TNF- $\alpha$  ve IL-6 salınımını arttırmaktadır. Aktif monositlerden salgılanan IL-10 ve IL-4, IL-6 salınımını bloke etmektedir. Hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar bir sitokin gibi davranmaktadır. TNF- $\alpha$  ve IL-1 için aktivatör, IL-10 için inhibitör gibi davranabilmektedir<sup>51,54</sup>.

IL-6 reseptörleri iki birimden oluşmaktadır. Bunlar;  $\alpha$ -ligand-bağlama-zincir birimi (CD126) ve  $\beta$ -sinyal-trandüksiyon birimi (CD130, gp130)'dir. Gp130, IL-6 spesifik değildir<sup>51</sup>.

IL-6, JAK/STAT sinyal yolağını kullanmaktadır. IL-6, önce IL-6-R kompleksine ardından gp130 molekülüne bağlanarak JAK1 ve özellikle STAT3 sinyal transdüksiyonunu başlatır<sup>51</sup>.

Dvorak (<sup>60</sup>), IL-6 sinyalizasyonunu şematik diyagram halinde vermiştir (Şekil 2).





Şekil 2: IL-6 sinyalizasyonu “Dvorak (60)’dan değiştirilerek.”

### 2. 4. 3. İnterlökin-10 (IL-10)

İnterlökin-10, 17-40 kDa ağırlığında ve 178 aminoasitten meydana gelmiş bir proteindir<sup>51,61,62</sup>. Sınıf II dört helikal sitokin ailesine aittir. Sitokin sentez inhibitörü (CSIF) olarak da bilinmektedir. IL-10, 5 ekzon bölgesi içerir ve 14q31-q32 gen bölgesinde lokalize olmuştur. Fare ve insan IL-10 homolojisi %72 oranındadır. CD8, CD4 T lenfositlerden, B lenfositlerden, aktive makrofajlardan, eozinofillerden, dendritik hücrelerden ve keratinositlerden salgılanmaktadır<sup>51,63</sup>.

Monositlerin yüzeyinde bulunan hücreler arası yapışma molekülünün (ICAM-1) inhibe olmasına neden olur. IL-10, IL-4 ile beraber, T lenfosit ve makrofaj sitokinlerinin sentezini önlerler. IL-10, hücrel immünitinin inhibe olması gereken durumlarda tedavi amaçlı olarak da kullanılmaktadır<sup>64-66</sup>.

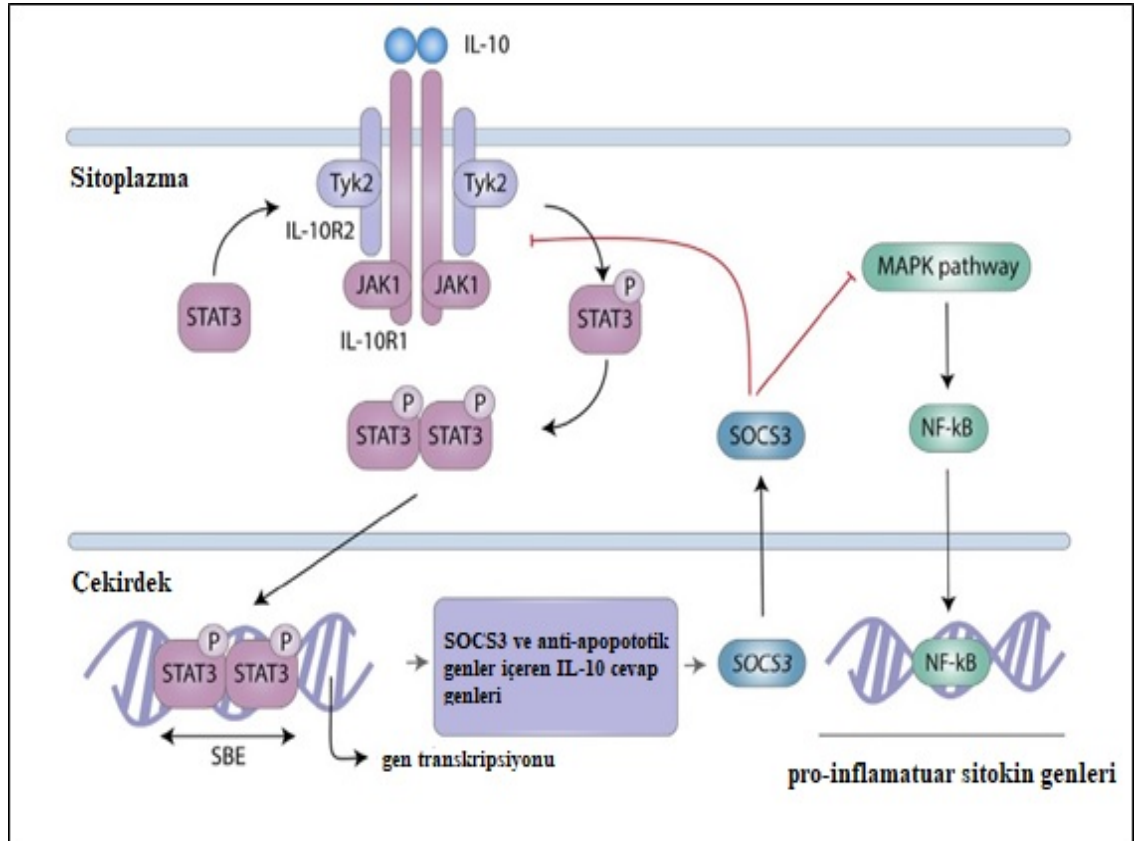
İmmün reaksiyonlardan bazılarını artırırken hücreler arası yanıtlarda inhibisyona neden olmaktadır. Bu özelliğinden dolayı immün reaksiyonlarda benzersiz bir düzenleyicidir<sup>51</sup>.

IL-10 üretimi, IL-12, IL-6 ve TNF- $\alpha$  tarafından artırılır. Ancak negatif bir geri besleme mekanizması ile üretilen IL-10, IL-6, IL-12 ve TNF- $\alpha$  üretimini baskılar. Makrofaj yüzeyindeki farklılaşma antijeni (CD23), siklik adenozin monofosfat (cAMP) bağımlı mekanizma ile IL-10 üretimini aktive ederken NO bu reaksiyonları baskılar<sup>51,63</sup>.

IL-10, IL-10R isminde sınıf II reseptör ailesine ait tek zincirli reseptöre sahiptir. Bu reseptör B lenfositlerde, mast hücrelerinde, makrofajlarda ve timositlerde sentezlenmektedir<sup>51</sup>.

Sinyal iletimi IL-6 sitokinine benzer bir şekilde JAK ailesi ile gerçekleşmektedir<sup>51</sup>.

Berti (<sup>67</sup>), IL-10'nun sinyalizasyonunu şematik diyagram halinde vermiştir. (Şekil 3).



**Şekil 3:** IL-10'nun sinyalizasyonu "Berti (67)'den değiştirilerek." IL-10, IL-10R1 reseptör ünitelerine bağlanması ile JAK1 ve Tyk2 kinaz sistemlerinin aktivasyonu gerçekleşir ve STAT3'ün fosforilasyonu sağlanmış olur. Fosforile STAT3 çekirdekte SBE promotor motiflerine bağlanarak SOCS3 gibi sinyalizasyon için inhibitör proteinlerin üretilmesine neden olur. İnhibitör SOCS3 negatif-feedback ile JAK-STAT sinyalizasyonunu MAPK sinyalizasyonunu inhibe eder ve NF-κB serbestlenir.

#### 2. 4. 4. İnterlökin-13 (IL-13)

İnterlökin-13, beşinci kromozom üzerinde bulunan genler tarafından kodlanan 13 kDa ağırlığında bir proteindir. Dört  $\alpha$ -helikal kısa zincir ailesine aittir. IL-4 ile %25 oranında gen sekans homolojisine sahiptir. IL-13, 1.4 kb uzunluğunda ve 5q23-31 gen bölgesinde lokalize olmuştur. IL-13'ün insan ve fare arasındaki homolojisi %58 oranındadır<sup>51,68-70</sup>.

CD45 RA+ ve CD45 RO+ T lenfositleri tarafından salgılanmaktadır. T helper 2 (Th2-CD4)'lerden, NK hücrelerinden, mast hücrelerinden, bazofil ve eozinofil hücrelerinden salgılanmaktadır. Proinflamatuvar sitokinlerin üretimini inhibe eder. B lenfositlerin farklılaşmasını ve çoğalmasını sağlar. IL-13 aynı zamanda monositler için kemoatraktandır<sup>51,70-72</sup>.

IL-13, IL-4 ve IL-10 ile birlikte antiinflamatuvar etki göstermektedir ve bu sebeplerden immünespesifik anti-tümör tedavisinde de etkili olabilmektedir. IL-13 vasküler koruyucu etkilere sahipken, vasküler hücreler IL-13 sentezleyemezler. Ancak endotel hücresinin IL-13 yanıtının VCAM-1 aracılığı ile olduğu düşünülmektedir<sup>51,73</sup>.

IL-13 üretimi siklosporin A ile IL-13 üretebilen tüm hücre tiplerinde artırılabilir. Aktive olmuş B lenfositlerden IgE sentezi için düzenleyici rol oynar<sup>51</sup>.

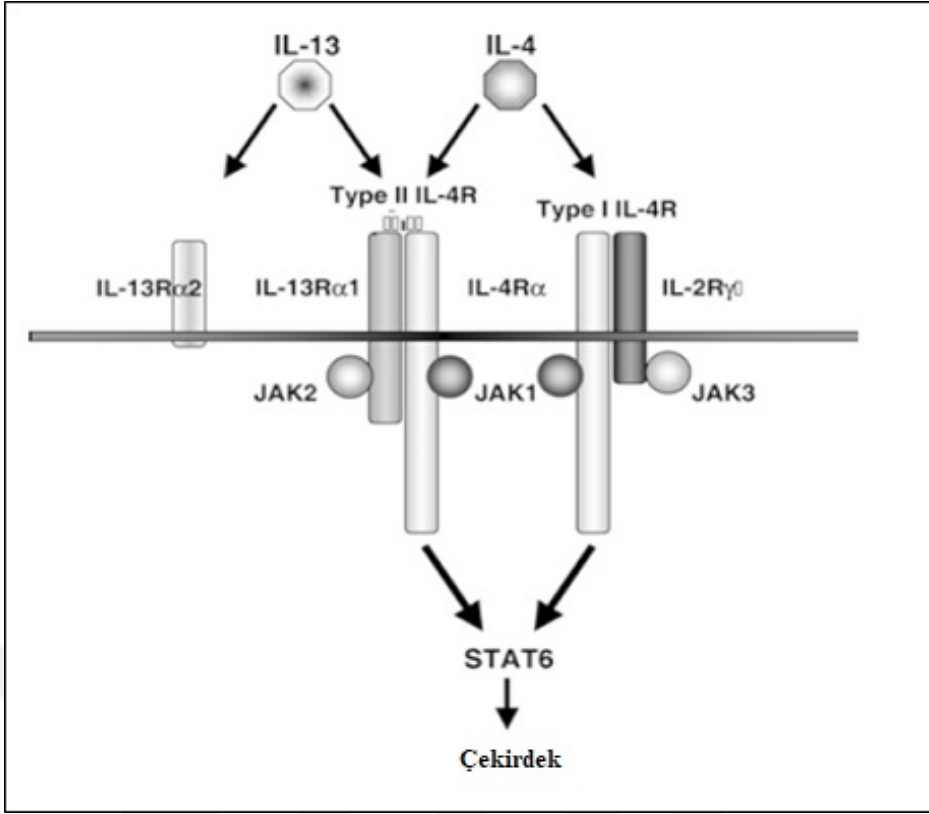
Alerjik yanıtta ve özellikle astım ile ilişkili inflamasyon olaylarında medyatör olarak görev alır. Antiinflamatuvar etkilere sahiptir. IL-13, IL-4 ve IL-10 ile beraber fibrinojen sentezini baskılayıcı etkiler gösterir ve bu şekilde vasküler koruyucu özelliktedir. Aynı şekilde IL-13, IL-4 ile birlikte hücrelerin oksidasyon yeteneğini artırır<sup>51</sup>.

IL-13, öncelikle ve yüksek afinite ile alfa interlökin 13 reseptörüne (ILR $\alpha$ 1) bağlanmaktadır ancak moleküler benzerliklerinden ötürü alfa interlökin 4 (IL4R $\alpha$ ) reseptörlerine de ilgi göstermektedir<sup>51,70</sup>.

Sinyal iletimi JAK-STAT yolağı üzerinden meydana gelmektedir. IL-13, IL-4 ile beraber özellikle B lenfositlerde STAT6 sinyal aktivasyonunda artmaya sebep olmaktadır. Bunun yanında IL-13, IL13R $\alpha$ 1 reseptöründen 50 kat daha fazla ilgi gösterdiği IL13R $\alpha$ 2 reseptörüne de bağlanmaktadır<sup>51</sup>.

IL13R $\alpha$ 2 reseptörü sadece IL-13 bağlanmaktadır ve farelerde hem membrana bağlı bir şekilde hem de çözünebilir formda bulunmaktadır. İnsanlarda çözünebilir formda olan IL13R2 reseptörü tespit edilememiştir<sup>51</sup>.

Suzuki (<sup>70</sup>), IL-13 ve IL-4 sinyalizasyonunu şematik diyagram halinde vermiştir (Şekil 4).



Şekil 4: IL-13 ve IL-4 sinyalasyonu “Suzuki (70)’den değiştirilerek”

## 2. 4. 5. Tümör Nekroz Faktör Alfa (TNF- $\alpha$ )

TNF;  $\alpha$  veya  $\beta$  formunda bulunabilmektedir. TNF- $\alpha$ , 157 amino asitten oluşurken TNF- $\beta$ , 171 amino asitten oluşmaktadır. Bu iki molekül yapısal ve biyolojik olarak benzerdir<sup>51</sup>.

TNF- $\alpha$  tip II membran proteini olarak eksprese edilir ve hücre içinde işlenir. Yaklaşık 25 kDa ağırlığındadır ve hücre membranında biri hücre içinde diğeri ise hücre dışında olacak şekilde iki ucu bulunmaktadır. Aminoterminal ucu hücre içinde, karboksiterminal ucu ise hücre dışında bulunmaktadır<sup>51</sup>.

Sentezlendikten sonra pro-TNF- $\alpha$  olarak 26 kDa ağırlığında monositlerin yüzeyinde depolanır. Pro-TNF- $\alpha$  ADAM-17 ile parçalanır ve 17 kDa ağırlığında çözünebilir aktif formuna dönüşür. Hücre dışında kalan karboksiterminal ucu fagositler tarafından yıkılır ve 51-52 kDa ağırlığında olan stabil ve biyolojik aktif formuna dönüşmüş olur. Bu formu üçgen piramit şeklindedir ve farklı monomerik alt birimler ihtiva eder. Bu şekilde piramitin altında kalan reseptör bağlanma bölgesine eş zamanlı olarak birden fazla reseptörün bağlanmasına olanak verir<sup>51</sup>.

İnsan ve fare için TNF molekülü karşılaştırılırsa, homoloji TNF- $\alpha$  için %79, TNF- $\beta$  için %74 düzeyindedir. İnsan TNF'si farede ki p55 reseptörüne, fare TNF'si insandaki p55 ve p75 reseptörlerine bağlanır<sup>51</sup>.

TNF- $\alpha$ , 4 ekzon içerecek şekilde 6p21.3 gen bölgesinde bulunur. Genler MHC sınıf III bölgesinde bulunmaktadır<sup>51</sup>.

Aktif monosit ve makrofajlar (CD14), T ve B lenfositler, NK hücreler, mast hücreleri, kuppfer hücreleri, astrositler, keratinositler ve endotel hücreler başlıca kaynaklarını oluşturmaktadırlar<sup>51</sup>.

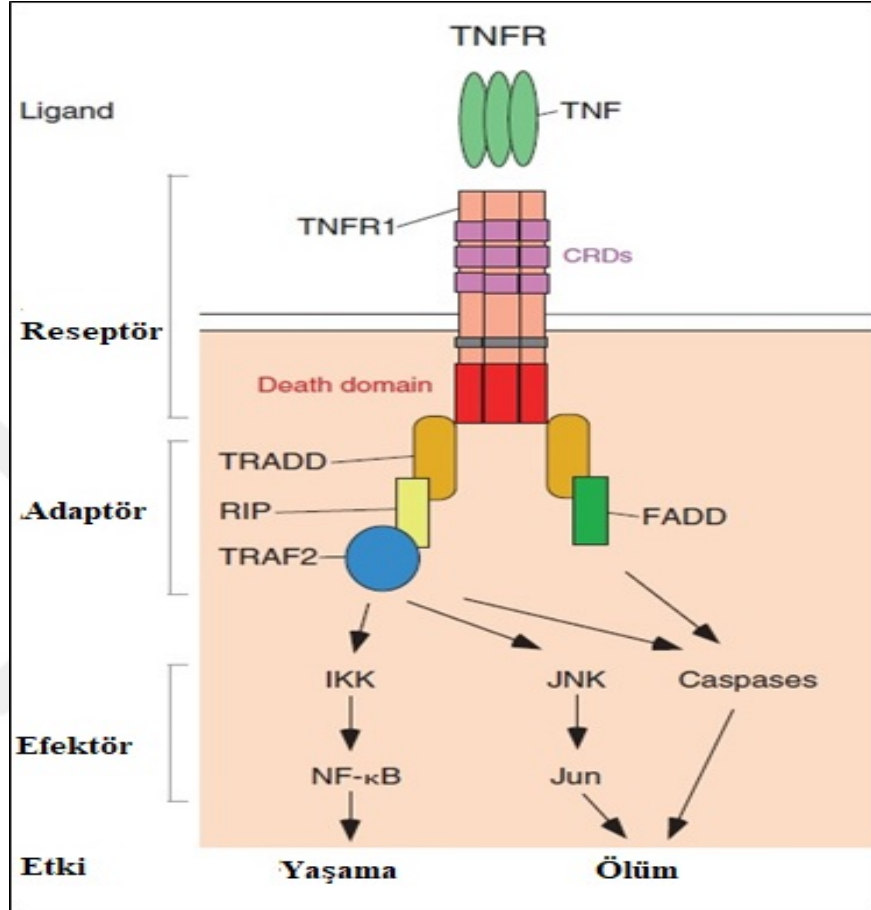
TNF- $\alpha$ , bakterilere, virüslere, protozoalara, immun komplekslere ve reaktif oksijen bileşiklerine yanıt olarak salınmaktadır. IL-10 tarafından üretimi inhibe edilmektedir. Ayrıca TNF- $\alpha$  üretimi non-steroid antiinflamatuvar ilaç kullanılması ve hipoksi sonucu artar<sup>51</sup>.

TNF- $\alpha$  reseptör ailesi temelde iki grup içermektedir. Bunlar; TNF- $\alpha$  reseptör I (TNFR1, 55 kDa) ve TNF- $\alpha$  reseptör II (TNFR2, 75 kDa)' dir. TNRF1 bütün hücrelerde sentezlenirken TNFR2 özellikle endotel hücreler ve bağışıklık sistemine dahil immun hücreler tarafından sentezlenmektedir<sup>51</sup>.

TNRF1 sitoplazmik kuyrukta bulunmaktadır ve "ölü bölge (death domain-DD)" içermektedir. DD içeren reseptörlerin aktivasyonu ile kaspaz kaskadı aktive olur ve apoptoz indüklenir<sup>51</sup>.

İkinci grup reseptörlerin (TNFR2) aktivasyonu ile de IKK aktive edilmiş olunur ve I $\kappa$ B molekülü fosforilasyona uğrar. Bunun sonucunda NF- $\kappa$ B serbestlenir ve kanser hücrelerinin büyümesinde etkili olan sitokinlerin açığa çıkmasına sebep olur<sup>74-76</sup>.

Sinyal iletimini detaylı olarak Mathew (77) şekil olarak vermiştir (Şekil 5).



**Şekil 5:** TNF sinyalizasyonu “Mathew (77)’den değiştirilerek”. TNF- $\alpha$ , TNFR1 reseptörüne bağlanması ile reseptörün hücre içerisinde DD bölgesi aktive olarak TRADD protein kompleksine bağlanır. Bağlanma sonrası FADD proteininin aktivasyonu ile kaspaz kaskadı aktive olmuş olur ve apoptoz şekillenir. Diğer yandan aktive olmuş olan RIP proteini ve reseptörün ikinci kompleksi olan TRAF2 aktivasyonunu gerçekleştirir. Bunun sonucunda IKK aktivasyonu gerçekleşir ve NF- $\kappa$ B serbestlenir. Böylelikle diğer sitokinlerin sentezinin önü açılmış olur.

#### **2. 4. 6. Monosit Kemotaktik Protein-1 (MCP-1, CCL2)**

MCP-1, 76 aminoasitten meydana gelmiş bir polipeptittir<sup>78</sup>.

CC ailesine ait olan bir kemokindir. MCP-1, 17q11-32 gen bölgesinde lokalize olmuştur. Monosit ve makrofajlardan, lenfositlerden, epitel ve endotel hücrelerden salgılanmaktadır. Hedef hücreleri ise, T lenfositler, bazofil ve eozinofiller, NK hücreler ve monositlerdir. MCP-1, lökosit trafiğinin düzenlenmesinde, inflamasyon olayları gerçekleştiğinde inflamasyon bölgesine lökosit göçünde ve inflamasyonla ilişkili diğer hücrelerin aktive edilmesinde görevlidir. MCP-1, CKRs olarak adlandırılan ve 1'den 10'a kadar (CKR1-10) bağlanabildiği reseptörlere sahiptir. MCP-1'in sinyal iletimi hücre yüzeyinde G proteinine bağlı reseptörler aracılığı ile gerçekleşmektedir<sup>51</sup>.

#### **2.5. İnflamasyon ve Kanser İlişkisi**

Kanser gelişimi ve inflamasyon arasında ki ilişki 19. yüzyılda Rudolf Virchow ile kurulmaya başlamıştır. Buradaki ilişkiyi tümörleşen bölgelerde toplanma eğiliminde olan lenfositlerle kurmuştur<sup>1,79</sup>.

İnflamasyon ve kanser arasındaki ilişki biri ekstrinsik diğeri intirinsik olmak üzere iki yol izlemektedir. Eksrinsik yol; inflamasyona sebep olabilen gastrik reflü, hepatit virüs ve diğer enfeksiyöz dış etkenlerden kaynaklanırken intirinsik yol; onko-genlerin aktif olması, tümör supresör genlerin inaktivasyonu ve kromozomal mutasyonlar gibi genetik ve epigenetik moleküler değişikliklerden oluşur. Diğer yandan hücrelerin metabolik, proteotoksik, mitotik, oksidatif ve DNA hasarı gibi stresler yaşaması da birçok sinyal yolağının aktif olmasına, bu aktivasyon ise birçok tümör geliştiren faktörün artması ve tümör gelişimini baskılayan faktörlerin azalması ile sonuçlanmaktadır. Bu sinyal yollarından STAT ve NF-κB inflamasyon ve inflamatuvar sitokinler açısından büyük önem arz etmektedir. İnflamasyona uğrayan bölgede ya da tümörleşen bölgelerde makrofajlar, mast hücreleri, nötrofiller, dentritik hücreler, T ve B lenfositler gibi birçok bağışıklık sistemine ait hücreye rastlanmaktadır<sup>6</sup>. Özellikle tümörleşerek hipoksiye uğrayan bölgelerde Tümör İlişkili Makrofajlar'a (TAMs) sıklıkla rastlanılmaktadır ve tümör mikroçevresini oluşturmaktadırlar<sup>4,23</sup>. Bu mikro çevrede bulunan TAMs'lar yüksek miktarda EGF (epidermal büyüme faktörü), VEGF (vasküler endotaliyal büyüme faktörü) gibi büyüme faktörlerini, IL-6, TNF, IL-10 gibi sitokinleri ve birçok kemokini salgılayarak bölgenin damarlanmasını, bölgeye lökosit göçünü ve diğer inflamasyon olaylarını başlatırlar<sup>22</sup>. TAMs'ların ürettiği VEGF, EGF gibi faktörler ile tirozin kinaz reseptörleri aktif olur. Aktif olan bu reseptör ise RAF/RAS sinyal yolağı üzerinden

CXCL-8 gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna sebep olur. Diğer yandan yine TAMs'lerin salgıladıkları sitokinlerin (IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ) etkisi ile de JAK/STAT3 sinyal yolağı aktifleşmiş olur ve bu da NF- $\kappa$ B gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu sağlar. NF-KB'nin diğer bir aktivasyonu da RAF/RAS sinyal yolağında aktifleşen IKK ile olmaktadır. Tüm bunların sonucunda tümör hücrelerinde büyüme, anti-apoptoz ve damarlaşmalar meydana gelmiş olur<sup>80-87</sup>.

### 2. 5. 1. IL-1 ve Kanser İlişkisi

IL-1 sitokin ailesinden olan IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  seviyelerinin kolon, meme akciğer, deri kanserlerine sahip bireylerde, kanser olmayan bireylere göre daha yüksek seviyelerde olduğu görülmüştür ve bu sitokinlerin seviyeleri yüksek ölçülen hastalar çoğunlukla kanserleri açısından kötü prognoza sahip bireylerdir. Aynı şekilde hücre hatları ile yapılan çalışmalar sonucu IL-1 ailesine ait mRNA seviyelerinin artışı tümörleşmenin olduğu durumlarda IL-1 sentezinin de arttığı görüşünü destekler niteliktedir. Aşağıdaki tabloda bu durum açıklanmaktadır.

Hücre hatlarına göre IL-1 mRNA seviyeleri Lewis (<sup>88</sup>) tarafından tablo halinde verilmiştir (Tablo 1).

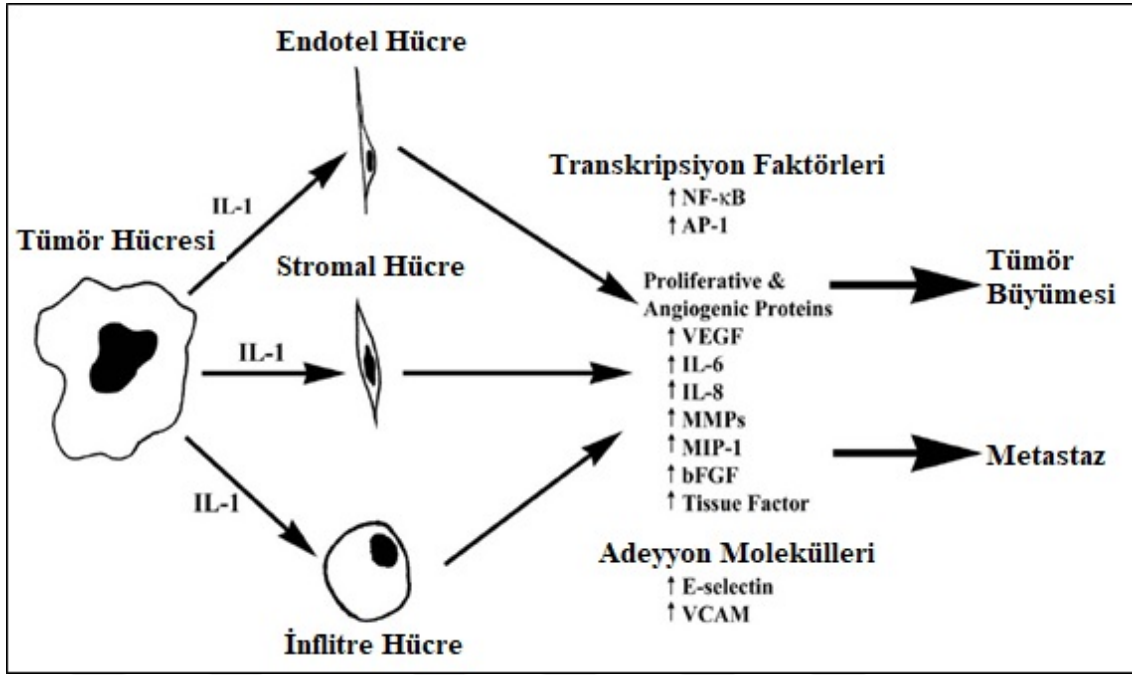
**Tablo 1:** Hücre hatlarına göre IL-1 mRNA seviyeleri. “Lewis (88)’den.” Buradaki değerlendirme RT-PCR sonuçlarına göre yapılmıştır. Değerlendirmede B-aktin referans alınmış ve mRNA kopya sayısı B-aktin’in 10<sup>5</sup> katı şeklindedir.

Human tumor cell lines	IL-1 $\alpha$ *	IL-1 $\beta$ *
SMEL (melanoma)	3,267	0
WIDR (colon cancer)	1	122,932
H2030 (NSCLC)	0	29,084
PMEL (melanoma)	35	67
SL-2 (squamous cell cancer)	140	0

IL-1 salgılanmasının tümör gelişimini ve tümörün metastaz kuvvetini artırdığı da bilinmektedir. Bunu metastatik bir gen olduğu bilinen matriks metalloproteinaz (MMP) seviyesini artırarak ve buna bağlı tümör mikro çevresinden büyüme faktörleri ve tümörün damarlaşmasına sebep olan proteinlerin (VEGF, IL-8, TGF- $\beta$ ) salgılanmasına sebep olarak gerçekleştirmektedir. Ayrıca inflamasyonun gelişiminden sorumlu diğer sitokinlerin (IL-6, TNF- $\alpha$ ) de salgılanma seviyesini artırmaktadır<sup>88,89</sup>. Aşağıdaki şekilde bu durum açıklanmaktadır.

Lewis (<sup>88</sup>), IL-1'in tümör hücreleri diğer immun hücreler üzerine etkisini şematik diyagram halinde vermiştir (Şekil 6).





**Şekil 6:** IL-1'in tümör hücreleri ve diğer immün hücreler üzerine etkisi "Lewis (88)'den değiştirilerek." IL-1 otokrin ve parakrin bir molekül gibi davranabilmektedir. Otokrin özelliği ile tümör hücrelerini etkileyerek tümör hücrelerinin büyümesini ve tümör hücrelerinden yeniden IL-1 salgılanmasına sebep olabilmektedir. Aynı şekilde tümör mikro çevresinde bulunan diğer hücreleride etkisi altına alarak transkripsiyon faktörlerinin, büyüme faktörlerinin ve adhezyon moleküllerinin salgılanmasına sebebiyet vermektedir.

Holen ve ark. <sup>(90)</sup> IL-1'in meme kanserine sebebiyet verdiğini hızlı bir şekilde kemik dokuya metastazında etkili olduğunu ortaya koymak için fareler üzerinde çalışmalar yapmışlardır. Yaptıkları çalışmada 6 haftalık yaşta BALB/c fareler kullanmışlardır. Hayvanlara MDA-MB-231-IV ve MCF7 hücre hatları enjekte edilmiştir. Bu enjeksiyondan daha önce deney gruplarından bazılarında ise IL-1 reseptör antagonisti olan Anakinra enjeksiyonu yaparak IL-1 etkisi baskılanmıştır. Yaptıkları çalışma sonucunda hem kemik metastazının hem de tümör çaplarının %90'lara varacak ölçülerde azaldığını göstermişlerdir. Diğer yandan tümör biyoişaretçilerinden olan TNF- $\alpha$  seviyeleri de anlamlı şekilde azalmıştır.

Singer ve ark. <sup>(91)</sup> yaptıkları çalışmada IL-1 $\alpha$ 'nın cinsiyet steroid hormonlarla olan ilişkisini hücre kültürlerinde araştırmışlardır. Bu hususta 9 adet insan meme kanseri hücre hattı kullanmışlardır. (MCF-7, T47D, RZ75-1, SKBR3, BT 474, BT 20, BT 549, HS578T, MDA- MB 231). Bu hücre hatlarında IL-1 $\alpha$  sentez seviyelerini western blot yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Yaptıkları değerlendirmede malignitesi yüksek olan

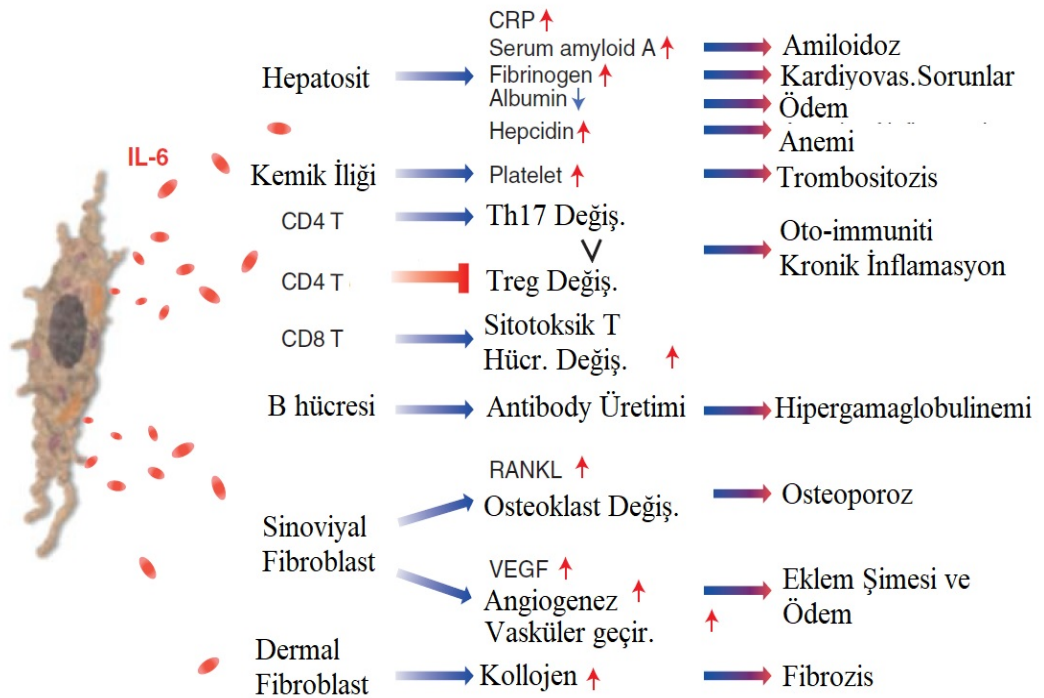
BT20, BT 549, HS 578T ve MDA hatlarında yüksek miktarda IL-1 $\alpha$  seviyesi ölçmüştür.

Felix ve ark. (89) 68 meme kanseri hastası üzerinde yaptığı çalışmada hastaların tedavi öncesi, tedaviden 3 ve 6 ay sonrasında serum IL-1 seviyelerini ölçmüştür. Ölçümleri sonunda ise her ne kadar IL-1 seviyelerinde büyük değişiklikler görseler de istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edememişlerdir ve kendi toplumları için IL-1'in kanser biyo-işaretçisi olma yönünde fazla etkili olmadığını ortaya koymuşlardır.

### 2. 5. 2. IL-6 ve Kanser İlişkisi

IL-6 birçok hücre ve değişik araştırmacılar tarafından farklı şekilde isimlendirilmiştir. B lenfosit aktivasyonundan dolayı B hücre aktivasyon faktörü 2 (BDF-2), hepatositler üzerindeki etkilerinden dolayı hepatosit aktivasyon faktör (HSF), akut faz proetinleri üzerindeki etkisinden dolayı hibridoma büyüme faktör (HGF)<sup>57</sup>.

IL-6 yukarıda bahsedildiği gibi birçok sistem üzerinde etkili olan bir sitokin olduğundan inflamasyonla ilişkilendirilebilen pekçok hastalıkla da ilişkilendirilmiştir. Aşağıdaki şekilde bu durum açıklanmaktadır.



**Şekil 7:** IL-6'nın çeşitli hücre tipleri üzerine etkisi ve neden olabileceği rahatsızlıklar. "Tanaka (57) 'dan değiştirilerek".

IL-6 temelde 3 sinyal yolağını aktifleştirerek kanser gelişimi ile ilişkilendirilmiştir. Bunlar; RAS/ERK, JAK/STAT3 ve PI3K/Akt sinyal yollarıdır<sup>92</sup>.

JAK/ STAT3 aktivasyonu ile hücre döngüsü düzenleyicisi siklin D1, proto-onkogen c-myc ve metabolik bir regülatör olan mTORC1 gibi genlerin ve moleküllerin aktivasyonu ve sentezi artar ve kanser hücrelerinin farklılaşması ile hayatta kalma becerilerinde artış gözlenir. Bu esnada c-myc aktivasyonu önemlidir. C-myc, hücre döngüsü içerisinde hücrenin G<sub>1</sub> fazından S fazına geçişte önemli bir düzenleyicidir. IL-6 ile aktive olan STAT3, c-myc promoter bölgesine bağlanır c-myc transkripsiyonunu gerçekleştirir. c-myc aktivasyonunun artması ile siklin D1 ekspresyonu artar ve önemli bir G<sub>1</sub>-S denetleyicisi olan p21 proteininin aktivasyonu azalır. Bu şekilde mTORC1 ve gp130 aktivasyonu gerçekleşir ve tümör hücrelerinin büyümesinin yolu açılmış olur<sup>92-94</sup>. Diğer yandan XIAP gibi apoptoz inhibitör proteinlerin ve MMP sentez seviyesi de aynı sinyal yolağının aktivasyonu ile artar. Bu şekilde tümör hücrelerinin invazyonu ve metastaz yeteneği artmış olur<sup>92</sup>.

Normal meme dokusu gelişimde OSM (onkostatın M) ve LIF (lösemi inhibitör faktör) meme epitel hücrelerinin büyümesini durdurmaktadır. Ancak meme dokusunda inflamasyon sonucu inflamasyon bölgesinde fazlaca bulunan TAMs'lar tarafında üretilen IL-6 OSM aktivasyonunu artırmakta ve meme dokusunda epitelial/mezenkimal değişikliklere sebep olarak meme kanserinin gelişmesini tetiklemektedir<sup>92,95</sup>.

IL-6 birçok kanser türü ile de ilişkilendirilmiş (deri, akciğer, karaciğer, prostat, meme, böbrek vs.) ve IL-6 inhibitörleri bu kanserlerin tedavisinde kullanılmıştır. Bunlardan en çok bilinen siltuximab (ovaryum kanseri), elisilimomab (multiple myeloma) ve tocilizumab (oral skuamoz hücre kanseri-OSCC)'tır<sup>9,92,95-98</sup>.

Farelerde deneysel olarak oluşturulan (diethylnitrosamine-DEN) HCC (hepatosellüler karsinoma) kanser modelinde, normal olanlara nazaran kanserli hayvanlarda IL-6 seviyesi kritik olarak yüksek ölçülmüştür<sup>17,99,100</sup>.

Noman ve ark. (101) 110 meme kanseri hastalarında yaptıkları çalışmada, hastaların kemoterapi ve operasyon öncesi ile sonrası arasında ki serum ve plazma IL-6 seviyelerini karşılaştırmışlardır. Ayrıca kanser hastalarının serum ve plazma IL-6 seviyelerini 30 sağlıklı insan ile de karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırmalar sonucunda opere edilebilecek tümöre sahip hastaların ve ileri derecede metastatik tümöre sahip hastaların sağlıklı kontrol gurubuna göre serum ve plazma seviyeleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aynı anlamlı farklılık metastatik hastalar ile opere edilebilecek hastalar arasında da görülmüştür. Metastatik hastaların serum ve plazma IL-6 seviyeleri

oldukça yüksek çıkmıştır. Daha sonra opere edilebilen hastaların operasyonlarından 3 ve 6 ay sonraki serum IL-6 seviyeleri ile opere olmadan önceki değerleri karşılaştırmışlar ve operasyondan sonra IL-6 seviyelerinin anlamlı derecede düştüğünü görmüşlerdir. Aynı sonuçlar ileri derece metastatik olan hastalar içinde geçerli olmuştur. İleri derecede metastaza sahip hastaların kemoterapi öncesi ve sonrası IL-6 seviyeleri karşılaştırıldığında kemoterapi sonrası IL-6 seviyeleri anlamlı derecede düşmüştür.

Yunfeng Ma ve ark. (102) 110 kanser hastası ile yaptıkları çalışmada hastalardan IL-6 seviyelerini ölçmek için serum örnekleri elde etmişler ve 30 sağlıklı insandan elde edilen serum örnekleri ile karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırmalar sonucunda kanser hastalarının serum IL-6 seviyeleri sağlıklı olan insanlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Kanser hastalarında ayrıca kanserin derecesine göre bir kıyaslama daha yapmışlar ve kanserin derecesi arttıkça serum IL-6 seviyelerinin de anlamlı derecede yükseldiğini göstermişlerdir.

### **2. 5. 3. IL-10 ve Kanser İlişkisi**

IL-10, NF-κB'nin inaktif olmasına neden olmakta ve IL-1α, TNF-α, IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin sentezini azaltmakta, antiinflamatuvar etki göstermektedir<sup>63,103-106</sup>. Gerek antiinflamatuvar etkinliğinden kaynaklanan gerekse neden olduğu NF-κB inaktivasyonundan dolayı fareler üzerinde yapılan deneylerle IL-10'un anti-tümör etkinliği gösterilmiştir<sup>107,108</sup>. Ayrıca IL-10, bağışıklık sistemini destekleyerek, bağışıklık sisteminin anti-tümör etkinlik gösterme yeteneğini de artırmaktadır<sup>109,110</sup>. Bu etkinlik artırma işlemini apoptoz mekanizmalarını etkileyerek ve tümör gelişimi sırasında meydana gelen damarlanmanın önüne geçerek yapmaktadır<sup>111,112</sup>.

Bir diğer mekanizma ise MHC ekspresyonunu azaltarak NK hücrelerinin, tümör hücrelerini parçalamasına fırsat vermesidir<sup>106</sup>. Ancak bu sitokinin, diğer sitokinlerle etkileşim içinde bulunduğu vücut ortamında pro-tümörojenik aktivitesinin de olabileceğini belirten çalışmalarda mevcuttur<sup>63,109</sup>.

Bunların yanında solid tümörlerin olduğu kanser türlerinde de IL-10 düzeylerinin yüksek olduğu görülmüştür<sup>51</sup>. Ayrıca IL-10, Bcl-2 ekspresyon seviyesini artırarak dolaşımdaki T hücrelerini apoptoza karşı korumaktadır<sup>63</sup>.

Pinzon-Charry ve ark. (113) yaptığı çalışmada fare meme tümörü modelinde *in-vivo* şartlarda IL-10 artışının tümör büyümesini engellediği ve metastaz kuvvetini azalttığını göstermişlerdir.

Kundu ve ark. <sup>(114)</sup> yaptığı *in-vivo* ve *in-vitro* fare meme tümörü çalışmasında aynı şekilde artan IL-10 seviyesinin tümör gelişimini ve metastaz yeteneğini azalttığını göstermişlerdir.

Bunları destekler nitelikte olan Dorsey ve ark. <sup>(115)</sup> ile Giovarelli ve akr. <sup>(116)</sup> *in-vivo* şartlarda yaptığı çalışmalarda fare meme adenokarsinom modelinde artan IL-10 seviyelerinin NK hücrelerinin aktivitesini artırarak tümör hücrelerinin parçalandığını göstermişlerdir.

Diğer yandan IL-10 sitokininin meme tümörü biyo-işaretçisi olabileceği ve meme tümörü ile yakından ilişkili olduğunu ortaya koyan çalışmalarda mevcuttur<sup>63</sup>. Kozlowski ve ark. <sup>(117)</sup> yaptıkları çalışmada 45 meme kanseri hastasının ve 25 sağlıklı insanın serum IL-10 seviyeleri karşılaştırdıklarında meme kanseri hastalarının serum IL-10 seviyelerinin sağlıklı insanlara kıyasla %78 oranında artış gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Ancak tüm bunların dışında *in-vitro* şartlarda IL-10 seviyelerinin artışının tümör gelişimini desteklediği ve hatta tümör damarlaşmasını artırabileceği yönünde çalışmalar da mevcuttur.

Joimel ve ark. <sup>(118)</sup> yaptıkları çalışma da bunu destekler niteliktedir. Yaptıkları çalışmada MDA-MB-231 hücre hattı kullanmışlar ve artan IL-10 seviyelerinin tümör damarlanma kuvvetini artırdığını ortaya koymuşlardır.

Mohamed ve ark. <sup>(119)</sup> yaptıkları klinik çalışmada 135 meme kanseri hastasından elde edilen meme dokusu örneklerinde IL-10'un protein seviyeleri ve mRNA seviyelerini 50 sağlıklı insandan elde edilen örneklerle karşılaştırmışlardır. Yaptıkları analizler sonucunda kanser hastalarının anlamlı şekilde daha yüksek IL-10 mRNA seviyelerine sahip olduklarını göstermişlerdir. Ayrıca kanser hastalarını da kendi aralarında inflamatuvar kanser hastaları (IBC) ve inflamatuvar olmayan kanser hastaları (non-IBC) olarak sınıflandırmışlar ve IL-10'un hem mRNA seviyelerini hem de protein seviyelerini IBC hastalarda non-IBC hastalara göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır.

Yang ve ark. <sup>(120)</sup> yaptıkları çalışmada TAMs'lerin ve IL-10'un tümör hücrelerinin kanser ilaçlarına karşı direnci arttırdığını ve tümör hücrelerini koruduğunu göstermişlerdir. Çalışmalarında T47D ve BT549 insan meme kanseri hücre hatlarını ve THP1 hücrelerini kullanmışlardır. THP1 hücreleri M2 makrofajlara (TAMs) dönüştürdükten sonra çok daha fazla IL-10 sentezlediklerini göstermişlerdir. TAMs'lardan elde ettikleri süpernatant medyumunu (CM) meme kanseri hücre hatlarına eklediklerinde bu hücrelerin normalden daha fazla IL-10 ürettiklerini ortaya koymuşlar

ve kanser hücreleri ile TAMs'lar arasındaki ilişkiyi göstermişlerdir. Diğer yandan kanser hücre hatlarının yaşam kabiliyetlerini de değerlendirmişlerdir. Bunun için BT549 ve T47D hücrelerini normal medyum içerisinde ve paclitaxel (PTX) ekledikleri medyum içinde üretmişlerdir. Doğal olarak PTX kanser hücre hatlarının yaşam kabiliyetlerini düşürmüştür. Ancak ortama IL-10 eklediklerinde yaşam kabiliyetlerinin arttığını göstermişlerdir. Ayrıca bu kanser hücre hatlarını CM ve PTX içeren ortamda da üretmişler ve tekrar yaşam kabiliyetlerini değerlendirmişlerdir. CM+PTX medyum ortamına anti IL-10 eklediklerinde CM+PTX ortamına göre hücrelerin yaşam kabiliyetlerinin tekrar arttığını göstermişlerdir. Buradan IL-10'un kanser hücrelerini koruyabileceği sonucuna varmışlardır.

IL-10 hem tümör gelişimini destekleyen hem de tümör oluşumunu engelleyen bir faktör olabilmektedir<sup>121</sup>.

#### **2. 5. 4. IL-13 ve Kanser İlişkisi**

IL-13'ün, tümör içine infiltre olmuş CD4+ hücrelerinden salgılanarak TAMs'larda morfolojik değişikliklere sebep olduğu ve meme kanseri olgularının akciğerlere metastaz yapmasına sebep olduğu bilinmektedir. Metastazın sebebi ise meme tümörü hücrelerinin fazlaca IL13R2 bulundurmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca IL-1 $\alpha$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  sentezini de azaltmaktadır<sup>70,122</sup>.

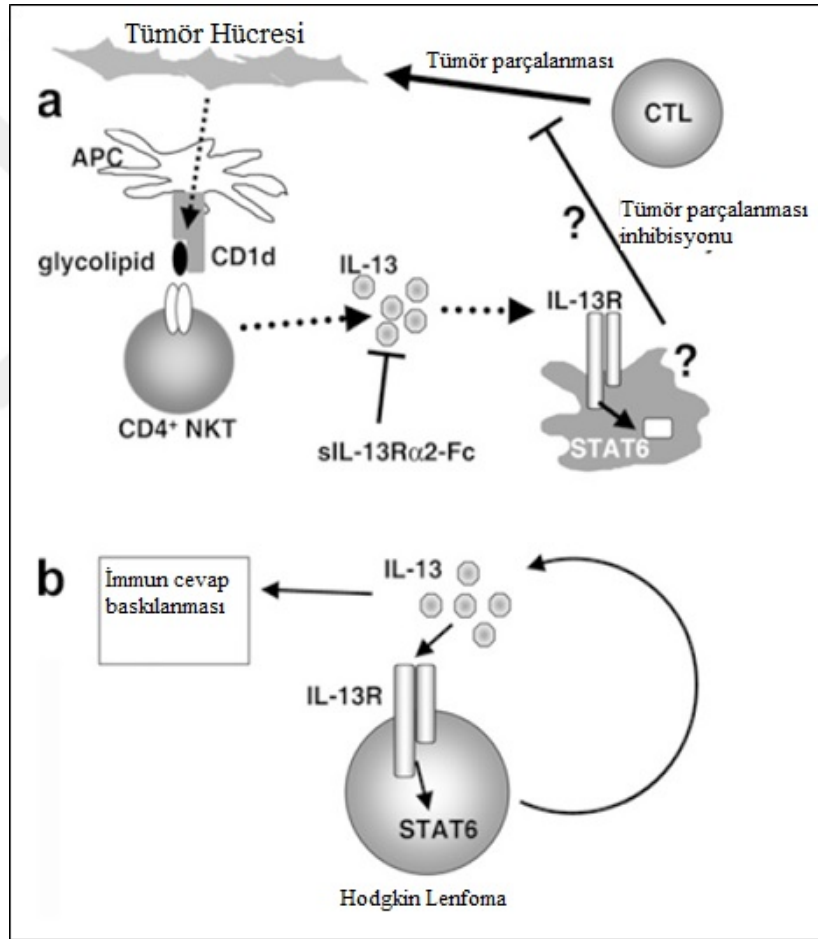
Kwon ve ark. (<sup>123</sup>) yaptıkları çalışmada 1238 meme kanseri hastasını tümörlerinin büyüklüğüne hastaların prognozlarına göre sınıflandırmış ve bu hastalarda IL13R2 sentez seviyesine bakmışlardır. Hastalardan cerrahileri sonucu elde edilen tümör örneklerinde immünohistokimyasal ve patolojik incelemeler yaparak hastaların prognozlarını değerlendirmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucu invazif meme kanseri hastalarında IL-13R2'nin anlamı şekilde yükseldiğini ve diğer hastalara göre bu hastaların daha kötü prognozlara sahip olduklarını göstermişlerdir.

Meme tümörü gibi sert yapılı tümörlerde yüksek IL-4R $\alpha$  seviyelerine rastlanılmaktadır. Bu da tümörün yüksek metastaz kapasiteli ve daha agresif yapılı olduğunu ortaya koymaktadır<sup>70</sup>.

Venmar ve ark. (<sup>124</sup>)'nın insan meme tümörü fare modeli ile yaptığı çalışmada IL-4R $\alpha$  zayıflatılmış ve tümörün metastazik yeteneğinin azaldığı ve böylelikle hayatta kalma becerisinin düştüğü görülmüştür. Aynı şekilde IL-13 ve IL-4 reseptörlerinin bloke edilmesi ile kanser hastalarının kemoterapotik ajanlara daha duyarlı oldukları ortaya konulmuştur<sup>125</sup>.

Diğer yandan tümör antijenleri (glikolipidler), antijen sunan hücreler tarafından CD1d olarak sunulur ve sunulan bu CD1d aracılığı ile CD4 ve NK hücreler aktive olmuş olur. Aktive olan CD4 ve NK hücreler tümör mikro çevresinden itibaren IL-13 üreterek salgırlar ve salgılanan IL-13 etkisi ile tümör hücrelerini öldüren sitotoksik etkili CD8 hücrelerinin aktivasyonu azalır ve bu şekilde tümör hücreleri gelişmeye fırsat bulmuş olur. Bunun dışında IL -13 hücreler arası adezyon molekülü olan E-cadherin sentezini azaltarak hücrelerin birbirlerinden ayrılmaları ile tümör hücrelerinin metastaz yeteneğinin artmasına neden olmaktadır<sup>126</sup>.

Terabe (<sup>126</sup>), IL-13'ün sinyal iletimini ve tümör hücreleri üzerine olan etkisini vermiştir (Şekil 8).



**Şekil 8:** IL-13'ün sinyal iletimi ve tümör hücreleri üzerine etkisi “Terabe (126)’den”

Srabolic ve ark. (127) Türkiye Tuzla'da yaptıkları çalışmada 50 meme kanseri hastasını değerlendirmişler ve bu hastalardan 26 tanesinin lenf düğümlerinde de kanser olgularına rastlamışlardır. Cerrahi yöntemlerle alınan tümör ve tümör dokuyu çevreleyen tümörleşerek değişmemiş meme dokusundan IL-13 seviyelerini ölçmüşlerdir. Yaptıkları incelemeler sonucu lenf nodlarında da tümöre rastlanan hastalarda, tümör dokusundan salgılanan IL-13 seviyesinin tümörü çevreleyen sağlam kalmış dokudan anlamlı derecede yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır.

### 2. 5. 5. TNF- $\alpha$ ve Kanser İlişkisi

TNF- $\alpha$ 'nın kronik inflamasyondaki rolü ve tümör gelişimi üzerindeki etkisi yapılan çalışmalarda oldukça iyi anlaşılmaktadır<sup>109,128</sup>. Bu sitokin, tümörün mikroçevresinde bulunan, bağışıklık sistemine ait hücrelerden veya bizzat tümör hücreleri tarafından üretilebilmektedir. Üretilen TNF- $\alpha$  ile NF- $\kappa$ B'ye bağımlı kodlanan genlerin indüksiyonu sonucu anti-apoptotik moleküller açığa çıkmakta ve bu şekilde tümör hücrelerinin sağ kalımı desteklenmektedir<sup>129</sup>. Ayrıca TNF- $\alpha$ , mutasyonlara, DNA hasarlarına yol açabilen NO ve ROS gibi genotoksik moleküllerin üretilmesine katkıda bulunmaktadır<sup>130</sup>.

TNF- $\alpha$  seviyelerinin yükselmesi multiple myeloma (MM), idrar kesesi kanseri, mide kanseri, meme kanseri ve hepatosellüler karsinoma (HCC) gibi hastalıklara yakalanma riskini arttırdığı yapılan çalışmalarla gözlemlenmiştir<sup>109</sup>.

KontROLSÜZ TNF- $\alpha$  ÜRETİMİ KAŞEKSI İLE SONUÇLANABİLMEKTEDİR<sup>113,131,132</sup>.

Huang ve ark. (133) yaptıkları çalışmada TNF- $\alpha$ 'nın meme tümörü dokusunu çevreleyen TAMs'lardan olabilen mezenkimal stromal hücrelerin (MSCs) TNF- $\alpha$  aktivasyonuna maruz kaldığında tümör gelişimini arttırdığı ve metastazına sebep olabileceğini ortaya koymuşlardır. Yaptıkları çalışmada 4T1 meme kanseri hücre hattını ve kemik iliğinden toplanan MSCs hücrelerini Balb/c farelerin yağ dokusuna enjekte etmişler ve TNF- $\alpha$  verilerek aktivasyonlarını sağlamışlardır. TNF- $\alpha$  etkisine maruz kalan MSCs hücreler fazlaca CXCR2 sekresyonuna sebep olarak tümör gelişmesini anlamlı derecede arttırmış ancak TNF- $\alpha$  aktivasyonuna maruz kalmayan hayvanlarda ise böyle bir etki gözlenmemiştir.

Bunların yanında TNF- $\alpha$  sitokinin anti-tümör etkili olduğunu gösteren çalışmalarda mevcuttur. Watanabe ve ark. (134) yaptıkları çalışmalarda, TNF- $\alpha$ 'nın tümör dokusu ile ilişkili kan damarlarında kan akışını azalttığını ve tümör dokusunun iskemik hal aldığını ortaya koymuşlardır. Diğer yandan düzeyi gittikçe artan TNF- $\alpha$  tümör nekroz



ailesinin üyelerinden TIPE2 seviyesini de arttırmaktadır. Yapılan çalışmalar agresif tümöre sahip hastalarda ve kötü prognoza sahip hastalarda TIPE2 seviyesinin yüksek olduğunu göstermiştir<sup>135</sup>.

Wang ve ark. (<sup>135</sup>) yaptıkları çalışmada meme kanseri hastalarından elde ettikleri örneklerden TIPE2 seviyelerini ölçmüşlerdir. Ayrıca MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında vektör yöntemi ile TIPE2 sentez seviyelerini arttırmışlar ve bu hücrelerin migrasyon yeteneklerini ölçmüşlerdir. Çalışmaları sonucunda normal dokuya karşılık kanserli dokuda anlamlı derecede fazla TIPE2 seviyesi olduğunu göstermişlerdir. Diğer yandan TIPE2 sentez seviyesi artırılan meme kanseri hücre hatlarının da migrasyon yeteneklerinin anlamlı derecede azaldığını göstermişlerdir. Buna ek olarak Balb/c nude fareler üzerinde de MDA-MB-231 xenograft modeli oluşturmuşlar ve TIPE2 enjeksiyonu ile hayvanların geliştirdikleri tümör ağırlığını ve hacmini ölçmüşlerdir. TIPE2 aktiasyonu olan hayvanlarda tümör hacmi ve ağırlığı anlamlı derecede az olarak ortaya çıkmıştır.

Korobeinikova ve ark. (<sup>136</sup>) pre-menapoz döneminde ve meme kanserinin ilk aşamalarında olan hastalar (eraly stage) üzerinde TNF- $\alpha$  polimorfizmlerini ve hasta prognozunda TNF- $\alpha$ 'nın rolünü araştırmışlardır. Yaptıkları SNP (single nucleotide polymorphism) analizleri sonucunda yüksek plazma TNF- $\alpha$  seviyesine ve TNF- $\alpha$  308 polimorfizmine sahip hastaların düşük plazma TNF- $\alpha$  seviyelerine hastalardan daha kötü prognoza sahip olduklarını ortaya koymuşlardır.

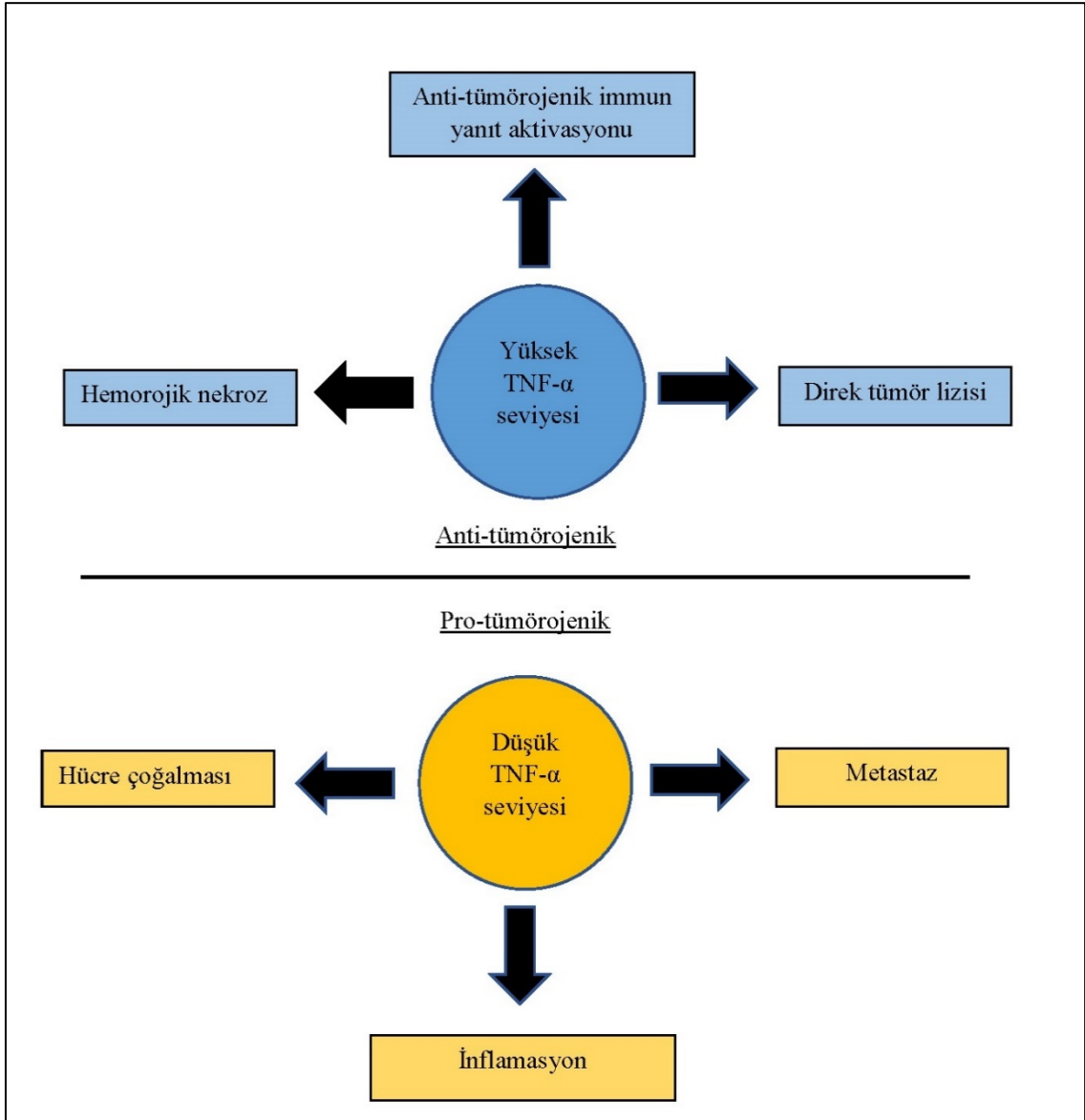
Nitekim TNF- $\alpha$ 'nın bu anti-tümör etkinliği yüksek doz eksojen kullanımında ortaya çıkmaktadır ve endojen TNF- $\alpha$ 'nın ise tümör gelişimini desteklediği bilinmektedir<sup>137</sup>. Spriggs ve ark. (<sup>138</sup>) TNF- $\alpha$ 'nın kanserle ilişkisini ortaya koymak ve TNF- $\alpha$  ile tedavi protokolü oluşturmak adına yaptıkları çalışmada TNF- $\alpha$  ile tedavi sonucu meme kanseri hücre hatlarından daha fazla TNF- $\alpha$  salgılandığını ortaya koymuşlardır. Bu çalışma sonucu TNF- $\alpha$ 'nın sadece immun hücreler tarafından salgılanmadığı birçok insan kanser hücreleri tarafından da değişen miktarlarda salgılanabileceği ve pro-tümörojenik olabileceği anlaşılmıştır.

Deney hayvanlarında yapılan çalışmalar TNF- $\alpha$  salgılanmasının ortadan kaldırılması ile karaciğer kanseri ve deri kanseri görülme riskini azalttığını göstermektedir<sup>131</sup>.

Diğer yandan tümör hücreleri tarafından salgılanan TNF- $\alpha$  myeloid hücrelerin karakterinin değişmesine neden olarak tümör gelişimini destekleyen hücreler halini almasına ve daha fazla TNF- $\alpha$  üretilmesine sebep olmaktadır<sup>139</sup>. Aynı şekilde giderek

artan endojen TNF- $\alpha$  seviyesi CXCL12, CCL8, VEGF ve metalloproteinaz (MMPs) gibi sitokin ve kemokinlerin de seviyelerinin artmasına sebep olmakta bu şekilde tümörleşen bölgede damarlaşmanın ve metastaz kuvvetinin artışına sebep olmaktadır<sup>140</sup>. Kanser hastaları üzerinde TNF- $\alpha$  antagonistleri ile yapılan klinik tedaviler ve çalışmalar sonucu ilerleyen kanser hastalığı %20 oranında stabil hale getirildiği de bilinmektedir<sup>141-143</sup>.

Ardestani (<sup>144</sup>) TNF- $\alpha$ 'nın tümörojenik ve pro-tümörojenik etkilerinin şematik diyagramını vermiştir (Şekil 9).



**Şekil 9:** TNF- $\alpha$ 'nın tümörojenik ve pro-tümörojenik etkileri "Ardestani (144)'den değiştirilerek."

## 2. 5. 6. MCP-1 ve Kanseri İlişkisi

MCP-1'in kanseri ile olan ilişkisi tümörle ilişkili makrofajlar (TAMs)'dan kaynaklanmaktadır. Tümörleşen bölgeye infiltre olmuş olan makrofajların birçok kemokin ve sitokin salgıladığı bilinmektedir. Tümör mikro çevresini şekillendiren ve TAMs'ların salgıladıkları kemokinlerden biride MCP-1'dir. Özellikle meme tümörünün gelişimi esnasında veya tümörle ilişki damarlaşmanın olduğu durumlarda MCP-1 salgılanma seviyesinin arttığı bilinmektedir. Ayrıca MCP-1 seviyelerinde ki artış birçok kanseri hücre hattı üzerinde metastaz kuvvetini ve kanseri hücresi büyüme yeteneğini de artırmaktadır<sup>78</sup>. Aşağıdaki tablo da bu durum anlatılmaktadır.

Lim (<sup>145</sup>) MCP-1'in çeşitli hücre tipleri üzerine etkilerini tablo olarak vermiştir (Tablo 2).

**Tablo 2:** MCP-1'in çeşitli hücre tipleri üzerine etkisi "Lim (145)'den değiştirilerek."

Hücre Türü	Kanseri Hücresi Modeli	MCP-1 Etkisi
Meme kanseri hücre hatları	MCF-7	Hücre göçünün uyarılması
Meme kanseri hücre hatları	PyVmT, 4T1, MDA-MB-231	Hücre hayatta kalma yeteneğinin artması
Prostat kanseri hücre hatları	PC-3, LNCaP, DU145	Hücre adezyon ve çoğalmasının uyarılması
Glioblastoma hücre hatları	T98G, U87MG	Hücre göçünün ve çoğalmasının uyarılması
Ovaryum kanseri hücre hattı	SKOV-3	Hücre göçünün ve adezyonunun uyarılması
İdrar kesesi kanseri hücre hatları	SV-HUC-1, RT4, TSGH8301, J82	Hücre göçünün ve tümörojenesinin uyarılması

Hücre Türü	MCP-1 Etkisi
Fibroblastlar	Adezyon, hayatta kalma ve anti-fibrotik etkilerin uyarılması
Makrofajlar	Tümörleşen bölgede toplanması ve TAMs hücrelerine yönelik morfolojik değişimler

Monositler	Makrofaj hücrelerine dönüşümün uyarılması
Kök hücreler	Pluripotent değişim kuvvetinin artırılması
NK hücreler	Hücre göçünün uyarılması
T hücreler	Hücre çoğalmasının ve aktivitesinin artırılması

Fang ve ark. <sup>(146)</sup> yaptığı çalışmada MCP-1 (CCL2)'nin aktivitesini ortadan kaldırmak için gen susturma yöntemi araştırmışlar ve araştırmaları sonucunda Ca-TAT adlı moleküle ulaşmışlardır. Bu molekülü kullanarak MDA-MB-231 meme kanseri hücre hatlarında kontrol hücrelere göre başarılı bir gen susturması olduğunu ve anlamlı derecede azalmış CCL2 seviyelerinin olduğunu göstermişlerdir. Daha sonra aynı kanser hücre hatlarını kullanarak atimik Balb/c farelerde xenograft modeli oluşturmuşlardır. Oluşturdukları model sonrasında tümör geliştiren farelerde kontrol gruplarına göre anlamlı şekilde hem tümör çapının azaldığını hem ağırlığının azaldığını hem de tümörde ki nekroz alanın arttığını göstermişlerdir.

Diğer yandan tüm bunların yanında CCL2'nin anti-tümör etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalarda mevcuttur. Lavender ve ark. <sup>(147)</sup> yaptığı çalışmada CCL2'nin *in-vitro* ve *in-vivo* farklı davranabileceğini göstermişlerdir. Hatta bu farklı davranış şekli tümörün kuvveti ile de ilgili olmuştur. Yaptıkları çalışmada *in-vivo* metastatik olan 4T1 ve PyMT ile metastatik olmayan 67NR hücre hatlarını kullanmışlardır. Bu hücre hatlarını naif nötrofillerle ve tümör ilişkili nötrofillerle (tumor entrained neutrophils-TEN) ve ayrıca ortama CCL2 ekleyerek yaşam kabiliyetlerini incelemişlerdir. Bu incelemeler sonunda naif nötrofillerin 4T1 ve 67NR hücre hatlarında yaşam kapasitelerini azalttığını göstermişlerdir. Ortamda CCL2 olması bir anlamlılık ifade etmemiştir. Bezer etkiyi TEN'ler ile 4T1 hücreler arasında da göstermişlerdir. Ancak tümör kuvveti daha az olan 67NR hücrelerde ortama CCL2 eklenmesi (CCL2+TEN) tümör hücrelerinin yaşam kapasitesini anlamlı şekilde düşürmüştür. Diğer yandan *in-vitro* koşullara geçildiğinde C57BL/6-PyMT tümör modelinde ortama CCL2 eklenmesi ile (naif nötrofil + CCL2+ C57BL/6) CCL2 bulunmayan ortama göre (naif nötrofiller+C57BL/6) tümör hücrelerinin yaşam kabiliyetlerinde anlamlı bir yükseliş olduğunu göstermişlerdir.

## 2. 6. Yaşa Bağlı Olarak İnflamasyon Parametrelerinin Değişimi

Yaşlanma hem fizyolojik anlamda (saç beyazlaması, kas güçsüzlüğü kardiyak hipertrofi vs.) ve hücresel anlamda değişiklikleri (ilerleyen hücre fonksiyon kayıpları, doku yenilenme kabiliyetinde azalma vs.) içeren kompleks bir süreçtir<sup>148-151</sup>. İnflamasyon ve yaşlılığa bağlı gelişen birçok hastalık (ateroskleroz, artrit, kanser, diyabet, osteoporoz, vs.) ilişkilendirilmiş ve bu ilişkilendirme sürecinde “inflammaging” kavramı kullanılmaya başlamıştır. Bu tanım infeksiyöz olmayan ve yaşlılığa bağlı kronik inflamasyonu ifade etmektedir<sup>148-154</sup>. Bu süreç içerisinde yaşlılığa bağlı olarak bazı interlökin seviyelerinde ve inflamatuvar biyo-işaretçilerinde yükselme (IL-6, IL1- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , CRP) olabilmektedir<sup>152-155</sup>. Bu bahsedilen değerlerin yükselmesinin temelinde; immünolojik yaşlanma, hücresel yaşlanma, hücresel kirlenme, barsak mikro-biyotasın da meydana gelen değişiklikler, oksidatif hasar, DNA hasarı ve bölgesel yağlanma ile ilişkili obezite yatmaktadır. Yıllar içerisinde sürekli olarak antijenlere maruz kalma ile oluşan antijenik stres sonucu inflamasyon mekanizmaları etkilenmekte ve zamanla kronik inflamasyon şekillenebilmektedir. Aynı şekilde yaşlanma süreci içinde kimyasallara maruz kalma, birikmiş ROS metabolitleri veya iyonize radyasyon telomer erozyonuna, DNA hasarlarına ve onkogenlerin aktivasyonuna yol açabilmektedir. Meydana gelen bu etkiler sonucu hücresel yaşlanma oluşmaktadır. Bu yaşlanan hücreler her ne kadar metabolik olarak inaktif hale geçiyor olsa da kendi mikro-çevreleri ile olan ilişkilerini devam ettirmektedirler. Bu tip hücreler SASPs (yaşlanma ilişkili sekretuar fenotip) olarak adlandırılmakta ve çevreleri ile olan ilişkilerini çoğunlukla interlökinler ve kemokinler üzerinden sağlamaktadırlar. Bunun sonucunda da metabolik olarak inaktifleşen dokularda sitokin ile kemokin artışına yol açmakta ve yaşlanmış dokularda zaman içerisinde fazlaca immün kökenli hücrelerin toplanmasına neden olmaktadır. Bu birikimin temelinde ise yaşlı bireylerin immün sistemlerinin ortadan kaldırılabileceğinden çok daha hızlı yaşlanmış hücre ortaya çıkarması yatmaktadır. Diğer yandan metabolizması yavaşlayan ve yaşlanan hücreler hücresel atıklarını hızlı bir şekilde ortadan kaldıramazlar. Bu durumda ortamda biriken fazla miktardaki atık hücresel boyutta incinmelere sebep olabilmektedir. Bunun sonucunda bu hücreler daha önce bahsedilen DAMs’lar halini almakta ve immün sistemin birçok reseptörünü (TLR, NLRP3, RIG) uyarabilmekte ve sonunda NF- $\kappa$ B aktivasyonu şekillenerek sitokin üretim mekanizmaları aktif olmaktadır<sup>149</sup>. Hücresel yaşlanma ile beraber telomer fonksiyonlarında azalma ve bu azalma ile beraber kalıcı DNA hasar odakları oluşmaktadır. Bu durum ise hücre yıpranmalarına karşı yenilenme fonksiyonlarını

azaltmakta ve hasarlı hücrelerin çoğalmasına sebep olmaktadır. Hasarlı hücrelerin (DAMPs) çoğalması ise yine immün sistemin fazlaca uyarılmasına yol açmaktadır<sup>148,153,156,157</sup>.

Aşağıdaki tablo yaşlanma mekanizmalarını ve bu mekanizmalar etkinliğinde etkilenen sinyal yollarını göstermektedir<sup>157</sup>.

**Tablo 3:** Yaşlanma mekanizmaları ve sinyal yolları “Xia (157)’dan değiştirilerek.”

Mekanizma	Etki	Sinyal Yolağı
Stres	Sürekli antijen stresine maruz kalma hücrelerde metaboklik hasar meydana getirmektedir.	RAS
İnflamasyon Oksidasyon	Homeostaz ve genel vücut sağlığı bozulması ile sonuçlanmaktadır.	NF-κB, Notch, TGF-β, Sirtuin
Sitokinler	Yüksek proinflamatuvar sitokin seviyeleri inflamasyon ve yaşlanma ile ilgili hastalıklar oluşturmaktadır.	mTOR, RIG-I, Notch
DNA Hasarı	DNA hasarı sonucu proinflamatuvar sitokin seviyelerinde artış meydana getirmektedir.	NF-κB
Otofaji	Otofaji fonsiyonlarının yavaşlaması veya durması oksidatif ürünlerin ve oksidatif stresin artmasına neden olmaktadır	NF-κB
Kök Hücre Yaşlanması	Kronik inflamasyon kök hücrelerin rejenerasyon kapasitelerinin azalmasına ve yaşlanmalarına sebep olmaktadır.	NF-κB, mTOR, RIG-I

Scuric ve ark. (<sup>150</sup>) yaptıkları çalışmada 190 erken seviye meme kanseri hastasında kemoterapi ve radyoterapinin DNA hasarı üzerine ilişkiyi araştırmışlar ve sadece cerrahi uygulanan hastalarda DNA hasarının kemoterapi ve radyoterapi tedavisi gören hastalara göre daha fazla DNA hasarı olduğunu ortaya koymuşlardır. DNA hasarı yüksek olan hastalarda ise sTNF-RII (çözünabilir TNF-α reseptörü)’nin daha fazla sentezlendiğini göstermişlerdir. Bu reseptörün aktivitesi ise TNF-α aktivitesinin arttığını göstermektedir.

Yaşlanmaya bağlı olarak vücut yağ dağılımı da değişebilmektedir. Özellikle yağlanma visceral olmakta ve yaşlılığa bağlı insülin direnci ile obeziteyi

şekillendirmektedir. Obezite ve inflamasyon ilişkisi iyi tanımlanmış bir mekanizmadır ve obezite ilişkili inflamasyon ise “metaflammation” olarak adlandırılmaktadır. Metaflammation şekillenmesi halinde yine hücre içi sinyal mekanizmaları aktif olmakta (NF- $\kappa$ B vs.) ve interlökin seviyelerinde artışlar gözlenebilmektedir<sup>149,151,152,154</sup>.

Diğer yandan yaşlanmanın neden olduğu durumlardan biri de timüs bezinin fizyolojik olarak küçülmesi ve görevini sağlıklı bir şekilde yerine getirememesidir. Buna bağlı olarak timopoezde aksamalar meydana gelmekte ve yeni naif T hücre üretimi bozulmaktadır. Buna bağlı olarak CD28+ T hücrelerin sayısı azalmakta ve bu hücrelerin yerini ise CD28- T hücreler almaktadır. Bu hücreler ise yaşlanma periyodunda kısa telomer yapısına, fazlaca TNF- $\alpha$  ve IL-6 üretimine sebep olmaktadır<sup>155</sup>. Ancak inflamatuvar medyatörler ve yaşlanma ilişkisi açısından toplum bazında da değişiklikler izlenmektedir. Yukarda anlatılanların tersi nitelikte olabilen bir durum Japon toplumunda gözlenebilmektedir. Japon toplumunda bulunan senteneryan (yüz yaşını geçmiş insanlar) insanlar da gençlere göre daha düşük IL-6, CRP seviyeleri gözlemlenmektedir<sup>152</sup>. Bu durum “anti-inflamaging” olarak adlandırılmakta ve antiinflamatuvar sitokin (IL-10, IL-4, TGF- $\beta$ 1) seviyelerinde artış ile karakterize olabilmektedir<sup>157,158</sup>.

Ishaqve ark. (<sup>159</sup>) yaptıkları çalışmada C57BL/6 türü fare kullanmışlar ve 5 aylıktan 30 aylığa kadar olan yaşlanma periyotlarında oluşan DNA hasarını ve TNF- $\alpha$  seviyesini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda 5 aylık ile 25 yaş arasında anlamlı derecede artan DNA hasarı ve TNF- $\alpha$  seviyeleri olduğunu göstermişlerdir.

Pangrazzi ve ark. (<sup>160</sup>) yaptıkları çalışmada yaşlanmanın etkisini immün sistemin temel hafızası ve üretim yeri olan kemik iliğinden genç ve yaşlı insanlardan (20-90 yaş) elde ettikleri kemik iliği mononükleer hücreleri (BMNC) izole ederek araştırmışlardır. Araştırmaları sonucunda IL-6 mRNA seviyelerinin 65 yaş ve üstünde anlamlı şekilde arttığını göstermişlerdir. Aynı örneklerden flow sitometre ve protein izolasyonu da yaparak IL-6 seviyelerinin yaşlı insanlarda anlamlı şekilde arttığını göstermişlerdir.

## **2. 7. Kalori Kısıtlamasının İnflamasyon Parametreleri Üzerine Etkisi**

Yağ dokusu (adipoz doku), vücudun enerji gereksinimleri için depo, birçok biyolojik mediyatör için endokrin doku görevindedir. Üstlenmiş olduğu bu görevler ile vücutta kan basıncının düzenlenmesi, üreme fonksiyonlarının düzenlenmesi, kan glikozunun dengelenmesi, angiogenez ve immün fonksiyonlara katkı sağlamaktadır<sup>161</sup>. İmmün fonksiyonla değerlendirilen hücreler açısından, makrofajlar, dendritik hücreler, eozinofiller, nötrofiller, NK hücreler, B ve T hücreler adipoz doku içerisinde bol miktarda bulunabilmektedirler. Dolaşımdaki sitokin ve adipokin (yağ dokudan salgılanan

medyatörler) seviyeleri yağ doku da meydana gelen değişimlerden yukarıda bahsi geçen hücrelerden kaynaklı olarak fazla miktarda etkilenebilmektedir. Yağ dokusunun kalori kısıtlaması kaynaklı küçülmeleri sonucu antiinflamatuvar adipokinlerin (adiponektin, omentin vb.) seviyeleri yükselmekte ve proinflamatuvar adipokinlerin (leptin, resistin vb.) seviyeleri ise azalmaktadır. Tam tersine obezite gibi aşırı yağ dokusunun genişlemesinin olduğu durumlarda ise antiinflamatuvar adipokinlerin seviyesi azalmakta, proinflamatuvar sitokinlerin seviyesi ise artmaktadır<sup>12,162</sup>.

Adipoz doku normal formlarında iken yani BMI indeksine göre (vücut kitle indeksi) normal sınırlarında iken antiinflamatuvar sitokinler/adipokinler ve proinflamatuvar sitokinler/adipokinler açısından denge halindedir ve bünyesindeki makrofaj yoğunluğu M2 karakterindedir. Bununla beraber adipoz dokunun IL-4, IL-10 ve IL-13 salgılayıcı kapasitesi ağır basmaktadır. Obezite ya da aşırı yağlanmanın gerçekleştiği durumlarda beyaz adipoz dokunun (WAT) genişleme hızı o denli yüksek olmaktadır ki angiogenez bu hıza yetişemez ve adipoz doku hücrelerinde hipoksi gelişmeye başlar. Bunun sonucunda adipositlerde ölme ve nekroze dokuda artış gerçekleşir. Yağ dokuda bulunan yağ doku makrofajları (ATMs) bölgeyi nekroze doku artıklarından temizlemek için yüksek miktarda MCP-1 (CCL2) salgılamaya başlarlar. Bunun sonucunda ortamda fazla miktarda immün kökenli hücre toplanır. Nekroze dokuların ve immün kökenli hücreler yağ dokuda CLS (Crowl-like Structures) kümeleşmeleri oluştururlar. CLS ile beraber ortamda fazlaca biriken ölü doku artıkları ve yağ asitleri (FA) ATMs'lerin PRRs reseptörlerini çoğunlukla da TLR-4 reseptörlerini uyarırlar. TLR-4 reseptörünün uyarılması ile seramid biyosentez sinyal yolağı aktive edilmiş olur. Bu aktivasyon sonucu NLRP3 reseptör aktivasyonu ve caspas kaskadının da etkisi ile inflamazom kompleksi aktive olur. Bu aktivasyon ile JNK ve IK $\beta$  kinazlar gibi birçok serin kinaz in-aktivasyonu gerçekleşir ve NF- $\kappa$ B serbestlenmesi meydana gelerek hem M2 makrofaj karakteri M1 yönünde değişir hem de proinflamatuvar sitokinlerin sentez seviyelerinde artış gerçekleşmiş olur<sup>14,21,163-174</sup>.

Yüksek yoğunlukta kalori alımı pankreasın beta hücrelerini uyararak insülin sentezlenmesine sebep olmaktadır. Bu metabolizmada glikoz ve kalori dengesi sağlamak için meydana gelen normal bir mekanizmadır. Ancak yüksek miktarlarda ve uzun zamanlar boyunca kalorili beslenme insülin direncinin şekillenmesine ve insülin miktarının fazla artışına neden olmaktadır. İnsülin aynı zaman da adiponektin/leptin ve IGF-1 metabolizmaları ile de ilişkilendirilmiş ve birçok kanser tipinin (pre/post menapozal meme kanseri, endometriyum, kolon, böbrek vb.) gelişiminden sorumlu



tutulmuştur<sup>12</sup>. Seviyesi yükselen IGF-1 hücre büyüme ve gelişimi için gerekli olan RAS ve Akt sinyal yolağını aktif etmektedir. RAS aktivasyonu sonucu MAPKs ve ERK1/2 sinyal yolları aktifleşir. Bu aktivasyon sonucu hücrelerin mitozaya girmesini sağlayan c-Fos, C-Jun gibi genlerin transkripsiyonu başlar. Burada üretilen proteinlerin etkisi ile de anti-apoptotik etkinlikte olan Akt aktivasyonu şekillenmiş olur. Bu aktivasyon ile de mTORC1 sinyalizasyonu gerçekleşir ve AMPK in-aktivasyonu gerçekleşir. Bu durumda kanser hücreleri apoptoza karşı dirençli hale gelmiş olurlar<sup>175</sup>.

Tüm bunların yanında kalori kısıtlaması IGF-1, AMPK ve SIRT üzerinden hem inflamasyon hem de yaşlanma parametreleri üzerinde aynı anda etkili olabilmektedir. IGF-1, PI3K ve Akt sinyal yolağı üzerinden TOR aktivasyonuna sebep olur. TOR aktivasyonu ile de FoxO genlerinin inhibisyonuna sebep olmaktadır. B inhibisyon sonucu otofaji ve anti-oksidan etki mekanizmaları aksayarak yaşlanma periyotlarının hızlanmasına sebep olmaktadır. Kalori kısıtlaması bu mekanizmaları dolaşımdaki glikoz ve insülin seviyelerinin düşmesine sebep olarak IGF-1 aktivasyonunu bloke eder ve yaşlanma periyotlarını olumlu yönde değiştirir. Diğer yandan kalori kısıtlaması glikoz/karbonhidrat alımını düşürdüğünden AMP/ATP oranının artmasına bu da AMPK aktivasyonuna sebep olur. Bu aktivasyon ile de TAR inhibisyonu ve FoxO aktivasyonu şekillenerek otofaji ve anti-oksidan etkinlik düzeyi artar. Aynı şekilde kalori kısıtlaması NAD<sup>+</sup>/NADH sinyal yolağının aktivitesinin artmasına sebep olarak sirtuin (SIRT) seviyelerinin yükselmesine sebep olmaktadır. Artan sirtuinler ise NF-κB in aktivasyonu gerçekleştirerek IL-6, TNF-α, IL-1 gibi pro inflamatuvar sitokin seviyelerinin düşmesine ve kronik-steril inflamasyonun önüne geçilmesini sağlar<sup>156</sup>.

Bu bilgiler çerçevesinde birçok araştırmacı kalori kısıtlamasının yaşlanma ve kanser ile ilişkisini araştırmış ve inflamasyon parametrelerinin değişimi üzerinde yoğunlaşmıştır.

Fenton ve ark. (176) 6 haftalık dişi C57BL/6 fareler üzerinde kalori kısıtlaması yapmışlar ve inflamatuvar parametrelerin yüksek kalorili beslenen hayvanlara göre nasıl değiştiğini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada 10 hafta süre ile %30 kalori kısıtlaması (KK) uygulamışlar ve ad-libitum beslenen kontrol gurubu (AL) ve yüksek kalorili beslenen gruba (YK) serum da tespit edilebilen 61 adet parametreyi incelemişlerdir. İncelemeleri sonucunda Bi-Plex (bio-Rad) siteminde MCP-1, IL-1β TNF-α ve leptin düzeylerini karşılaştırmışlardır. Diğer parametreler bu sistemin ölçebileceği düzeyin altında değerlerde kalmıştır. Bu sistemle ölçüm sonucunda, serum MCP-1 ve I L-1β arasında anlamlı bir değişiklik görmemişlerdir. Ancak TNF-α seviyeleri yüksek kalorili

beslenen grupta diğer gruplara nazaran anlamı şekilde düşmüştür. Leptin seviyeleri ise yüksek kalorili beslenen grupta diğer gruplara nazaran anlamlı derecede yükselmiştir. Diğer parametreler RayBiotech antibody array sistemi ile ölçülmüş ve tespit edilmiştir. Ölçümleri sonucunda IL-1 $\alpha$  ve MCP-1 seviyelerinde deney grupları arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. IL-6 seviyeleri kontrol gurubuna göre yüksek kalorili beslenenlerde anlamlı şekilde yükselmiştir. IL-10 seviyeleri kontrol gurubuna göre kalori kısıtlaması gurubunda anlamlı şekilde yükselmiştir. IL-13 seviyeleri hem kontrol hem de kalori kısıtlama grubuna göre yüksek kalorili beslenen grupta anlamlı şekilde düşmüştür. TNF- $\alpha$  seviyeleri ise kalori kısıtlaması gurubuna göre yüksek kalorili beslenen grupta anlamlı şekilde yüksek olarak ölçülmüştür.

Olivo-Marston ve ark. (177) yaptıkları çalışmada 132 adet erkek FVB fare kullanmışlar ve azoxymethane (AOM) ile deneysel kolon kanseri modeli oluşturmuşlardır. Kanser modelinin gelişmesi ile hayvanları ad-libitum, %30 kalori kısıtlaması grubu ve yüksek kalorili beslenen grup olarak ayırmışlar ve son AOM enjeksiyonundan sonra tümör geliştirme düzeyleri ile serum sitokin seviyelerini karşılaştırmışlardır. Son AOM enjeksiyonundan 5 hafta sonra tümör geliştirmeleri açısından bir farklılık gözlemlenmemiştir. 10 hafta sonra KK gurubu AL gurubuna göre daha az, YK grubu ise daha fazla sayıda tümör geliştirmiştir. 20 hafta sonra ise durum yine 10 haftalık grupla aynı şekilde gözlemlenmiştir. Serum IL-6 TNF- $\alpha$  ve IL-10 seviyeleri yine 5-10 ve 20 haftalık süreçler içinde değerlendirilmiş ve serum IL-10 seviyeleri arasında hem gruplar içinde hem de süreler açısından bir farklılık izlenmemiştir. 5 hafta sonra IL-6 seviyesi AL gurubuna göre KK gurubunda anlamlı şekilde daha az, YK gurubunda ise anlamlı şekilde daha yüksek ölçülmüştür. Bu durum 20 haftalık süreç içinde aynıdır ve TNF- $\alpha$  ile paralellik göstermiştir.

Meydani ve ark. (178) KK'nın uzun dönemde etkisini araştırmak için 218 obez olmayan 20-50 yaşlar arası sağlıklı insanda 24 ay süre ile KK uygulamışlar ve plazma TNF- $\alpha$ , leptin, CRP ve ICAM-1 seviyelerini değerlendirmişlerdir. Katılımcıları AL gurubu olacak şekilde ve AL gurubuna göre %25 kalori kısıtlaması uyguladıkları KK gurubu olacak şekilde gruplara ayırmışlardır. Ölçümleri sonucunda 24 aylık periyotta plazma TNF- $\alpha$  ve CRP seviyeleri KK gurubunda AL gurubuna göre anlamlı şekilde azalmıştır. Leptin seviyeleri ise bu durumun tersi olarak AL gurubunda KK gurubuna göre anlamlı şekilde yükselmiştir.

Barbato ve ark. (179) yaptıkları çalışmada çeşitli şekilde yapılan kalori kısıtlaması uygulamalarının (kalori kısıtlaması, çok düşük kalorili diyet, aralıklı kalori kısıtlaması,

gün aşırı kısıtlama) etkisini yaşlanma ile ilgili parametrelerini içeren ve insanlar üzerinde yapılan 243 adet çalışmayı incelemişlerdir. İnflamasyon parametreleri (CRP, IL-6, IL-1 ve TNF- $\alpha$ ) içeren 17 adet çalışmayı değerlendirmişlerdir. Bu değerlendirme sonucunda KK yöntemleri ile sadece CRP ve IL-6 seviyelerinin anlamlı bir şekilde azaldığını ortaya koymuşlardır.

Doğan ve ark. (180) kalori kısıtlamasının ve daha az araştırılmış olan aralıklı kalori kısıtlamasının (AKK) serum proinflatuar sitokinler üzerine etkisini uzun dönem de ve kısa dönem de araştırarak karşılaştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada C57BL/6 türü dişi fare kullanmışlardır. Kısıtlama yöntemlerinde iki farklı kısıtlama şekli uygulamışlardır. Bunlardan birisi, AL besleme gurubuna göre %50 kalori kısıtlaması uygulanmış KKK (kronik kalori kısıtlaması) gurubu ve aralıklı kalori kısıtlaması gurubu (AKK). AKK gurubu 3 hafta boyunca AL gurubunun beslendiği şekilde beslenmiş 1 hafta ise AL gurubuna göre %25 kalori kısıtlaması uygulanmıştır. AKK gurubu AL besleme periyotlarında AKK-B (aralıklı kalori kısıtlaması yeniden AL beslemeye dönüş) ismini, kısıtlama periyodunda ise AKK-K (aralıklı kalori kısıtlaması kısıtlama periyodu) olarak isimlendirilmiştir. Deney gruplarına ayrılma 10 haftalık yaştan başlamış ve deney periyodu 74 haftalık yaşa kadar sürmüştür. Bu periyot içerisinde hayvanlardan periyodik şekilde serum örnekleri toplanmıştır. Örnek toplama haftaları çalışmaya başlana 10 haftalık yaştan itibaren 74 haftalık yaşlara kadar devam etmiştir. Örnekler AKK hayvanları için hem kısıtlama periyotlarında (13, 37, 73 haftalık yaşlar) hem de AL beslemeye dönüş haftalarında (14, 38, 74) toplanmıştır. Ölçümlerini patofizyolojik olarak sağlıklı olan hayvanlar üzerinden gerçekleştirmişlerdir. Ölçümleri sonucunda 13/14 haftalık yaşlarda AKK gruplarının serum IL-6 seviyelerinde AL gurubuna göre 6 kata kadar azalma görseler de istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. 73/74 haftalık yaşlarda ise IL-6 seviyeleri tüm kısıtlama gruplarında (AKK-KK) AL gurubuna göre anlamlı şekilde azalmalar göstermiştir. Aynı yaşlarda KK gruplarının kendi aralarında değerlendirilmesi sonucu (KKK-AKK-K, AKK-B) IL-6 seviyesinde AKK gruplarında KKK gurubuna göre 6 kata kadar daha düşük IL-6 seviyeleri ölçülse de değişimler arası anlamlı bir farklılık izlenmemiştir. TNF- $\alpha$  seviyelerinde ise 13/14 haftalık yaşlarda AKK-K gurubunda diğer gruplara kıyasla anlamlı şekilde azalmalar meydana gelmiştir. Ancak ilerleyen yaşlarda 73/74 haftalık periyotta AL grubuna göre KK gruplarında TNF- $\alpha$  seviyesi anlamlı derece düşük ölçülmüştür. Araştırmacılar yaptıkları ölçümler sonucu IL-6 seviyelerindeki azalma için yaşlanma arttıkça çeşitli yükselmeler görseler de genel anlamda AKK uygulamasının KKK uygulamasına göre daha etkili olduğunu öne

sürmüşlerdir. Diğer yandan TNF- $\alpha$  için yaşlanma ile beraber arttığını ancak çoğunlukla AKK gruplarında daha fazla düşüşler meydana geldiğini öne sürmüşlerdir.

Bu bilgiler ışığında pek çok araştırmacı kanserin önüne geçebilmek, yaşlanmayı geciktirmek ve inflamatuvar olayları bastırmak için çeşitli kalori kısıtlaması yöntemleri uygulamıştır. En çok kronik kalori kısıtlaması (KKK) protokolleri karşımıza çıkmaktadır. Her ne kadar aralıklı kalori kısıtlaması (AKK) çalışmaları daha az çalışılan ve uzun periyotlarda uygulandığında etkileri konusunda daha az bilgi sahibi olunan bir protokol olsa da bu yöntemde çalışmalarda karşımıza çıkmaktadır<sup>181-183</sup>. Bu şekilde kalori kısıtlamaları uygulandığında tümör görülme riskinin (kansere tipine göre değişmekle beraber) %95'lere kadar azaltıldığı bildirilen çalışmalar mevcuttur<sup>184</sup>.



### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Deney Hayvanları

Mevcut çalışma Yeditepe Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Merkezi (YÜDETAM) tarafından temin edilen ve konvansiyonel üretime tabi tutularak üretilen 115 adet dişi fare üzerinde ve Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan alınan onay ile aynı fakültenin araştırma merkezi imkanları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fareler, MMTV-TGF- $\alpha$  (Mouse Mammary Tumor Virus Transforming Growth Factor-Alpha-C57BL/6) modeli transgenik farelerdir ve menopoz sonrası meme tümörü geliştirebilmeleri için genetik modifikasyonlara sahip hayvanlardır<sup>185,186</sup>. Çalışmada kullanılan deney hayvanları ortalama olarak 25-35 gram ağırlığındadır. Fareler 10 haftalık yaşa geldiğinde rastgele seçilerek ve her deney grubunda eşit sayıda hayvan olmasına dikkat edilerek toplam üç deney grubuna ayrılmıştır. Bütün hayvanlara, ısı ve ışık miktarları kontrol edilebilen odalarda 12 saat karanlık 12 saat aydınlık periyotları olacak şekilde, günlük olarak su ile yemleri gereken miktarlarda sağlanarak bakılmıştır.

#### 3.1.2. Deney Grupları

Üretim grubuna dahil olan hayvanlardan yaklaşık olarak 3 mm kulak kıkırdağı dokusu, kulak pensi ile alınarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) yöntemi ile TGF- $\alpha$  pozitif gen taşıyıp taşımadıkları kontrol edildi. Pozitif olarak tespit edilen erkek hayvanlar ile negatif olarak tespit edilen dişiler, çiftleşme çağına (2-3 aylık) geldiklerinde çiftleştirilerek yavrular elde edildi. Yavrular ortalama 6-8 haftalık olduklarında tekrar PZR yöntemi ile pozitiflik ve negatiflik durumları kontrol edilerek, pozitif ve sağlıklı olan dişiler, bir kafeste 3-4 hayvan olacak şekilde ayrıldılar ve 10 haftalık yaşa gelene kadar ad-libitum olarak beslendiler. 10 haftalık yaşa geldiklerinde ise çalışma gruplarına dahil edildiler.

Çalışma grupları şu şekilde oluşturuldu:

**1-Kontrol Grubu (AL) (n=22):** Bu gruptaki hayvanlar 17. veya 50. haftaya kadar ad-libitum şekilde beslenmişlerdir. Hayvanların vücut ağırlıkları ve tükettikleri yem miktarları çalışmaya dahil oldukları 10. haftadan itibaren, haftalık olarak hesaplanarak kayıt altına alınmıştır.

**2-Aralıklı Kalori Kısıtlaması Uygulanan Grup (AKK) (n=60):** Bu gruptaki hayvanlar 17 haftalık ve 50 haftalık yaşa gelene kadar, AL gurubunun haftalık tükettiği yem miktarları dikkate alınarak 3 hafta ad-libitum ve 1 hafta da AL gurubun tükettiği yem miktarlarının %60'ı kısıtlanarak beslendiler. Kısıtlama haftası esnasında hayvanlardaki

kannibalizm davranışlarının önüne geçmek için tek tek ayrı kafeslerde ve günlük olarak beslendiler.

Hayvanların vücut ağırlıkları ve tükettikleri yem miktarları çalışmaya dahil oldukları 10. haftadan itibaren, haftalık olarak hesaplanarak kayıt altına alındı.

**3-Kronik Kalori Kısıtlaması Uygulanan Grup (KKK) (n=25):** Bu gruptaki hayvanlar 17 ve 50 haftalık yaşa gelene kadar, AL gurubunun haftalık tükettiği yem miktarları dikkate alınarak süreğen bir şekilde yem miktarları %15 oranında kısıtlandı. Hayvanların bu kısıtlama sürecinde kannibalizm davranışlarının önüne geçmek için, ayrı ayrı kafeslerde ve günlük olarak beslendiler. Hayvanların vücut ağırlıkları ve tükettikleri yem miktarları çalışmaya dahil oldukları 10. haftadan itibaren, haftalık olarak hesaplanarak kayıt altına alındı.

### **3.2. Kan ve Serum Eldesi**

Hayvanlardan çalışmaya dahil oldukları 10 haftalık yaşta ve dahil oldukları guruba göre değişmekle beraber, dekapite edildikleri yaşlar olan 10, 17 ve 50 haftalık yaşta, anestezi altında, retro-orbital kan alma yöntemi kullanılarak, EDTA'lı kapiler tüpler ile 1,5 mL'lik tüplere ortalama 250-300 µL olacak şekilde kan toplandı. Dekapite edildiklerinde ise tüm kanları toplandı. Kan toplama işlemleri süresince aynı hayvanların farklı yaşlarda kan örnekleri elde edilmeye çalışıldı ancak bu mümkün olmadığında, kan örnekleri aynı besleme gurubuna dahil olan ve aynı yaşta olan farklı hayvanlardan alındı.

Taze toplanan kanlar 45 dakika oda sıcaklığında dinlendirildikten sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek kan serumları elde edildi. Elde edilen serum örnekleri ortalama 50'şer µL olacak şekilde tüplere ayrıldıktan sonra analiz edilecekleri güne kadar -80 santigrat derecede muhafaza edildi<sup>187</sup>.

### **3.3. Serum Analizleri**

Elde edilen serum örneklerinden, IL-1α, IL-6, IL-10, IL-13, MCP-1 seviyelerini ölçmek için MILLIPLEX kiti (Mouse Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel, Cat: MCYTOMAG-70K) kullanıldı. Ölçüm için daha önceden ayrılan serum örneklerden aşağıdaki protokole göre ölçümler yapıldı<sup>188-190</sup>.

#### **3.3.1. Kit Solüsyonlarının Hazırlanması**

##### **Antibody-Immobilized Beads Hazırlanması**

- Her bir antibody-beads şişesi kullanılmadan önce 30 saniye kadar sonikatör bir cihazda soniklenir ve 1 dakika süresince vortekslenir.

- Her bir antibody-beads şişesinden 60 mikro litre örnek kit ile birlikte gelen karıştırma şişesine aktarılır ve son hacmi 3 mL olacak şekilde Assay Buffer solüsyonu ile tamamlanır.
- Hazırlanan bu karışımda iyi bir şekilde vortekslenir.

#### **Kontrol Solüsyonlarının Hazırlanması**

- Kontrol 1 ve kontrol 2 solüsyonlarının üzerine 250 mikro litre de-iyonize su eklenir ve vortekslenir.

#### **Yıkama Tamponunun Hazırlanması**

- Kitin içinden çıkan 10X'lik yıkama tamponu iyice çalkalanır.
- 60 ml 10X yıkama tamponu 540 mL de-iyonize su ile seyreltilir.

#### **Serum Matriks Hazırlanması**

- Liyofilize serum matrikslerinin bulunduğu şişeye 2 mL Assay Buffer solüsyonu eklenir ve iyice karıştırılır. Karışımın hazır hale gelmesi için 10 dakika oda sıcaklığında beklenir.

#### **Fare Sitokin Standardının Hazırlanması**

- Fare sitokin standardı (Standart 6) 250 mikro litre de-iyonize su ile karıştırılır ve 10 saniye vortekslenir.

#### **Çalışma Standartlarının Hazırlanması**

- 5 adet polipropilen mikrofij tüpleri üzerlerine standart 1'den başlayarak 5'e kadar numaralandırılır.
- Her tüpe 200 mikro litre Assay Buffer solüsyonu eklenir.
- 5. standardın üzerine 50 mikro litre standart 6 eklenir ve iyice karıştırılır.
- Son tüpe yani standart 1'e kadar bir önceki oluşan standart karışımından 50'şer mikro litre çekilerek ve sıradaki tüpe eklenerek dilüe edilir ve sıralı dilüsyon standartları oluşturulur.

#### **3.3.2. İmmunoassay Prosedürü**

- 200 mikro litre yıkama solüsyonu kitle gelen plate'in her kuyucuğuna koyulur.
- Bu plate çalkalayıcıda (shaker) 10 dakika oda sıcaklığında karıştırılır ve karıştırma sonunda platelerin içindeki yıkama solüsyonu dökülür.
- Kuyucuklara daha önceden hazırlanan standartlardan 25'er mikro litre alınarak, standartlar ve kontrol solüsyonları eklenir. (Background standardı için sadece Assay Buffer solüsyonu kullanılır. Bu dizilim şeması kitle gelen kitapçıkta ve kullanılacak bilgisayar yazılımında mevcuttur.)

- 25 mikro litre Assay Buffer solüsyonu örnek kuyucuklarına eklenir.
- Background, standart ve kontrol kuyucuklarına 25 mikro litre serum matrix solüsyonu eklenir.
- Örneklerden (serum örneklerinden) kendilerine uygun kuyucuklara 25'er mikro litre alınarak eklenir.
- Daha önceden hazırlanmış olan karıştırma şişesindeki antibody-immobilized beads karışımı vortekslenip 25'er mikro litre beads her kuyucuğa eklenir.
- Hazırlanan platein üzeri ışık geçirmeyen malzeme ile (plate sealer) kaplanır. Platelere sonraki gün devam edilmek üzere 2-8 C'de (optimum + 4C<sup>0</sup>) bir gece inkübasyona bırakılır.
- İnkübasyondan sonra koruyucu film (plate sealer) açılır ve platerler manyetik tablaya (kitle gelmeyen ancak EMD Milipore kataloğunda yer alan #40-094, #40-095;96;97 numarası ile satılan) yerleştirilir ve manyetizma için 1 dakika beklenir.
- Sonra yıkama yapmak için manyetik tabla plateden ayrılır ve her kuyucuğa 200 mikro litre yıkama solüsyonu eklenir.
- Yıkama solüsyonunu ekledikten sonra el yardımı ile 30 saniye boyunca nazikçe çalkalanır.
- Çalkama sonrasında plate manyetik tablaya yerleştirilerek yine 1 dakika beklenir ve manyetik tabla eşliğinde kuyucuklar dökülerek boşaltılır. Bu aşama 2 kez tekrar edilir.
- 2. yıkama sonunda kuyucuklar boşaltıldıktan sonra plate manyetik tabla eşliğinde sertçe masaya vurularak içeriğinin iyice boşalması sağlanır.
- Daha sonra 25'er mikro litre deteksiyon antikorları her kuyucuğada iki platede konulur.
- Üzerleri ışık geçirmeyen film ile kapatılır ve 1 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakılır.
- Bir saat inkübasyon sonrasında filmler açılır ve her kuyucuğa 25'er mikro litre streptavidin-phycoerythrin (kitle beraber gelen) eklenir.
- Platerlerin üzerleri tekrar ışık geçirmeyen film ile kapatılır ve oda sıcaklığında çalkalayıcı (shaker) eşliğinde 30 dakika inkübasyon bırakılır.
- Bu inkübasyon sonrasında filmler açılarak platerler daha önce de tarif edildiği gibi 2 kez manyetik tabla eşliğinde yıkanır.



- Daha sonra her kuyucuğa 150 mikro litre Drive Fluid (kitle beraber gelen) eklenir ve üzeri ışık geçirmeyen filmle kapatılarak çalkalayıcıya yerleştirilip 5 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırılır.
- Bu esnada plate okuyucu makine kendi özel yazılımı ile hazırlanır ve plate okumaya hazır hale getirilir. (Luminex 200.)
- Cihaz yazılımı kitle beraber gelen kılavuz eşliğinde, örneklere uygun, bakılacak parametrelere uygun veriler girilerek hazırlığı tamamlanır.

Yukarda açıklanan protokole göre hazırlanan örnekler 2 ayrı plate'e yerleştirilmiş ve her plate içinde her çalışma gurubundan örnekler bulunacak şekilde dizilmiştir. Hazır hale gelmiş olan plateler cihaz sürücüsüne yerleştirilir ve verilerin okunması sağlanır. Okuma işleminin tamamlanmasının ardından cihaz yazılımından elde edilen sayısal değerler (Obs Conc) sonraki hesaplamalar için kullanılır.

#### 4. İSTATİSTİK

İstatistik analizi GraphPad Prism istatistik ve grafik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar değerlendirilirken elde edilen datanın normal dağılım düzeylerini test etmek için Shapiro-Wilk Testi kullanıldı ve  $p < 0.05$  seviyesi için anlamlı olacak olan dataların normal dağılmadığı anlaşıldı ve gruplar arası analiz için Kruskal-Wallis Testi uygulandı ve  $p < 0.05$  seviyesi istatistiki olarak önemli kabul edildi.



## 5. BULGULAR

Elde edilen dotalar değerdendirilirken sitokin seviyelerinin değışimini iki yönlü olarak incelendi. Bunlardan biri; aynı yaş gurubunda uygulanan farklı diyetlerin sitokin seviyelerini nasıl değıştirdiğini anlamaktı. Diğeri ise, hayvanlara uygulanan farklı diyetlerin, yaşlanma ile beraber sitokin seviyeleri üzerindeki etkisinin zaman içerisinde ki değışimini anlamaktı.

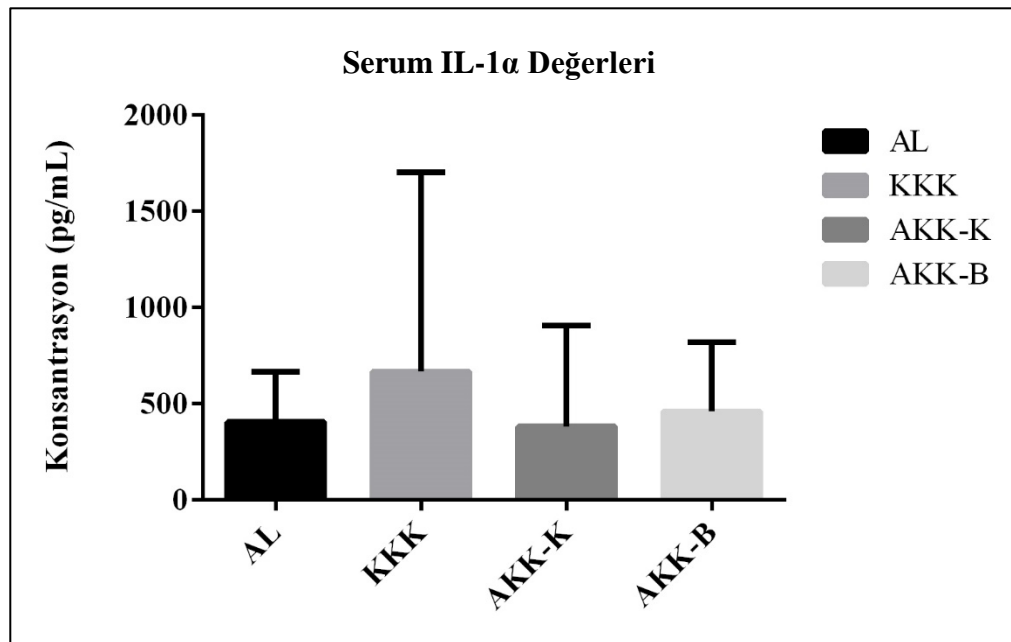
### 5.1. Farklı Şekilde Uygulanan Kalori Kısıtlamasının Serum Sitokin Seviyeleri Üzerine Etkisi

Buradaki değerdendirme, hayvanlar 17 haftalık yaşa geldiğinde ve 50 haftalık yaşa geldiğinde farklı kalori kısıtlaması uygulamalarının etkisini göstermektedir. Değerdendirme yapılırken aynı grupta yer alan hayvanlardan alınan kanlarından elde edilen serum örnekleri kullanılmıştır. İlk olarak değerdendirme 17 haftalık yaşta iken yapılmıştır. Sonraki değerdendirme 50 haftalık yaşta iken yapılmıştır.

#### 5.1.1. Farklı Şekilde Uygulanan Kalori Kısıtlamasının 17. Haftada Serum Sitokin Seviyeleri Üzerine Etkisi.

##### Serum İnterlökin-1 Alfa (IL-1 $\alpha$ ) Seviyeleri Üzerine Etkisi.

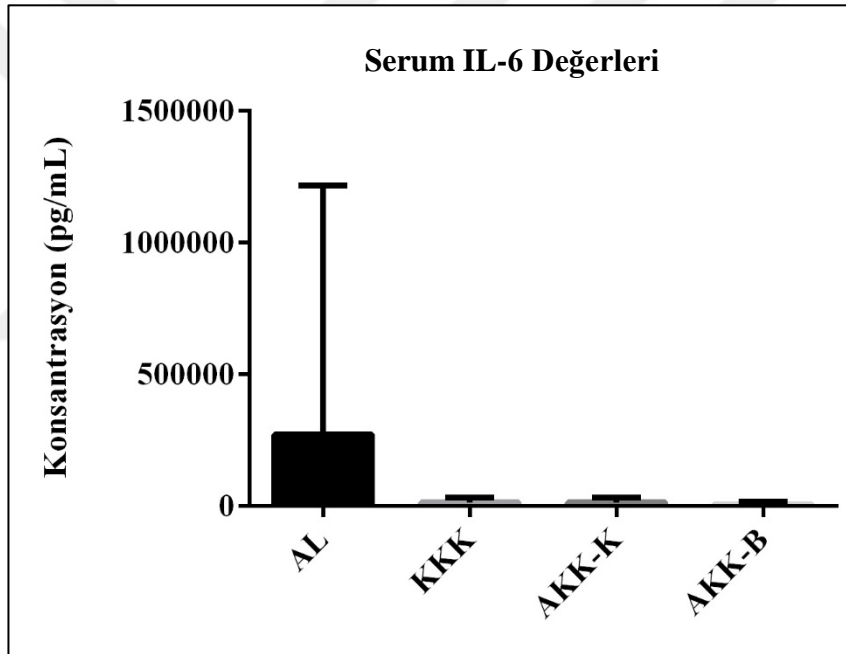
**Tablo 4:** 17 haftalık yaşta olan hayvanların, serum IL-1 $\alpha$  sitokininin, hayvanlara uygulanan farklı kalori kısıtlamaları etkisinde değışimi. (AL n=15, KKK n=15, AKK-K n=18, AKK-B n=17; p>0,05)



Gruplar arası değerler incelendiğinde en yüksek serum IL-1 $\alpha$  seviyesine sahip gurubun KKK gurubu (KKK: 666,8 pg/ml) olduğu görülmektedir. AL gurubu ile kıyaslandığında (AL: 405,5 pg/ml), AKK-K gurubunun serum IL-1 $\alpha$  seviyelerinde (AKK-K: 382,5 pg/ml) bir azalma, AKK-B gurubunun serum IL-1 $\alpha$  seviyelerinde (AKK-B: 460,3 pg/ml) ise bir artma görülmesine rağmen istatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 4,  $p>0,05$ ).

### Serum İnterlökin-6 (IL-6) Seviyeleri zerine Etkisi

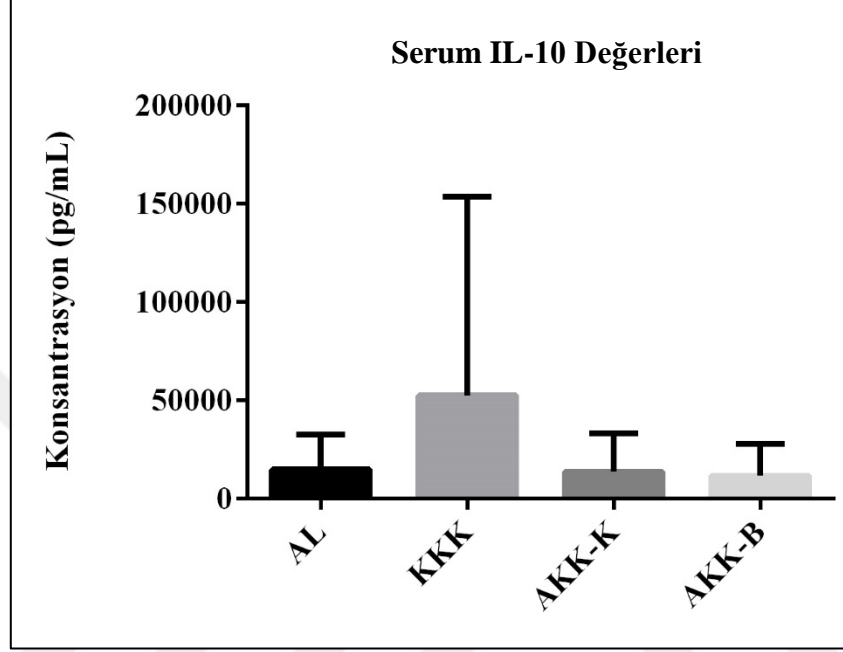
**Tablo 5:** 17 haftalık yaşta olan hayvanların, serum IL-6 sitokininin, hayvanlara uygulanan farklı kalori kısıtlamaları etkisinde değişimi. (AL n=13, KKK n=13, AKK-K n=16, AKK-B n=14;  $p>0,05$ )



Gruplar arası değerler incelendiğinde en yüksek serum IL-6 seviyesine sahip gurubun AL olduğu (271968 pg/ml) görülmüştür. AL gurubu ile kıyaslandığında, diğer grupların (KKK: 14640 pg/ml, AKK-K: 14837 pg/ml) ise birbirlerine yakın sayılabilecek seviyelerde ve AL gurubunun serum IL-6 seviyelerinin altında değerlere sahip oldukları belirlenmiştir. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 5,  $p>0,05$ ).

## Serum İnterlökin-10 (IL-10) Seviyeleri Üzerine Etkisi

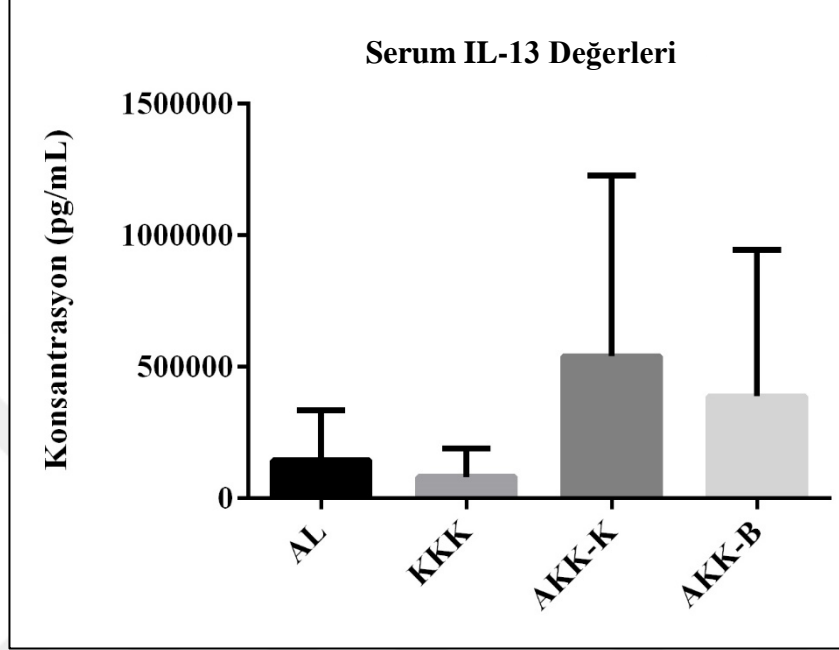
**Tablo 6:** 17 haftalık yaşta olan hayvanların, serum IL-10 sitokininin, hayvanlara uygulanan farklı kalori kısıtlamaları etkisinde değişimi. (AL n=9, KKK n=12, AKK-K n=14, AKK-B n=10; p>0,05)



Gruplar arası değerler incelendiğinde en yüksek serum IL-10 seviyesine sahip gurubun KKK gurubu (KKK: 52561 pg/ml) olduğu görülmüştür. AL gurubu ile kıyaslandığında (AL: 14968 pg/ml) AKK gruplarının serum IL-10 seviyelerinin (AKK-K: 13739 pg/ml, AKK-B: 11680 pg/ml) ortalama AL gurubunun serum sitokin seviyelerinde olduğu görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 6, p>0,05).

## Serum İnterlökin-13 (IL-13) Seviyeleri Üzerine Etkisi

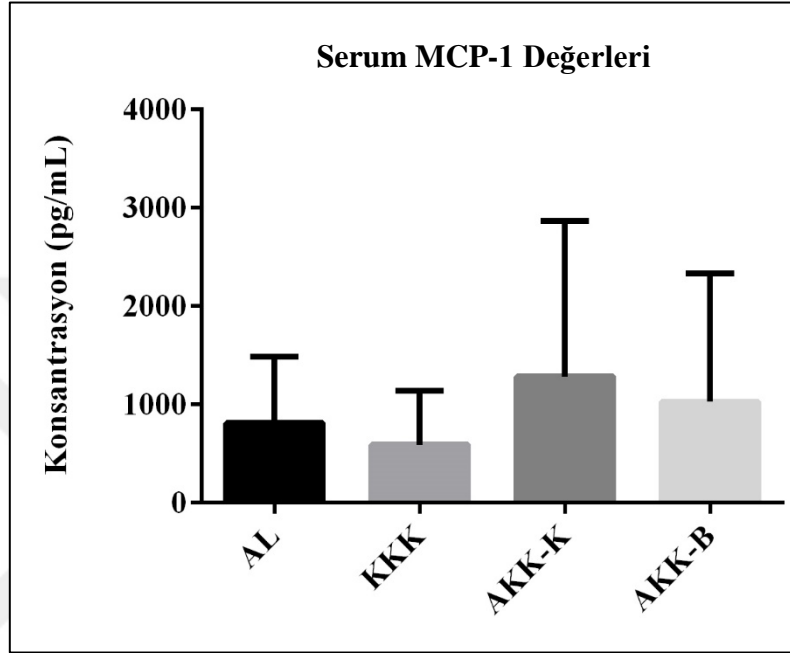
**Tablo 7:** 17 haftalık yaşta olan hayvanların, serum IL-13 sitokininin, hayvanlara uygulanan farklı kalori kısıtlamaları etkisinde değişimi. (AL n=5, KKK n=8, AKK-K n=11, AKK-B n=7; p>0,05)



Gruplar arası değerler incelendiğinde en yüksek serum IL-13 seviyesine sahip grubun AKK-K (AKK-K: 540984 pg/ml) grubu olduğu tespit edilmiştir. AL grubu ile kıyaslandığında (AL: 144850 pg/ml) KKK grubunun serum IL-13 seviyelerinde (KKK: 81940 pg/ml) azalma, AKK-B grubunun serum sitokin seviyelerinde (AKK-B: 388591 pg/ml) ise artma olduğu görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenmemiştir (Tablo 7, p>0,05).

## Serum Monosit Kemoatraktan Protein-1 (MCP-1) Seviyeleri Üzerine Etkisi

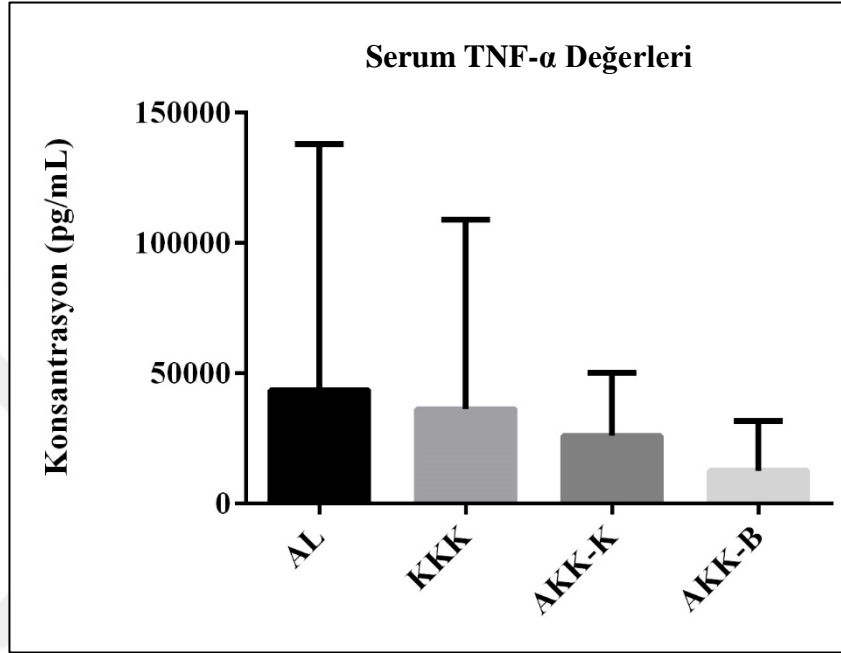
**Tablo 8:** 17 haftalık yaşta olan hayvanların, serum MCP-1 sitokininin, hayvanlara uygulanan farklı kalori kısıtlamaları etkisinde değişimi. (AL n=9, KKK n=11, AKK-K n=13, AKK-B n=12; p>0,05)



Gruplar arası değerler incelendiğinde en yüksek serum MCP-1 seviyesine sahip grubun AKK-K (AKK-K: 1284 pg/ml) grubu olduğu görülmüştür. AL grubu ile kıyaslandığında (AL: 811 pg/ml) KKK grubunun serum MCP-1 seviyelerinde azalma (KKK: 590,1 pg/ml), AKK-B grubunun serum MCP-1 değerlerinde ise (AKK-B: 1027 pg/ml) artma olduğu görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 8, p>0,05).

## Serum Tumor Nekrozis Faktör Alfa (TNF- $\alpha$ ) Seviyeleri Üzerine Etkisi

**Tablo 9:** 17 haftalık yaşta olan hayvanların, serum TNF- $\alpha$  sitokininin, hayvanlara uygulanan farklı kalori kısıtlamaları etkisinde değişimi. (AL n=6, KKK n=10, AKK-K n=7, AKK-B n=9; p>0,05)



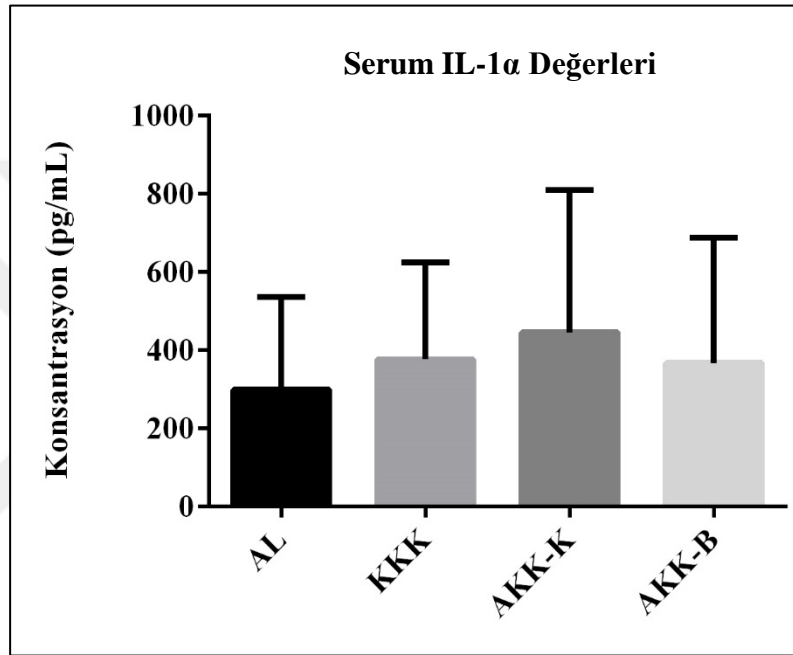
Gruplar arası değerler incelendiğinde en yüksek serum TNF- $\alpha$  seviyesine sahip grubun AL grubu (AL: 43597 pg/ml) olduğu belirlenmiştir. AL grubu ile kıyaslandığında diğer gruplarda (KKK: 36350 pg/ml, AKK-K: 26121 pg/ml, AKK-B: 12734 pg/ml) serum sitokin seviyelerinde periyodik bir azalma görülse de istatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 9, p>0,05).



### 5.1.2. Farklı Şekilde Uygulanan Kalori Kısıtlamasının 50. Haftada Serum Sitokin Seviyeleri Üzerine Etkisi.

#### Serum İnterlökin-1 Alfa (IL-1 $\alpha$ ) Seviyeleri Üzerine Etkisi.

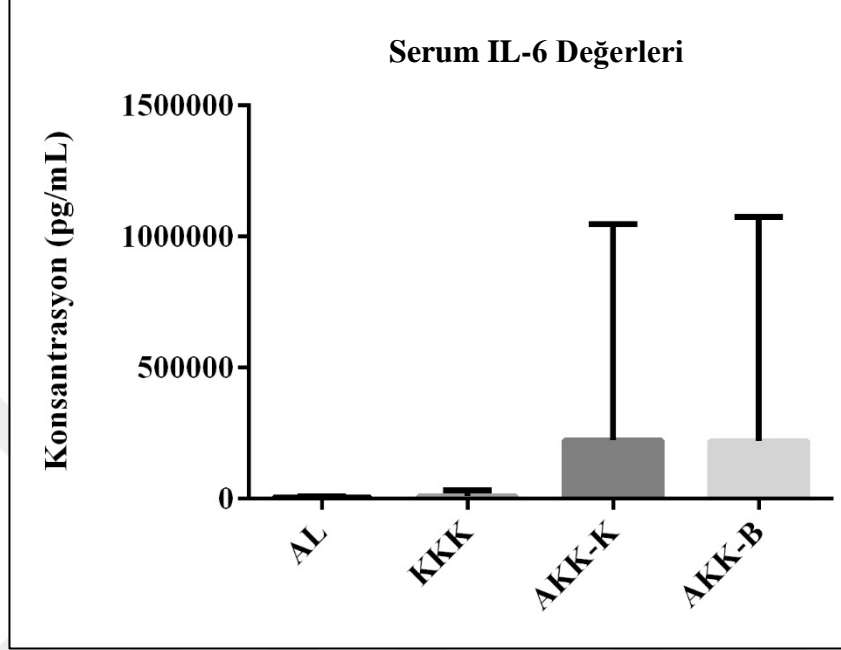
**Tablo 10:** 50 haftalık yaşta olan hayvanların, serum IL-1 $\alpha$  sitokininin, hayvanlara uygulanan farklı kalori kısıtlamaları etkisinde değişimi. (AL n=14, KKK n=16, AKK-K n=18, AKK-B n=17; p>0,05)



Gruplar arası değerler incelendiğinde en yüksek serum IL-1 $\alpha$  seviyesine sahip gurubun AKK-K gurubu (AKK-K: 446,1 pg/ml) olduğu belirlenmiştir. AL gurubu ile kıyaslandığında (AL: 299,7 pg/ml) KKK gurubunun ve AKK gruplarının serum IL-1 $\alpha$  seviyelerinde (KKK: 376,8 pg/ml, AKK-K: 446,1 pg/ml, AKK-B: 376,9 pg/ml) artma olduğu görülse de istatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 10, p>0,05).

## Serum İnterlökin-6 (IL-6) Seviyeleri Üzerine Etkisi

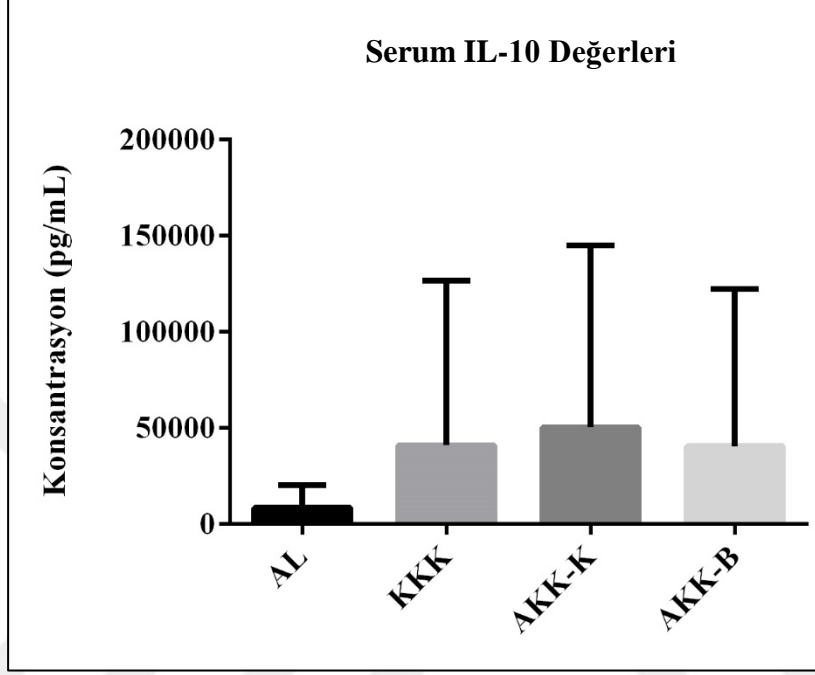
**Tablo 11:** 50 haftalık yaşta olan hayvanların, serum IL-6 sitokininin, hayvanlara uygulanan farklı kalori kısıtlamaları etkisinde değişimi. (AL n=14, KKK n=15, AKK-K n=17, AKK-B n=16; p>0,05)



Gruplar arası değerler incelendiğinde en yüksek serum IL-6 seviyesine sahip gurubun AKK grupları (AKK-K: 223734 pg/ml, AKK-B: 220420 pg/ml) oldukları ve ortalama birbirleri ile aynı değerlere sahip oldukları görülmektedir. AL gurubu ile kıyaslandığında (AL: 4477 pg/ml), KKK gurubunun serum sitokin seviyelerinin (KKK: 10602 pg/ml) iki kattan fazla arttığı görülse de istatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 11, p>0,05).

## Serum İnterlökin -10 (IL-10) Seviyeleri Üzerine Etkisi

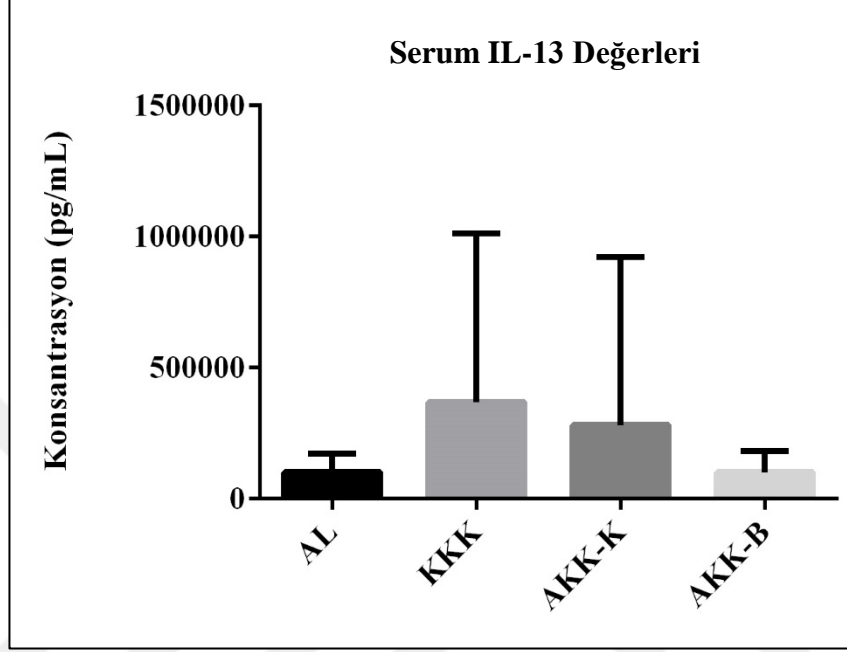
**Tablo 12:** 50 haftalık yaşta olan hayvanların, serum IL-10 sitokininin, hayvanlara uygulanan farklı kalori kısıtlamaları etkisinde değişimi. (AL n=8, KKK n=9, AKK-K n=14, AKK-B n=10; p>0,05)



Gruplar arası değerler incelendiğinde en yüksek serum IL-10 seviyesine sahip grubun AKK-K grubu (AKK-K: 50380 pg/ml) olduğu belirlenmiştir. AL grubu ile kıyaslandığında (AL: 8655 pg/ml) KKK ve AKK-B gruplarının serum sitokin seviyeleri (KKK: 41035 pg/ml, AKK-B: 40535 pg/ml) artmış görülsede istatistik olarak bir önem belirlenmemiştir (Tablo 12, p>0,05).

## Serum İnterlökin -13 (IL-13) Seviyeleri Üzerine Etkisi

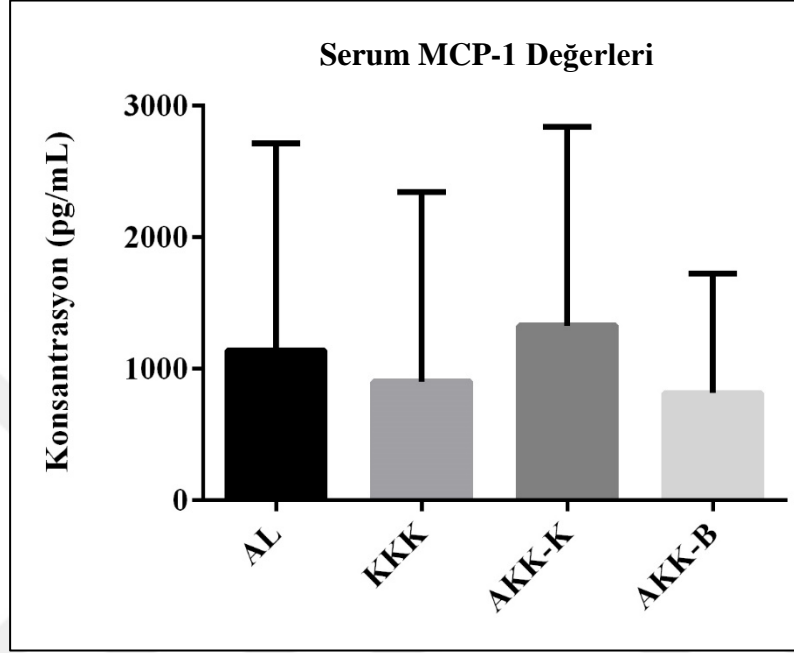
**Tablo 13:** 50 haftalık yaşta olan hayvanların, serum IL-13 sitokininin, hayvanlara uygulanan farklı kalori kısıtlamaları etkisinde değişimi. (AL n=9, KKK n=10, AKK-K n=6, AKK-B n=7; p>0,05)



Gruplar arası değerler incelendiğinde en yüksek serum IL-13 seviyesine sahip gurubun KKK gurubu (KKK: 369000 pg/ml) olduğu görülmüştür. AL gurubu ile kıyaslandığında (AL: 102391 pg/ml), AKK-K gurubunun serum sitokin seviyesinin arttığı (AKK-K: 281327 pg/ml), AKK-B gurubunun serum sitokin seviyesinin (AKK-B: 101434 pg/ml) ise AL gurubunun serum sitokin seviyesi ile ortalama aynı değerlere sahip olduğu görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 13, p>0,05).

## Serum Monosit Kemoatraktan Protein-1 (MCP-1) Seviyeleri Üzerine Etkisi

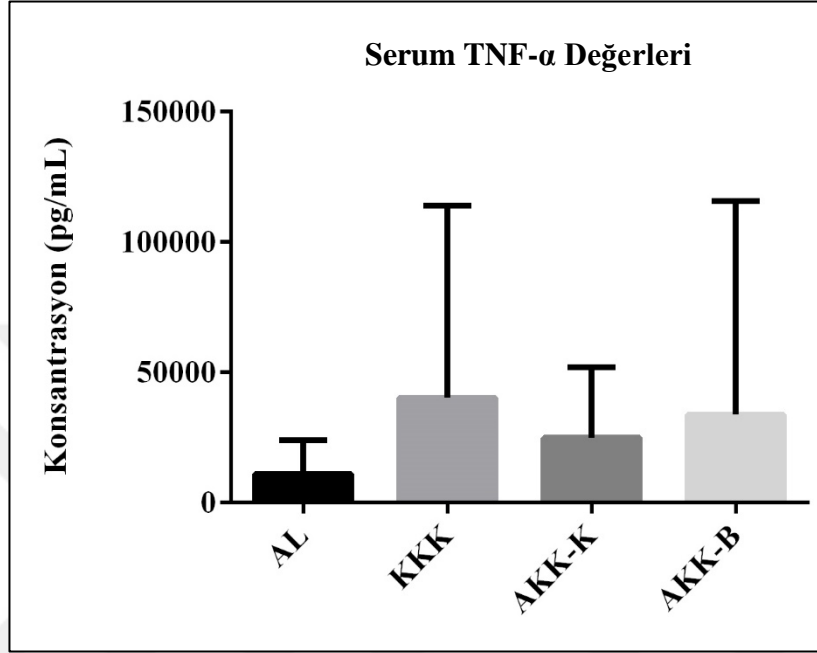
**Tablo 14:** 50 haftalık yaşta olan hayvanların, serum MCP-1 sitokininin, hayvanlara uygulanan farklı kalori kısıtlamaları etkisinde değişimi. (AL n=13, KKK n=9, AKK-K n=15, AKK-B n=11; p>0,05)



Gruplar arası değerler incelendiğinde en yüksek serum MCP-1 seviyesine sahip grubun AKK-K grubu (AKK-K: 1329 pg/ml) olduğu görülmüştür. AL grubu ile kıyaslandığında (AL: 1141 pg/ml), KKK ve AKK-B gruplarının ortalama aynı (KKK: 903,1 pg/ml, AKK-B: 815,3 pg/ml) ve AL grubunun serum sitokin seviyelerinden daha düşük değerlere sahip oldukları görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 14, p>0,05).

## Serum Tumor Nekrozis Faktör Alfa (TNF- $\alpha$ ) Seviyeleri Üzerine Etkisi

**Tablo 15:** 50 haftalık yaşta olan hayvanların, serum TNF- $\alpha$  sitokininin, hayvanlara uygulanan farklı kalori kısıtlamaları etkisinde değişimi. (AL n=8, KKK n=10, AKK-K n=10, AKK-B n=8; p>0,05)



Gruplar arası değerler incelendiğinde en yüksek serum TNF- $\alpha$  seviyesine sahip grubun KKK grubu (KKK: 40285 pg/ml) olduğu görülmüştür. AL grubu ile kıyaslandığında (AL: 11065 pg/ml), AKK-K grubunun serum sitokin seviyelerinin (AKK-K: 24951 pg/ml) AL grubuna göre daha yüksek ve aynı şekilde AKK-B grubunun da serum sitokin seviyelerinin (AKK-B: 33764 pg/ml) AL grubuna göre daha yüksek seviyelerde olduğu görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 15, p>0,05).

## 5.2. Yaşlanma ile Beraber Kalori Kısıtlamasının Sitokin Seviyeleri Üzerine Etkisi

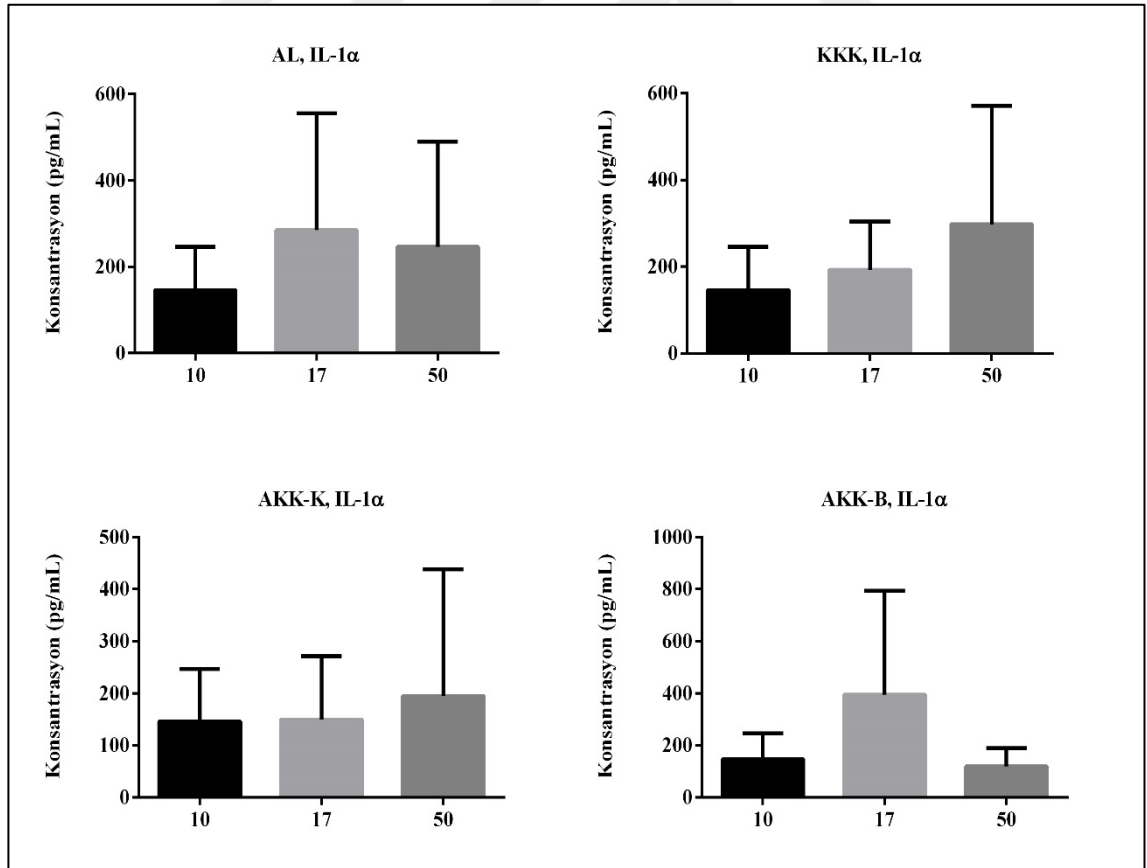
### 5.2.1 Yaşlanma ile Beraber Farklı Kalori Kısıtlaması Uygulamalarının Aynı Hayvanlar Üzerinde Sitokin Seviyelerine Etkisi

Buradaki değerlendirme, aynı hayvanın ilerleyen zamanlarda alınan kan örneklerinden elde edilen serum örneklerinden yapılmıştır. Bu şekilde aynı hayvanlarda farklı diyetlerin etkisinin yaşlanmayla beraber nasıl değiştiği ortaya koyulmaya çalışılmıştır. Değerlendirme sitokin bazında ayrı ayrı olarak yapılmıştır.

#### Serum İnterlökin -1 Alfa'da (IL-1 $\alpha$ ) Meydana Gelen Değişimler

Burada yapılan değerlendirme, daha önce “gereç ve yöntem” kısmında belirtilen şekilde besleme programı uygulanan (AL, KKK, AKK) hayvanlarda IL-1 $\alpha$  bazındaki değişimlerin farklı diyetler etkisinde yaşlanmaya bağlı değişimini anlamaktır.

**Tablo 16:** Farklı kalori kısıtlamalarının etkisinde olan aynı hayvanların yaşlanmaya bağlı olarak 10 haftalık, 17 haftalık, 50 haftalık yaşlarda serum IL-1 $\alpha$  seviyelerinde meydana gelen değişimler. (AL=10 H, n=8; 17 H, n=8; 50 H, n=8; KKK=10 H, n=8; 17 H, n=8; 50 H, n=8; AKK-K=10 H, n=8; 17 H, n=9; 50 H, n=9; AKK-B=10 H, n=8; 17 H, n=9; 50 H, n=8; p>0,05)



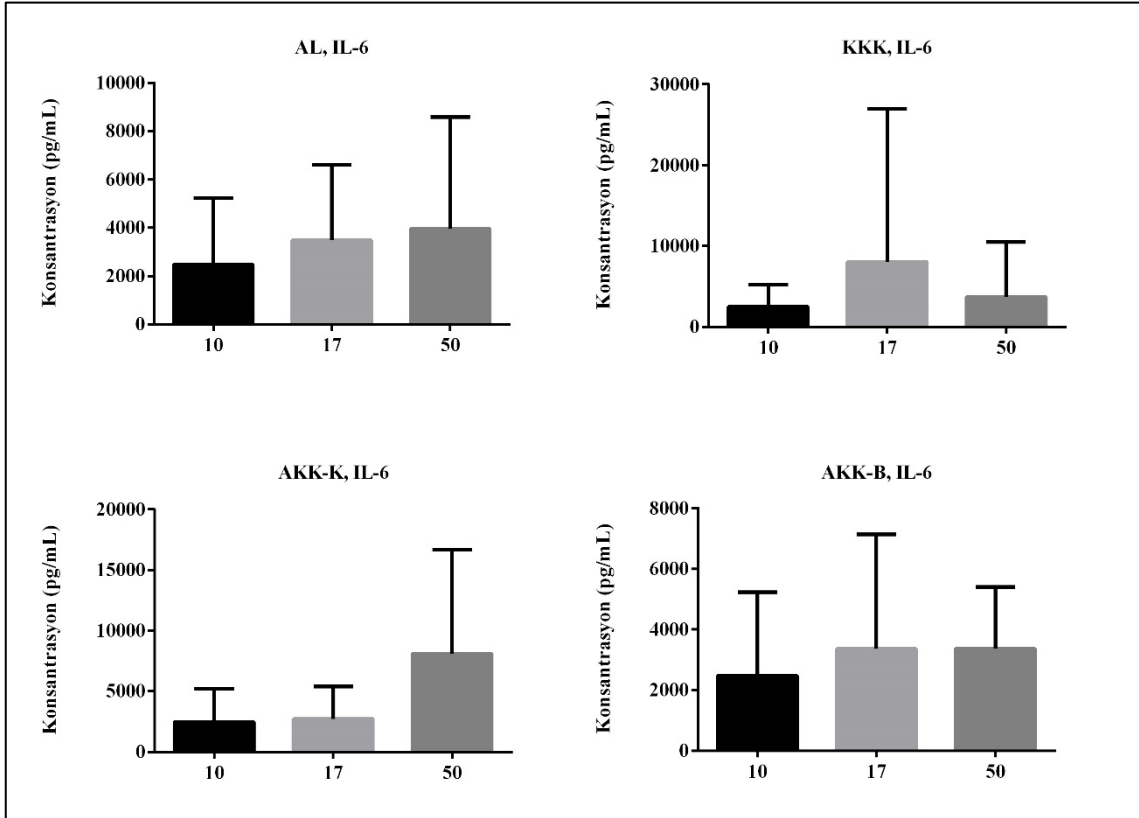
Yukarıdaki grafikler incelendiğinde IL-1 $\alpha$  için sırası ile 10., 17. ve 50. haftalarda serum sitokin seviyeleri AL besleme gurubunda 146,1 pg/ml, 284,9 pg/ml, 246 pg/ml; KKK besleme gurubunda 146,1 pg/ml, 192,6 pg/ml, 298,2 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 146,1 pg/ml, 149,7 pg/ml, 195,3 pg/ml; AKK-B besleme gurubunda 146,1 pg/ml, 394,2 pg/ml, 118,9 pg/ml olarak serum sitokin seviyeleri ölçülmüştür. Hayvanların çalışmaya dahil oldukları 10. haftaya kıyasla yaşlanmanın ilk periyodu olan yani 17. hafta ve yaşlanmanın ikinci periyodu olan 50. haftada serum IL-1 $\alpha$  seviyelerinde artma görülmüştür. 17 haftadan 50. haftaya geçişte 17. Haftaya kıyasla 50. haftada kısmi bir azalma görülse de 50. haftada ki bu azalma 10. haftada ki serum IL-1 $\alpha$  seviyelerinin altına düşmediği görülmüştür. KKK ve AKK-K gruplarında da bu benzer artışı görmekteyiz, ancak bu artışın yaşlanma ilerledikçe periyodik bir artış olduğu görülmektedir. AKK-B gurubunda ise 10. haftaya kıyasla serum IL-1  $\alpha$  seviyelerinde 17. haftada artış, yaşlanmanın ileri periyodunda yani 50. haftada ise azalarak ortalama 10. hafta seviyesine kadar azalma görülmüştür. İstatistik olarak ise bir önem belirlenememiştir (Tablo 16,  $p>0,05$ ).



## Serum İnterlökin-6'da (IL-6) Meydana Gelen Değişimler

Burada yapılan değerlendirme, daha önce “gereç ve yöntem” kısmında belirtilen şekilde besleme programı uygulanan (AL, KKK, AKK) hayvanlarda IL-6 bazındaki değişimlerin farklı diyetler etkisinde yaşlanmaya bağlı değişimini anlamaktır.

**Tablo 17:** Farklı kalori kısıtlamalarının etkisinde olan aynı hayvanların yaşlanmaya bağlı olarak 10 haftalık, 17 haftalık, 50 haftalık yaşlarda serum IL-6 seviyelerinde meydana gelen değişimler. (AL=10 H, n=7; 17 H, n=6; 50 H, n=8; KKK=10 H, n=7; 17 H, n=7; 50 H, n=8; AKK-K=10 H, n=7; 17 H, n=8; 50 H, n=8; AKK-B=10 H, n=7; 17 H, n=7; 50 H, n=9; p>0,05)



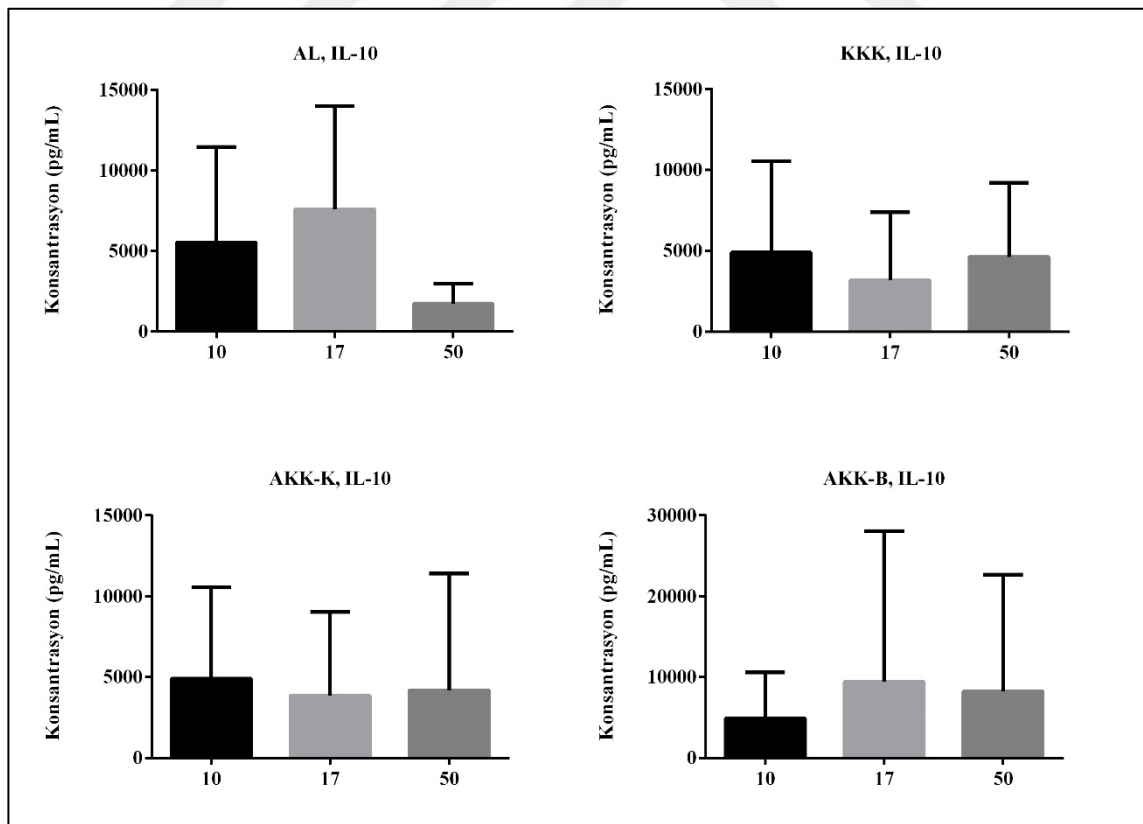
Yukardaki grafikler incelendiğinde IL-6 için sırası ile 10., 17., ve 50. haftalarda serum sitokin seviyeleri AL besleme gurubunda 2476 pg/ml, 3488 pg/ml, 3966 pg/ml; KKK besleme gurubunda 2476 pg/ml, 8061 pg/ml, 3697 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 2476 pg/ml, 2731 pg/ml, 8090 pg/ml; AKK-B besleme gurubunda 2476 pg/ml, 3355 pg/ml, 3373 pg/ml olarak ölçülmüştür. Hayvanların çalışmaya dahil oldukları 10. haftaya kıyasla hayvanlar yaşlandıkça serum IL-6 seviyelerinde artma görülmüştür. KKK gurubunda 10. haftaya göre yaşlanmanın ilk periyotlarında serum IL-6 seviyelerinde artma ancak yaşlanma ilerledikçe 50. haftada ise serum IL-6 seviyelerinde azalma meydana gelerek ortalama 10. hafta düzeylerine kadar düştüğü görülmüştür.

AKK-K gurubunda, yaşlanmanın ilk periyodu olan 17. hafta düzeylerinde serum IL-6 seviyelerinde hayvanların çalışmaya dahil olduğu 10. haftadaki serum IL-6 seviyeleri arasında pek fark görülmemiştir. Ancak yaşlanma ilerledikçe 50. hafta düzeylerinde diğer haftalara kıyasla serum IL-6 seviyelerinde belirgin bir artış görülmüştür. AKK-B gurubunda ise 17. hafta düzeylerinde 10. haftaya kıyasla serum IL-6 seviyelerinde artış meydana gelmiş ancak yaşlanmanın ilerlemesi ile 50. haftada 17. haftaya kıyasla belirgin bir fark görülmemiş ve ortalama aynı seviyede oldukları görülmüştür. İstatistik olarak ise bir önem belirlenememiştir (Tablo 17,  $p>0,05$ ).

### Serum İnterlökin-10'da (IL-10) Meydana Gelen Değişimler

Burada yapılan değerlendirme, daha önce “gereç ve yöntem” kısmında belirtildiği şekilde besleme programı uygulanan (AL, KKK, AKK) hayvanlarda IL-10 bazında ki değişimlerin farklı diyetler etkisinde yaşlanmaya bağlı değişimini anlamaktır.

**Tablo 18:** Farklı kalori kısıtlamalarının etkisinde olan aynı hayvanların yaşlanmaya bağlı olarak 10 haftalık, 17 haftalık, 50 haftalık yaşlarda serum IL-10 seviyelerinde meydana gelen değişimler. (AL=10 H, n=6; 17 H, n=4; 50 H, n=4; KKK=10 H, n=7; 17 H, n=7; 50 H, n=5; AKK-K=10 H, n=7; 17 H, n=8; 50 H, n=6; AKK-B=10 H, n=7; 17 H, n=6; 50 H, n=5;  $p>0,05$ )

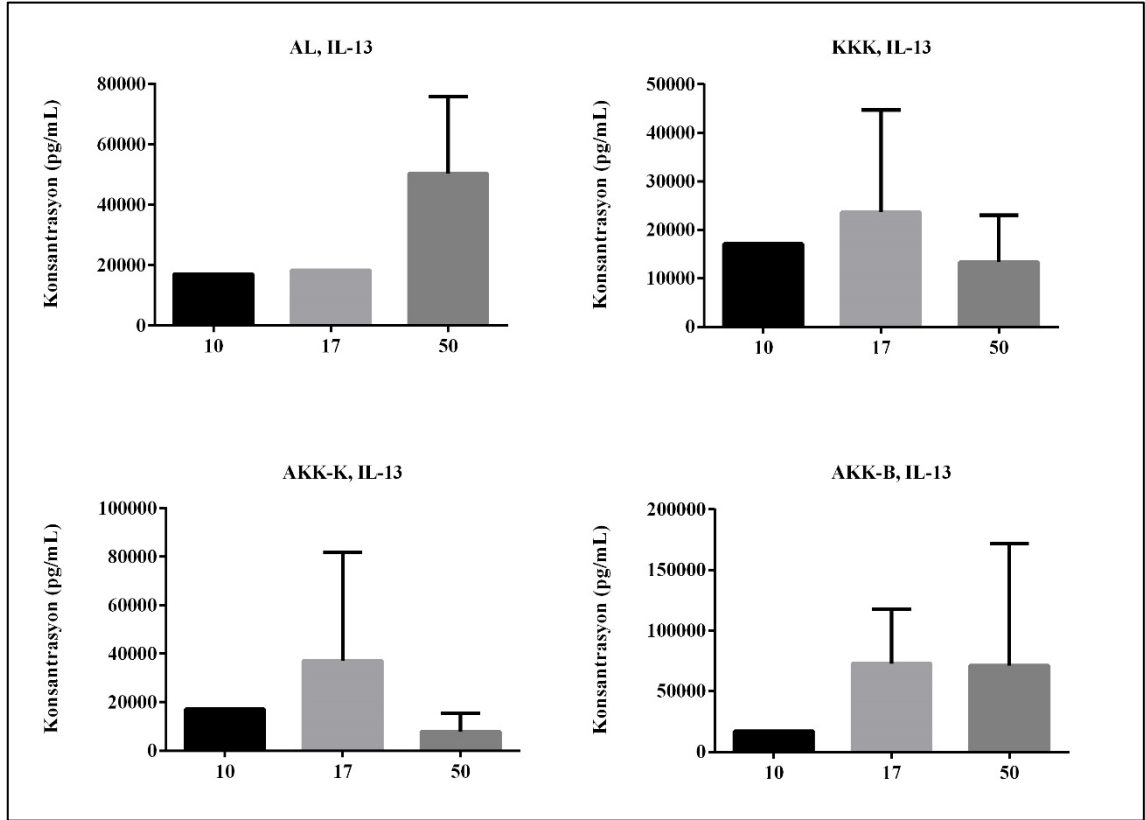


Yukardaki grafikler incelendiğinde IL-10 için sırası ile 10., 17., ve 50. haftalarda serum sitokin seviyeleri AL besleme gurubunda 5545 pg/ml, 7612 pg/ml, 1734 pg/ml; KKK besleme gurubunda 4888 pg/ml, 3180 pg/ml, 4620 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 4888 pg/ml, 3874 pg/ml, 4189 pg/ml; AKK-B besleme gurubunda 4888 pg/ml, 9402 pg/ml, 8234 pg/ml olarak ölçülmüştür. Hayvanların çalışmaya dahil oldukları 10. haftaya kıyasla yaşlanmanın ilk periyodu olan 17. haftada serum IL-10 seviyelerinin arttığı, yaşlanmanın ikinci periyodu olan 50. haftada ise serum IL-10 seviyelerinin azaldığı hatta hayvanların çalışmaya dahil oldukları 10. haftadaki seviyelerinin bile altına düştüğü görülmüştür. KKK gurubunda 17. haftalarda 10. haftaya kıyasla serum IL-10 seviyelerinde bir azalma meydana gelmiş ancak 50. haftada ise artış meydana gelerek yaklaşarak 10. haftadaki serum IL-10 seviyelerine kadar arttığı görülmüştür. AKK-K gurubunda, yaşlanmaya bağlı olarak serum IL-10 seviyelerinde kısmi bir azalma olsa da ortalama 10. haftadaki düzeylerde olduğu görülmüştür. AKK-B gurubunda ise yaşlanmanın ilk periyodu olan 17. haftada 10. haftaya kıyasla bir artış meydana gelmiş, yaşlanmanın ikinci periyodu olan 50. haftada ise serum IL-10 seviyelerinin ortalama 17. haftadaki seviyelerle aynı olduğu görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 18,  $p>0,05$ ).

## Serum İnterlökin-13'te (IL-13) Meydana Gelen Değişimler

Burada yapılan değerlendirme, daha önce “gereç ve yöntem” kısmında belirtilen şekilde besleme programı uygulanan (AL, KKK, AKK) hayvanlarda IL-13 bazında ki değişimlerin farklı diyetler etkisinde yaşlanmaya bağlı değişimini anlamaktır.

**Tablo 19:** Farklı kalori kısıtlamalarının etkisinde olan aynı hayvanların yaşlanmaya bağlı olarak 10 haftalık, 17 haftalık, 50 haftalık yaşlarda serum IL-13 seviyelerinde meydana gelen değişimler. (AL=10 H, n=1; 17 H, n=1; 50 H, n=4; KKK=10 H, n=1; 17 H, n=5; 50 H, n=3; AKK-K=10 H, n=1; 17 H, n=5; 50 H, n=3; AKK-B=10 H, n=1; 17 H, n=2; 50 H, n=3;  $p>0,05$ )



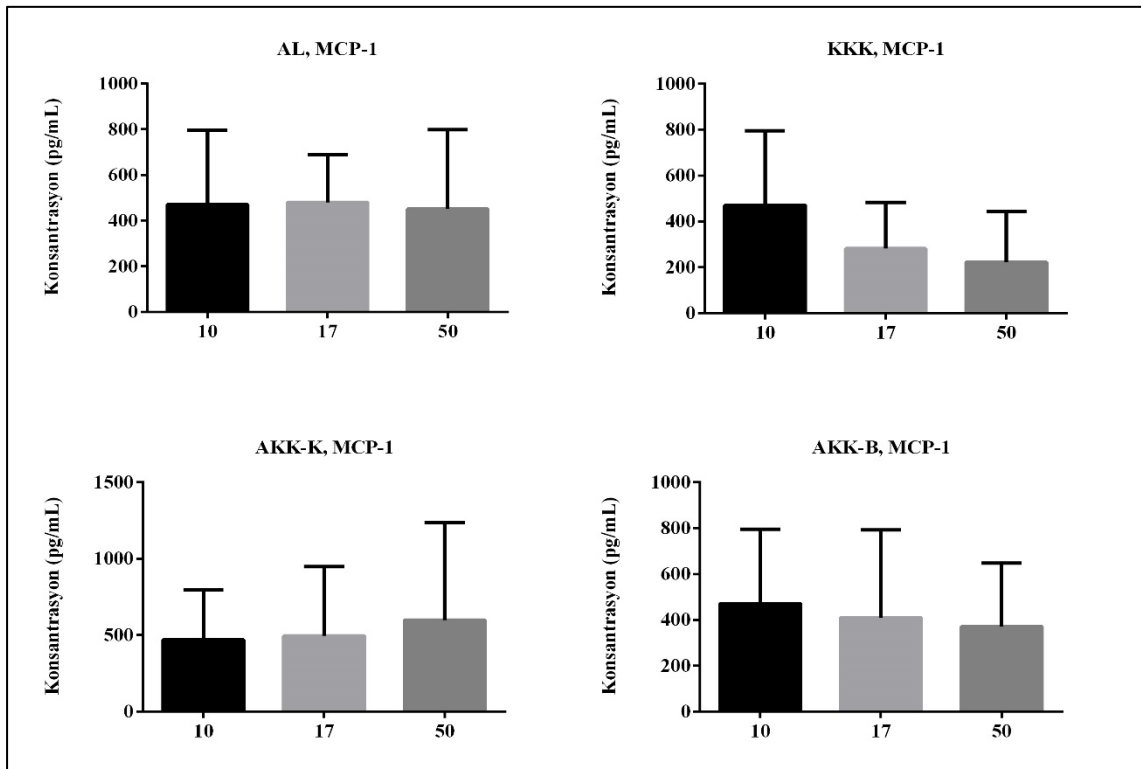
Yukardaki grafikler incelendiğinde IL-13 için sırası ile 10., 17., ve 50. haftalarda serum sitokin seviyeleri AL besleme gurubunda 17094 pg/ml, 18297 pg/ml, 50364 pg/ml; KKK besleme gurubunda 17094 pg/ml, 23607 pg/ml, 13332 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 17094 pg/ml, 37115 pg/ml, 7971 pg/ml; AKK-B besleme gurubunda 17094 pg/ml, 72723 pg/ml, 71180 pg/ml olarak ölçülmüştür. Hayvanların serum IL-13 seviyelerinde yaşlanmanın ilk periyodu olan 17. haftada 10. haftaya kıyasla belirgin bir değişiklik görülme de yaşlanma periyodunun ilerlemesi ile 50. haftada 10. ve 17. haftaya kıyasla serum IL-13 seviyelerinde bir artış meydana geldiği görülmüştür. KKK

gurubunda, serum IL-13 seviyelerinde 17. haftada 10. haftaya kıyasla artış görülmüş, yaşlanma periyodunun ilerlemesi ile 50. haftada 17. haftaya kıyasla bir azalma olduğu ve 10. hafta düzeylerine yaklaştığı görülmüştür. AKK-K gurubunda, yaşlanmanın ilk periyodu olan 17. haftada 10. haftaya kıyasla serum IL-13 seviyelerinde belirgin bir artış olduğu görülmüş ancak yaşlanma periyodunun ilerlemesi ile 50. haftada 17. haftaya ve 10. haftaya göre serum IL-13 seviyelerinde belirgin bir azalma meydana geldiği görülmüştür. AKK-B gurubunda ise yaşlanmanın artması ile serum IL-13 seviyelerinde 10. haftadaki seviyelere kıyasla belirgin artış meydana geldiği görülmüş ancak 17. hafta ve 50. haftalar arası belirgin bir fark olmadığı hayvanların ortalama aynı serum IL-13 seviyelerine sahip oldukları görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 19,  $p>0,05$ ).

### Serum Monosit Kemoatraktan Protein-1'de (MCP-1) Meydana Gelen Değişimler

Burada yapılan değerlendirme, daha önce “gereç ve yöntem” kısmında belirtilen şekilde besleme programı uygulanan (AL, KKK, AKK) hayvanlarda MCP-1 bazında ki değişimlerin farklı diyetler etkisinde yaşlanmaya bağlı değişimini anlamaktır.

**Tablo 20:** Farklı kalori kısıtlamalarının etkisinde olan aynı hayvanların yaşlanmaya bağlı olarak 10 haftalık, 17 haftalık, 50 haftalık yaşlarda serum MCP-1 seviyelerinde meydana gelen değişimler. (AL=10 H, n=8; 17 H, n=5; 50 H, n=7; KKK=10 H, n=8; 17 H, n=7; 50 H, n=5; AKK-K=10 H, n=8; 17 H, n=8; 50 H, n=8; AKK-B=10 H, n=8; 17 H, n=7; 50 H, n=6;  $p>0,05$ )

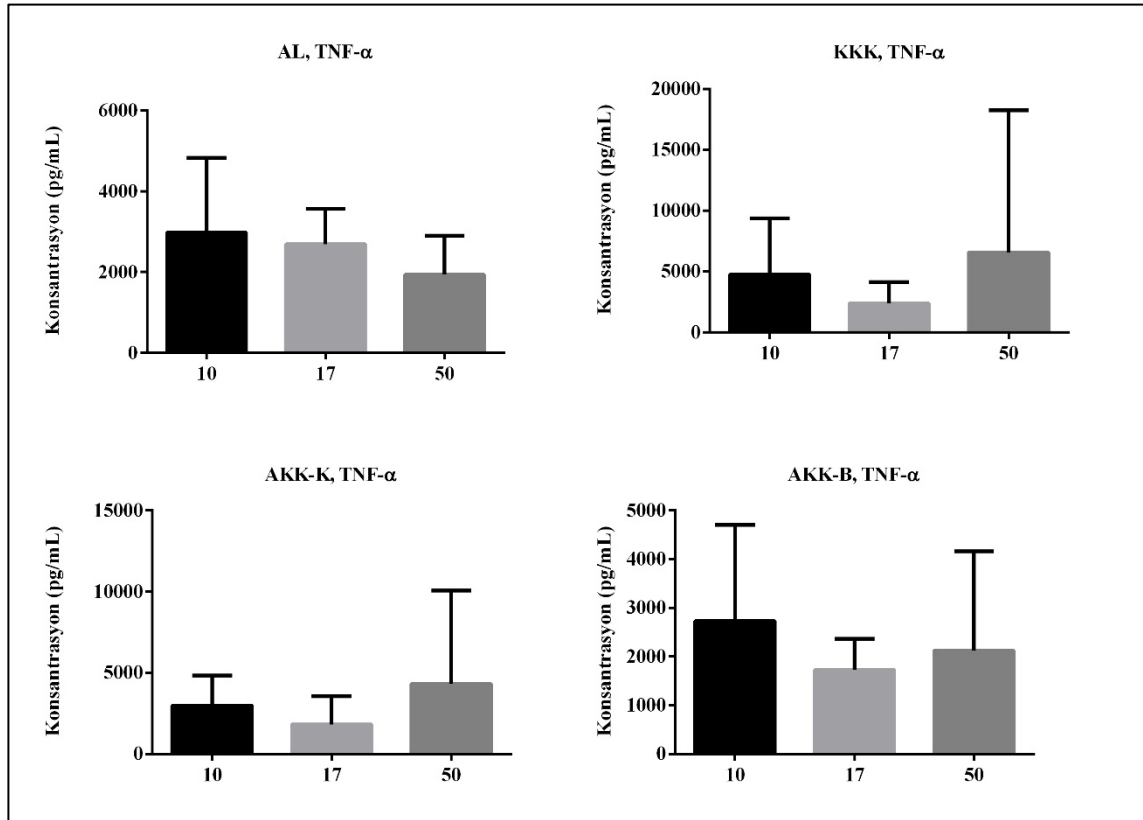


Yukardaki grafikler incelendiğinde MCP-1 için sırası ile 10., 17., ve 50. haftalarda serum sitokin seviyeleri AL besleme gurubunda 471,1 pg/ml, 480,5 pg/ml, 450,3 pg/ml; KKK besleme gurubunda 471,1 pg/ml, 281,7 pg/ml, 222,5 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 471,1 pg/ml, 497,3 pg/ml, 599,5 pg/ml; AKK-B besleme gurubunda 471,1 pg/ml, 410,1 pg/ml, 370,9 pg/ml olarak ölçülmüştür. Hayvanların serum MCP-1 seviyelerinde yaşlanma ile beraber belirgin bir değişiklik görülmemiştir. KKK gurubunda yaşlanma ile beraber 10. haftadaki serum MCP-1 değerlerine kıyasla 17. haftada, 17 haftaya kıyasla 50. haftada serum MCP-1 değerlerinde azalma meydana geldiği görülmüştür. Bu değişikliğin aynısı AKK-B gurubunda da meydana gelirken AKK-K gurubunda ise serum MCP-1 seviyelerinde yaşlanmanın etkisi ile 10. haftadaki serum MCP-1 değerlerine kıyasla 17. haftada, 17. haftadaki serum MCP-1 değerlerine kıyasla 50. haftada artış meydana geldiği görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 20,  $p>0,05$ ).

## Serum Tümör Nekrozis Faktör Alfa'da (TNF- $\alpha$ ) Meydana Gelen Değişimler

Burada yapılan değerlendirme, daha önce “gereç ve yöntem” kısmında belirtilen şekilde besleme programı uygulanan (AL, KKK, AKK) hayvanlarda TNF- $\alpha$  bazında ki değişimlerin farklı diyetler etkisinde yaşlanmaya bağlı değişimini anlamaktır.

**Tablo 21:** Farklı kalori kısıtlamalarının etkisinde olan aynı hayvanların yaşlanmaya bağlı olarak 10 haftalık, 17 haftalık, 50 haftalık yaşlarda serum TNF- $\alpha$  seviyelerinde meydana gelen değişimler. (AL=10 H, n=5; 17 H, n=3; 50 H, n=3; KKK=10 H, n=6; 17 H, n=5; 50 H, n=4; AKK-K=10 H, n=5; 17 H, n=2; 50 H, n=3; AKK-B=10 H, n=3; 17 H, n=3; 50 H, n=2; p>0,05)



Yukardaki grafikler incelendiğinde TNF- $\alpha$  için sırası ile 10., 17., ve 50. haftalarda serum sitokin seviyeleri AL besleme gurubunda 2979 pg/ml, 2691 pg/ml, 1932 pg/ml; KKK besleme gurubunda 4749 pg/ml, 2379 pg/ml, 6571 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 2979 pg/ml, 1818 pg/ml, 4318 pg/ml; AKK-B besleme gurubunda 2725 pg/ml, 1729 pg/ml, 2124 pg/ml olarak ölçülmüştür. Hayvanların serum TNF- $\alpha$  seviyelerinde yaşlanma ile beraber 10. haftadan itibaren kademeli bir şekilde azaldığı görülmüştür. KKK ve AKK-K gruplarında ise yaşlanmanın ilk periyodu olan 17. haftada, 10. haftaya kıyasla serum TNF- $\alpha$  seviyelerinde bir azalma meydana gelmiş ancak yaşlanmanın ikinci periyodu olan 50. hafta düzeylerinde ise serum TNF- $\alpha$  seviyelerinin tekrar arttığı hatta

10. haftada ki değerlerin dahi üzerine çıktığı görülmüştür. AKK-B gurubunda ise KKK ve AKK-K gruplarında olduğu gibi serum TNF- $\alpha$  seviyelerinde 17. haftalarda 10. haftalara kıyasla bir azalma olmuş, 50. haftalarda ise bir artış görülmüş ancak 10. haftadaki seviyelerin üzerine çıkmadığı grlmştir. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 21,  $p>0,05$ ).





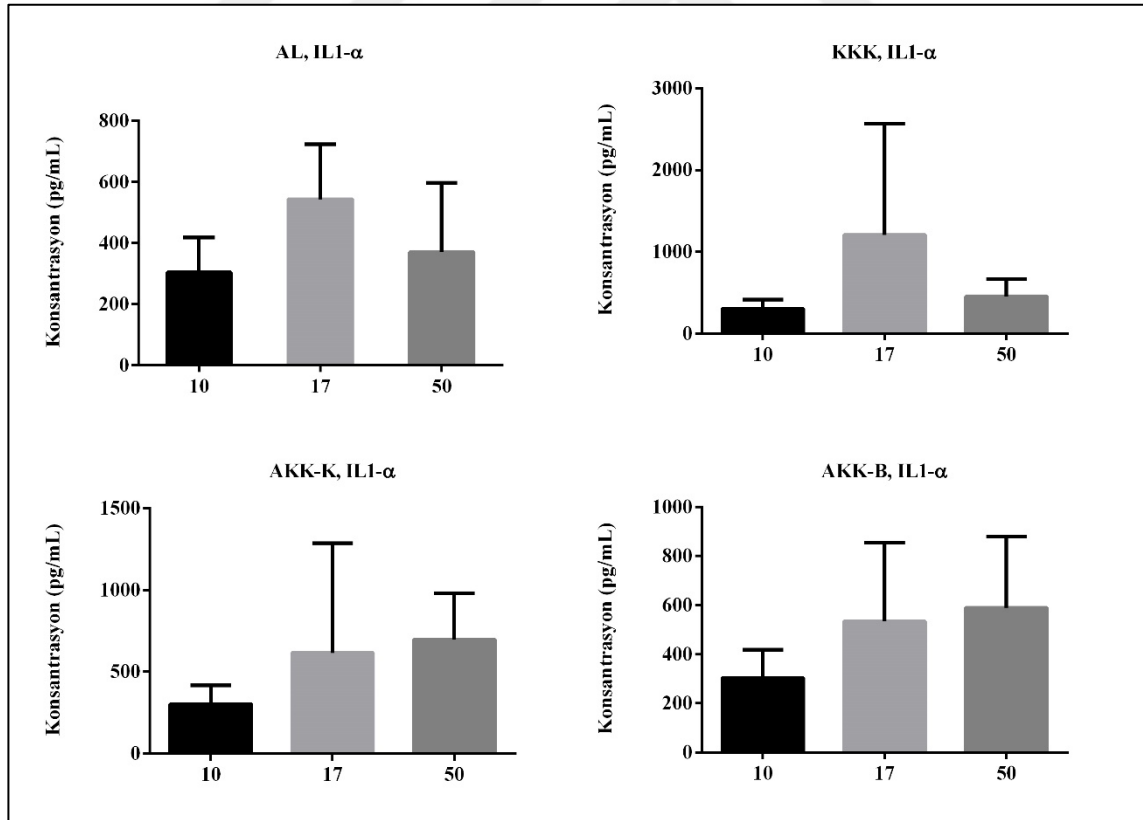
## 5.2.2. Yaşlanma ile Beraber Farklı Kalori Kısıtlaması Uygulamalarının Farklı Hayvanlar Üzerinde Sitokin Seviyelerine Etkisi

Buradaki değerlendirme, aynı besleme gruplarına dahil olan farklı hayvanlardan ilerleyen zamanlarda alınan kan örneklerinden elde edilen serum örneklerinden yapılmıştır. Bu şekilde farklı hayvanlarda farklı diyetlerin etkisinin yaşlanmayla beraber nasıl değiştiği ortaya koyulmaya çalışılmıştır. Değerlendirme sitokin bazında ayrı ayrı olarak yapılmıştır.

### Serum İnterlökin-1 Alfa'da (IL-1 $\alpha$ ) Meydana Gelen Değişimler

Burada yapılan değerlendirme, daha önce “gereç ve yöntem” kısmında belirtilen şekilde besleme programı uygulanan (AL, KKK, AKK) hayvanlarda IL-1 $\alpha$  bazında ki değişimlerin farklı diyetler etkisinde yaşlanmaya bağlı değişimini anlamaktır.

**Tablo 22:** Farklı kalori kısıtlamalarının etkisinde olan farklı hayvanların yaşlanmaya bağlı olarak 10 haftalık, 17 haftalık, 50 haftalık yaşlarda serum IL-1 $\alpha$  seviyelerinde meydana gelen değişimler. (AL=10 H, n=8; 17 H, n=7; 50 H, n=6; KKK=10 H, n=8; 17 H, n=7; 50 H n=8; AKK-K=10 H, n=8; 17 H, n=9; 50 H, n=9; AKK-B=10 H, n=8; 17 H, n=8; 50 H, n=9; p>0,05)

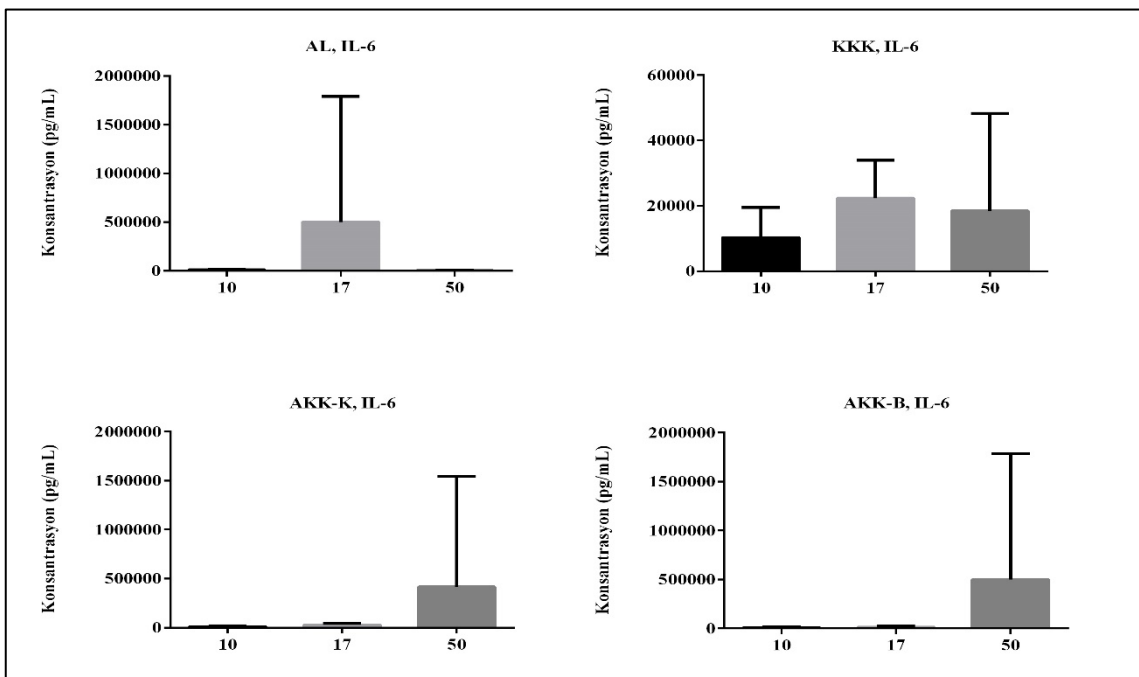


Yukarıdaki grafikler incelendiğinde IL-1 $\alpha$  için sırası ile 10., 17., ve 50. haftalarda serum sitokin seviyeleri AL besleme gurubunda 303,6 pg/ml, 543,4 pg/ml, 371,2 pg/ml; KKK besleme gurubunda 303,6 pg/ml, 1209 pg/ml, 455,4 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 303,6 pg/ml, 615,3 pg/ml, 696,8 pg/ml; AKK-B besleme gurubunda 303,6 pg/ml, 534,6 pg/ml, 589,3 pg/ml olarak ölçülmüştür. Hayvanların serum IL-1 $\alpha$  seviyelerinde yaşlanma ile beraber 10. haftadan, yaşlanmanın ikinci periyodu olan 17. haftalara geçildiğinde bir artış, 50. haftalarda ise serum IL-1 $\alpha$  seviyelerinde bir azalma görülmüştür. Her ne kadar 50. haftalarda 17. haftalara göre azalma meydana gelse de 50. haftadaki sitokin seviyeleri 10. haftadaki seviyelerinin altına düşmemiştir. KKK gurubunda da AL gurubunda olduğu gibi 17. haftada bir artış 50. haftada ise 17. haftaya kıyasla bir azalma meydana gelmiştir. AKK-K ve AKK-B gruplarında ise 10. haftadan itibaren hayvanların yaşları ilerledikçe serum IL-1 $\alpha$  seviyelerinde periyodik artışlar meydana gelmiştir. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir. (Tablo 22, p>0,05)

### Serum İnterlökin-6'da (IL-6) Meydana Gelen Değişimler

Burada yapılan değerlendirme, daha önce “gereç ve yöntem” kısmında belirtilen şekilde besleme programı uygulanan (AL, KKK, AKK) hayvanlarda IL-6 bazında ki değişimlerin farklı diyetler etkisinde yaşlanmaya bağlı değişimini anlamaktır.

**Tablo 23:** Farklı kalori kısıtlamalarının etkisinde olan farklı hayvanların yaşlanmaya bağlı olarak 10 haftalık, 17 haftalık, 50 haftalık yaşlarda serum IL-6 seviyelerinde meydana gelen değişimler. (AL=10 H, n=7; 17 H, n=7; 50 H, n=6; KKK=10 H, n=7; 17 H, n=6; 50 H, n=7; AKK-K=10 H, n=7; 17 H, n=8; 50 H, n=9; AKK-B=10 H, n=7; 17 H, n=7; 50 H, n=7; p>0,05)

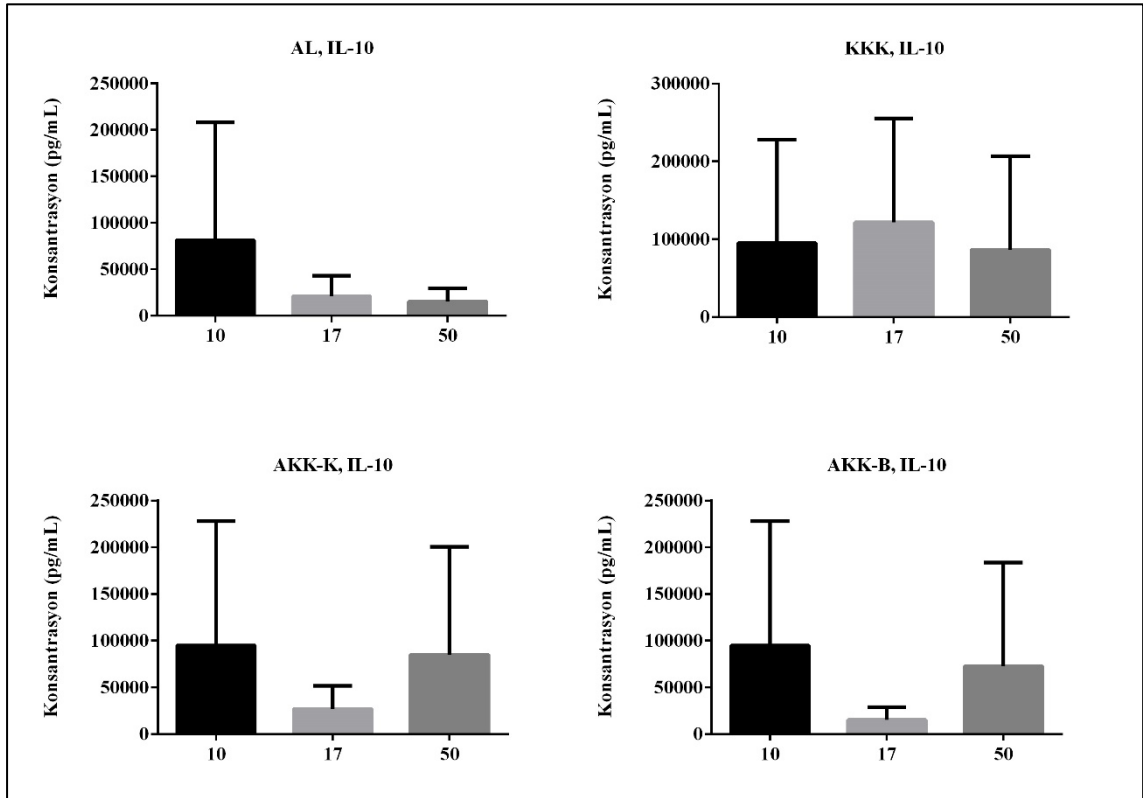


Yukardaki grafikler incelendiğinde IL-6 için sırası ile 10., 17., ve 50. haftalarda serum sitokin seviyeleri AL besleme gurubunda 10345 pg/ml, 502094 pg/ml, 5158 pg/ml; KKK besleme gurubunda 10345 pg/ml, 22315 pg/ml, 18493 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 10345 pg/ml, 26942 pg/ml, 415418 pg/ml; AKK-B besleme gurubunda 10345 pg/ml, 13054 pg/ml, 499481 pg/ml olarak ölçülmüştür. Hayvanların serum IL-6 seviyelerinde yaşlanma ile beraber 10. haftadan, yaşlanmanın ikinci periyodu olan 17. haftaya geçildiğinde bir artış, 50. haftada ise serum IL-6 seviyelerinde bir azalma görülmüş ve 10. haftadaki seviyelerinin yarısına kadar düşmüştür. KKK gurubunda serum IL-6 seviyelerinde ise 10. haftalara göre kıyasla 17. haftada serum sitokin seviyelerinde bir artış 50. haftada ise azalma meydana gelmiş ancak bu 50. haftada ki azalma 10. haftadaki seviyelerin altına düşmemiştir. AKK gruplarında 10. ve 17. haftada serum IL-6 seviyeleri otalama aynı düzeylerde kalırken 50. haftaya gelindiğinde belirgin bir artış görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenmemiştir (Tablo 23,  $p>0,05$ ).

## Serum İnterlökin-10'da (IL-10) Meydana Gelen Değişimler

Burada yapılan değerlendirme, daha önce “gereç ve yöntem” kısmında belirtilen şekilde besleme programı uygulanan (AL, KKK, AKK) hayvanlarda IL-10 bazında ki değişimlerin farklı diyetler etkisinde yaşlanmaya bağlı değişimini anlamaktır.

**Tablo 24:** Farklı kalori kısıtlamalarının etkisinde olan farklı hayvanların yaşlanmaya bağlı olarak 10 haftalık, 17 haftalık, 50 haftalık yaşlarda serum IL-10 seviyelerinde meydana gelen değişimler. (AL=10 H, n=7; 17 H, n=5; 50 H, n=4; KKK=10 H, n=6; 17 H, n=5; 50 H, n=4; AKK-K=10 H, n=6; 17 H, n=6; 50 H, n=8; AKK-B=10 H, n=6; 17 H, n=4; 50 H, n=5;  $p>0,05$ )



Yukardaki grafikler incelendiğinde IL-10 için sırası ile 10., 17., ve 50. haftalarda serum sitokin seviyeleri AL besleme gurubunda 81432 pg/ml, 20854 pg/ml, 15576 pg/ml; KKK besleme gurubunda 94847 pg/ml, 121694 pg/ml, 86553 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 94847 pg/ml, 26891 pg/ml, 85022 pg/ml; AKK-B besleme gurubunda 94847 pg/ml, 15096 pg/ml, 72836 pg/ml olarak ölçülmüştür. Hayvanların serum IL-10 seviyelerinde yaşlanma ile beraber 10. haftadan itibaren hayvanlarda yaşlanma ilerledikçe periyodik şekilde azalmalar görülmüştür. Öyle ki 50. haftadaki azalma 10. haftaların bile altına düşmüştür. KKK gurubunda 10. haftalara göre kıyasla serum IL-10 seviyelerinde yaşlanmanın ilk periyodu olan 17. haftada bir artış yaşlanmanın ikinci periyodu olan 50.

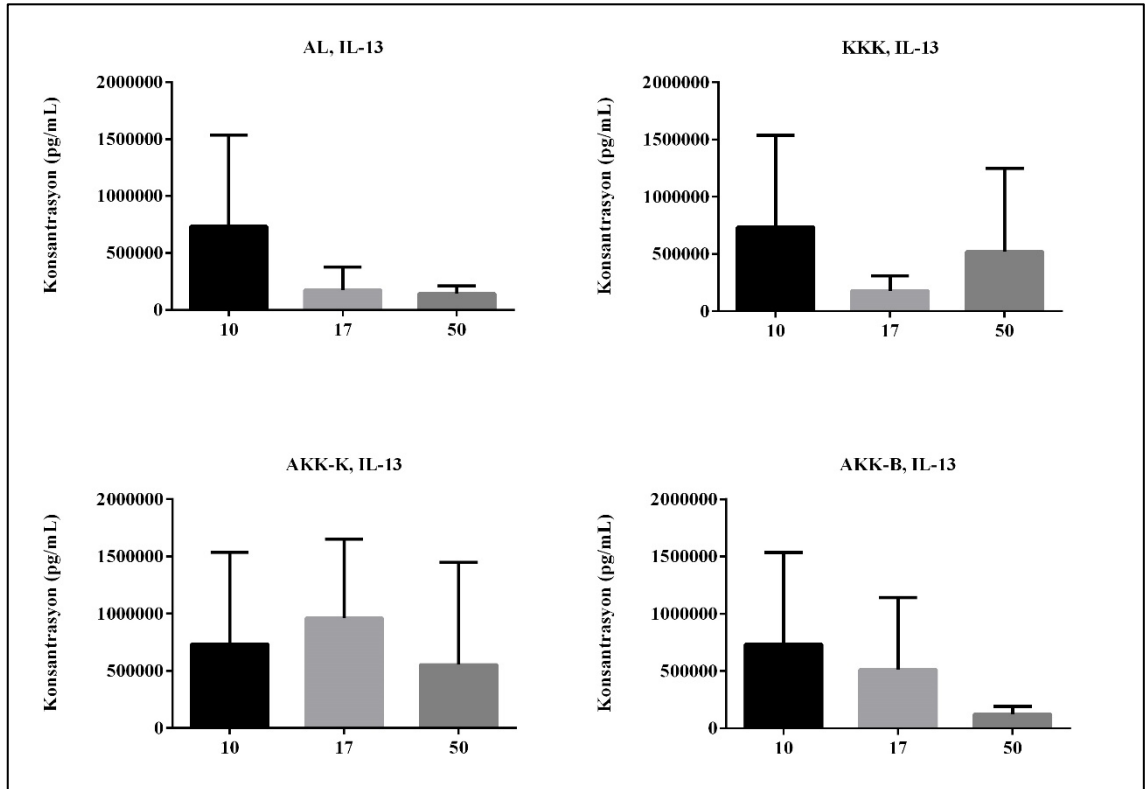
haftada ise bir azalma görülmüştür. AKK gruplarında ise 10. haftalara göre kıyasla 17. haftada bir azalma 50. haftada ise 17. haftaya göre kıyasla bir artış meydana gelmiş ve 50. haftadaki serum sitokin seviyeleri 10. haftadaki düzeylere yaklaştığı görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir (Tablo 24,  $p>0,05$ ).



## Serum İnterlökin-13'te (IL-13) Meydana Gelen Değişimler

Burada yapılan değerlendirme, daha önce “gereç ve yöntem” kısmında belirtilen şekilde besleme programı uygulanan (AL, KKK, AKK) hayvanlarda IL-13 bazında ki değişimlerin farklı diyetler etkisinde yaşlanmaya bağlı değişimini anlamaktır.

**Tablo 25:** Farklı kalori kısıtlamalarının etkisinde olan farklı hayvanların yaşlanmaya bağlı olarak 10 haftalık, 17 haftalık, 50 haftalık yaşlarda) serum IL-13 seviyelerinde meydana gelen değişimler. (AL=10 H, n=7; 17 H, n=4; 50 H, n=5; KKK=10 H, n=7; 17 H, n=3; 50 H, n=7; AKK-K=10 H, n=7; 17 H, n=6; 50 H, n=3; AKK-B=10 H, n=7; 17 H, n=5; 50 H, n=4;  $p>0,05$ )



Yukardaki grafikler incelendiğinde IL-13 için sırası ile 10., 17., ve 50. haftalarda serum sitokin seviyeleri AL besleme gurubunda 733540 pg/ml, 176489 pg/ml, 144013 pg/ml; KKK besleme gurubunda 733540 pg/ml, 179163 pg/ml, 521430 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 733540 pg/ml, 960875 pg/ml, 554683 pg/ml; AKK-B besleme gurubunda 733540 pg/ml, 514938 pg/ml, 124124 pg/ml olarak ölçülmüştür. Hayvanların serum IL-13 seviyelerinde yaşlanma ile beraber 10. haftadan itibaren hayvanlarda yaşlanma ilerledikçe 10. haftaya göre kıyasla 17. haftada belirgin bir azalma görülmüştür. 50. haftada ise ortalama 17. haftada ki seviyelerde kaldığı görülmüştür. KKK gurubunda serum IL-13 seviyelerinde 10. haftaya kıyasla 17. haftada belirgin bir azalma 50.haftada

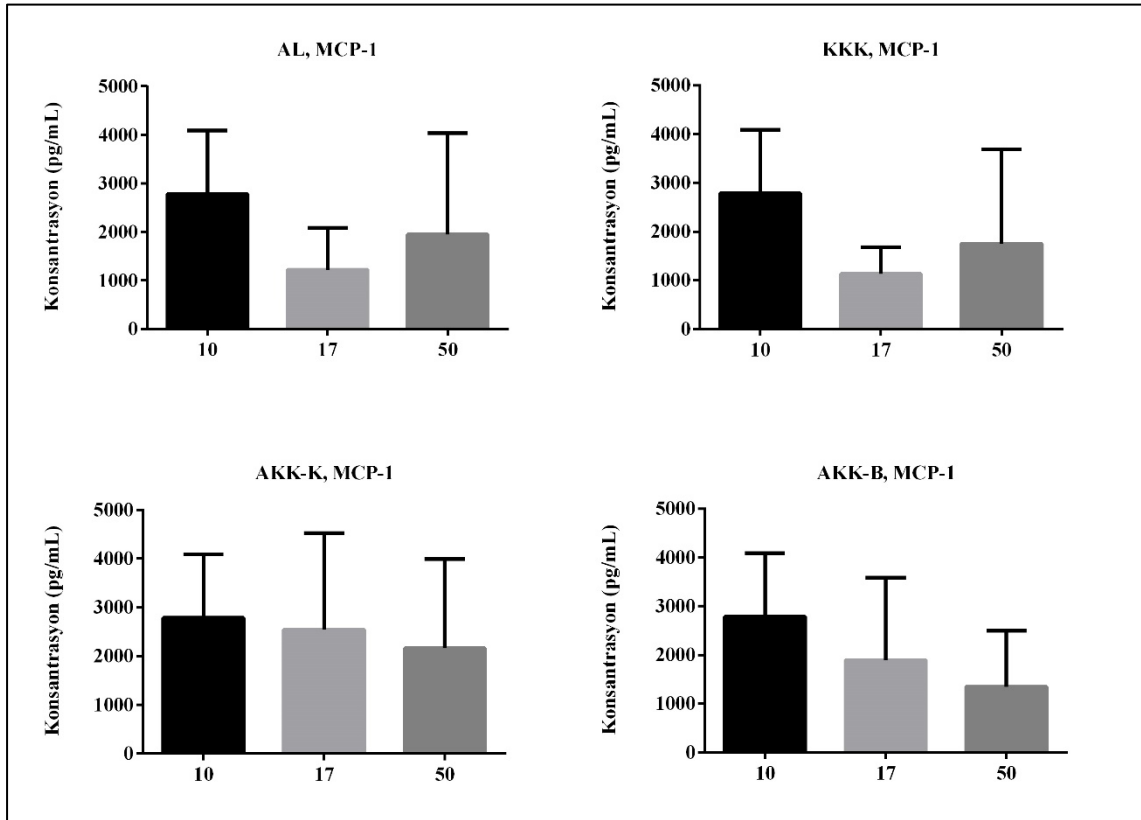
ise 17. haftaya göre ise bir artış meydana gelmiş ancak 50. haftadaki bu serum sitokin seviyelerinde ki artış 10. haftadaki seviyelerin altında kaldığı görülmüştür. AKK-K gurubunda 10. haftaya kıyasla 17. haftada bir artış meydana gelmiş, yaşlanma ilerledikçe 50. haftada ise azalma meydana gelmiş hatta 50. haftadaki bu serum IL-13 seviyelerinde ki azalma 10.haftadaki seviyelerin bile altına düştüğü görülmüştür. AKK-B gurubunda ise 10. haftadaki serum IL-13 seviyelerine kıyasla yaşlanma ilerledikçe serum sitokin seviyelerinde periyodik bir azalma meydana gelmiş hatta 50. haftadaki serum sitokin seviyesinde ki azalma 10. haftadaki seviyelerin bile altına düştüğü görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenmemiştir (Tablo 25,  $p>0,05$ ).



## Serum Monosit Kemoatraktan Protein-1'de (MCP-1) Meydana Gelen Değişimler

Burada yapılan değerlendirme, daha önce “gereç ve yöntem” kısmında belirtilen şekilde besleme programı uygulanan (AL, KKK, AKK) hayvanlarda MCP-1 bazında ki değişimlerin farklı diyetler etkisinde yaşlanmaya bağlı değişimini anlamaktır.

**Tablo 26:** Farklı kalori kısıtlamalarının etkisinde olan farklı hayvanların yaşlanmaya bağlı olarak 10 haftalık, 17 haftalık, 50 haftalık yaşlarda) serum MCP-1 seviyelerinde meydana gelen değişimler. (AL=10 H, n=7; 17 H, n=4; 50 H, n=6; KKK=10 H, n=7; 17 H, n=4; 50 H, n=4; AKK-K=10 H, n=7; 17 H, n=5; 50 H, n=7; AKK-B=10 H, n=7; 17 H, n=5; 50 H, n=5;  $p>0,05$ )



Yukardaki grafikler incelendiğinde MCP-1 için sırası ile 10., 17., ve 50. haftalarda serum sitokin seviyeleri AL besleme gurubunda 2786 pg/ml, 1224 pg/ml, 1946 pg/ml; KKK besleme gurubunda 2786 pg/ml, 1130 pg/ml, 1754 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 2786 pg/ml, 2542 pg/ml, 2162 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 2786 pg/ml, 1892 pg/ml, 1349 pg/ml olarak ölçülmüştür. AL ve KKK gruplarında serum MCP-1 seviyelerinde yaşlanmanın ilk periyodu olan 17. haftada 10. haftaya kıyasla bir azalma sonraki yaşlanma periyodu olan 50. haftada ise bir artış görülmüştür anca bu 50. haftadaki serum sitokin seviyesinde ki artışın 10. haftadaki seviyelere ulaşamadığı görülmüştür. AKK gruplarında ise 10. haftadan itibaren yaşlanma ilerledikçe hayvanların

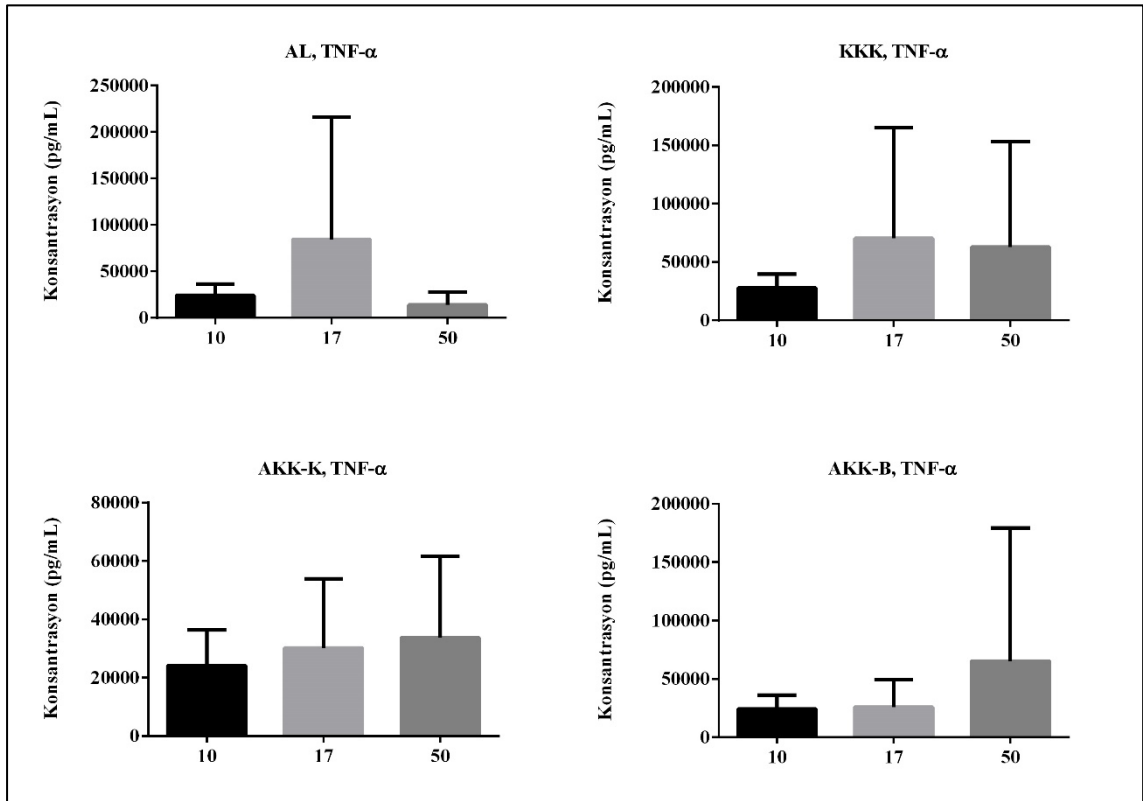


serum MCP-1 değerlerinde periyodik bir azalma meydana geldiği görülmüştür. İstatistik olarak bir önem belirlenememiştir. (Tablo 26,  $p>0,05$ )

### Serum Tümör Nekrozis Alfa'da (TNF- $\alpha$ ) Meydana Gelen Değişimler

Burada yapılan değerlendirme, daha önce “gereç ve yöntem” kısmında belirtilen şekilde besleme programı uygulanan (AL, KKK, AKK) hayvanlarda TNF- $\alpha$  bazında ki değişimlerin farklı diyetler etkisinde yaşlanmaya bağlı değişimini anlamaktır.

**Tablo 27:** Farklı kalori kısıtlamalarının etkisinde olan farklı hayvanların yaşlanmaya bağlı olarak 10 haftalık, 17 haftalık, 50 haftalık yaşlarda) serum TNF- $\alpha$  seviyelerinde meydana gelen değişimler. (AL=10 H, n=4; 17 H, n=3; 50 H, n=6; KKK=10 H, n=3; 17 H, n=5; 50 H, n=6; AKK-K=10 H, n=4; 17 H, n=6; 50 H, n=7; AKK-B=10 H, n=4; 17 H, n=4; 50 H, n=4;  $p>0,05$ )



Yukardaki grafikler incelendiğinde TNF- $\alpha$  için sırası ile 10., 17., ve 50. haftalarda serum sitokin seviyeleri AL besleme gurubunda 24177 pg/ml, 84504 pg/ml, 14147 pg/ml; KKK besleme gurubunda 27702 pg/ml, 70321 pg/ml, 62761 pg/ml; AKK-K besleme gurubunda 24177 pg/ml, 30264 pg/ml, 33794 pg/ml; AKK-B besleme gurubunda 24177 pg/ml, 25856 pg/ml, 65387 pg/ml olarak ölçülmüştür. AL besleme gurubunda 10. haftaya kıyasla 17. haftada serum TNF- $\alpha$  seviyelerinde belirgin bir artış meydana geldiği görülmüştür. Yaşlanmanın ikinci periyodun da ise serum sitokin seviyelerinde 17. haftaya

kıyasla belirgin bir azalma meydana geldiği görülmüş hatta ortalama 10. haftadaki seviyelere indiği görülmüştür. KKK gurubunda 10. haftaya kıyasla serum TNF- $\alpha$  seviyelerinde yaşlanmanın birinci ve ikinci periyodunda yani 17. ve 50. haftada belirgin artış meydana geldiği görülmüş ancak bu artış ilerleyen şekilde olmamış 17.ve 50. haftada ortalama aynı düzeylerde kalmıştır. AKK-K gurubunda yaşlanma ilerledikçe serum TNF- $\alpha$  seviyelerinde periyodik artış meydana gelmiş ve en yüksek düzeye 50. haftada ulaştığı görülmüştür. AKK-B gurubunda ise 10. hafta ve 17. hafta kıyaslandığında belirgin bir fark görülmemiş ancak yaşlanmanın ikinci periyodu yani 50. haftada ise 10. ve 17. haftaya kıyasla belirgin artış meydana gelmiştir. İstatistik olarak bir önem belirlenmemiştir (Tablo 27,  $p>0,05$ ).



## 6. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu bölümde farklı kalori kısıtlaması yöntemlerinin sitokin seviyeleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Tablo 6 incelendiğinde, 17 haftalık yaşlarda, antiinflamatuvar etkili olduğu düşünülen IL-10'un seviyelerinin değişimleri arasında istatistiksel olarak farklılık izlenirse de KKK besleme modeli gurubunda diğer gruplara göre daha yüksek seviyede olduğunu görmekteyiz. Dolayısıyla 17 haftalık yaşlarda yapılan kalori kısıtlamasının antiinflamatuvar cevap oluşturulmasında, KKK besleme modelinin daha etkili bir yöntem olduğunu düşünebiliriz. Çünkü, proinflamatuvar sitokinlerden olan IL-6 seviyesi (Tablo 5) ve TNF- $\alpha$  seviyesi (Tablo 9) KKK gurubunda AL gurubuna göre daha düşük seviyededir. Bu durum Fenton ve ark. (176) yaptıkları çalışma ile paralellik göstermektedir. Yaptıkları çalışma sonucunda, 10 hafta boyunca AL gruplarına göre %30 oranında kronik kalori kısıtlaması uyguladıkları gurubun daha yüksek IL-10 seviyelerine sahip olduklarını, yüksek kalorili besleme uyguladıkları gurubun kalori kısıtladıkları guruba göre daha yüksek TNF- $\alpha$  seviyelerine sahip olduklarını ve yine yüksek kalorili besledikleri gurubun kontrol gruplarına göre daha yüksek IL-6 seviyelerine sahip olduklarını göstermişlerdir. Bu tez çalışmasında yüksek kalorili beslenme gurubu yoktur ancak kontrol gurubu olan AL gurubunu kalori kısıtlaması uygulanan KKK ve AKK gruplarına göre yüksek kalorili beslenen grupmuş gibi kabul edersek sonuçlar oldukça benzerdir. Aynı şekilde Lim ve ark. (145) ile Fang ve ark. (146) yaptıkları çalışmalarda gösterdikleri üzere inflamasyon olaylarında etkinliği arttığı bilinen kemokin MCP-1 seviyesi de (Tablo 8) KKK besleme modeli gurubunda AL gurubuna göre daha düşük seviyelerde ölçülmüştür. Bu durum KKK besleme gurubunda kontrol gruplarına kıyasla artmış olan antiinflamatuvar etkili serum IL-10 aktivitesinin, IL-6, TNF- $\alpha$  ve MCP-1 gibi sitokinlerin ve kemokinlerin aktivitesini bastırarak KKK besleme modelinin inflamasyona karşı gelişebilecek cevapta daha etkili olabileceğini düşündürecek niteliktedir. Bu teori, Hursting ve ark. (191) tarafından 30 yıllık kalori kısıtlamalarını inceledikleri çalışmalardan elde ettikleri sonuçlarla uyum içindedir. Yaptıkları incelemeler sonucunda kalori kısıtlaması uygulanması ile birçok sitokin ve inflamasyon işaretçisinin seviyelerinin düştüğünü belirtmektedirler. Özellikle inflamasyonun akut evrelerinde inflamasyon bölgesine toplanan lökositlerce TNF- $\alpha$  ve IL-1 salgılandığı ve seviyelerinin arttığını, artan TNF- $\alpha$  ve IL-1 seviyelerinin IL-6 seviyesinde artışa sebep olduğunu vurgulamaktadırlar. Aynı

şekilde IL-10 seviyesinin artışının gerçekleştiğini ve bunun antiinflamatuvar bir yanıt olduğunu belirtmektedirler.

Bu durumda, Hursting ve ark. (191) yaptıkları çalışmanın da paralelliği ile kalori kısıtlamasının özellikle KKK modeli kısıtlama yönteminin 10 haftalık yaştan 17 haftalık yaşa geçişte yani 7 haftalık periyotta inflamasyon olaylarını geriletmediği ve antiinflamatuvar cevabı arttırdığı görüşü öne sürülebilir. Olivo-Marston ve ark. (177) yaptıkları çalışmada ise kronik kalori kısıtlaması ile IL-10 seviyelerindeki değişikliği antiinflamatuvar etkinlik açısından anlamsız olarak nitelendirmektedirler. İstatistiki açıdan bu çalışmada bu tez çalışması ile uyumludur ancak kullandıkları hayvan türünün farklı olmasından ve hayvanlarda kimyasal tümör modeli oluşturduktan sonra yaptıkları ölçümlerden kaynaklı bu sonuca ulaşmış olabilirler. Muhtemeldir ki, KKK besleme modeli ile düşük MCP-1 seviyelerine bağlı olarak inflamasyonun şekillenebileceği bölgelere immün hücrelerin daha az çağırıldığını ya da inflamasyon gelişen bölgelerde inflamasyon olaylarının şiddetinin azlığına bağlı olarak bölgede fazla immün hücrenin bulunmaması ve bu sebepten daha düşük IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyeleri olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Diğer yandan MCP-1 seviyelerini (Tablo 8) ve IL-1 $\alpha$  seviyelerini (Tablo4) istatistiki açıdan değerlendirirsek bir anlam ifade etmediğini görmekteyiz. Bu durumda yine Fenton ve ark. (176) yaptıkları çalışma ile uyum içindedir.

Yedi haftalık kalori kısıtlama sürecinde kısıtlama yöntemleri yani KKK ve AKK kendi aralarında değerlendirildiğinde her ne kadar istatistiki olarak farklılık ifade etmese de IL-6 seviyelerinin (Tablo 5) kalori kısıtlamaları ile beraber AL gurubuna göre düştüğü gözlemlenmektedir. Bu da Doğan ve ark. (180) yaptıkları çalışma ile paralellik göstermektedir. Ancak Doğan ve ark. (180) AKK gruplarında KKK gruplarına kıyasla 6 kata kadar varan daha düşük IL-6 seviyeleri tespit etmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise bu kadar büyük bir değişiklik izlenmemiştir. Bu farklılık Dogan ve ark'nın bu tez çalışmasında ki kısıtlama oranlarına göre AKK gurubunda %35 oranında daha az kısıtlama, KKK gurubunda ise %35 oranında daha fazla kısıtlama yaptıklarından kaynaklanabilir.

Diğer yandan 17 haftalık yaşta olan hayvanlarda AKK gruplarının, deney grupları bölümünde de bahsedildiği gibi hayvanlardan, aralıklı kalori kısıtlamasının bir kısıtlama periyotlarında (AKK-K) birde yeniden ad-libituma dönüş periyotlarında (AKK-B) serum örnekleri elde edilip sitokin seviyeleri değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme yapılırken, kalori kısıtlaması yapılan hayvanlardan yeniden ad-libituma dönüş süreçlerinde inflamasyonun nasıl değiştiğini ortaya koyulması amaçlanmıştır. Her ne kadar sitokin

seviyelerinde ufak çaplı değişiklikler izlense de AKK-K ve AKK-B grupları arasında incelenen sitokinler için istatistiki önem arz eden bir farklılık ortaya koyulamamıştır.

Tüm bu sonuçlar ve yapılan çalışmalardan elde edilen bilgiler ışığında KKK besleme modelinin antiinflamatuvar etkinlik açısından AKK besleme modeline göre 7 haftalık kısa dönemde daha etkili bir yöntem olduğunu söyleyebiliriz.

İlerleyen yaşlarda yani 50 haftalık yaşlara varan uzun dönem kalori kısıtlamasının etkileri değerlendirildiğinde KKK besleme modelinin etkinliğinin 17 haftalık yaşlardakine benzer şekilde olmadığını görmekteyiz. Her ne kadar istatistiki olarak fark gözlemlenirse de tablo 10-15 incelendiğinde, proinflamatuvar sitokinlerden olan IL-1 $\alpha$ , IL-6, ve TNF-a seviyelerinin, aynı şekilde antiinflamatuvar sitokinler içinde değerlendirilen ancak inflamasyon olaylarında Kwon, Venmar ile Srabovic ve ark. (<sup>123,124,127</sup>) gösterdikleri üzere etkinliği artan IL-13 seviyeleri, AL gurubuna kıyasla KKK besleme modeli gurubunda arttığını görmekteyiz. Bu durum, KKK besleme modelinin ilerleyen yaşlarda antiinflamatuvar etkinlikte başarılı olamadığını düşündürmektedir. Ancak MCP-1 hariç tüm inflamasyon işaretçilerinin tüm besleme gruplarında AL gurubuna kıyasla artmış olması bu durumun yaşlanmaya bağlı bir inflamasyon olayı olduğunu düşündürmektedir. Bu durum Spaulding ve ark. (<sup>192</sup>) yaptığı çalışmayla uyumluluk göstermektedir. Yaptıkları çalışmada farelere, kontrol gruplarına kıyasla %50 oranında kalori kısıtlaması uygulamışlar ve 8 haftadan 36 haftaya varan süreçlerde yaşlı ve genç grup olmak üzere gruplandırarak serum TNF- $\alpha$  ve IL-6 seviyelerini kıyaslamışlardır. Değerlendirmeleri sonucunda yaşlı ve genç kontrol grupları kıyaslandığında her iki sitokinin seviyelerinde de yaşlanmaya bağlı olarak artış görmüşlerdir. Yani aslında yaşlanma periyodunda kalori kısıtlamasından bağımsız olarak inflamasyon olaylarında artış olabilmektedir.

Diğer yandan tablo 12 incelendiğinde antiinflamatuvar yanıtın yani IL-10 seviyesinin en yüksek AKK-K besleme modeli gurubunda olduğunu görmekteyiz. Bu durum ilerleyen yaşlarda veya uzun dönem yapılan, aralıklı kalori kısıtlamasının diğer besleme modellerine göre daha başarılı olduğunu düşündürtebilir. Ayrıca yine tablo 12 incelendiğinde AKK-K ve AKK-B arasındaki değişime bakılırsa IL-10 seviyesinin yeniden besleme yani ad-libitum besleme modeline dönüşte düştüğünü görmekteyiz. Bu durum ise kalori kısıtlamasının ötelendiği veya tekrar ad-libitum beslenme durumlarında dahi antiinflamatuvar yanıtın azaldığını düşündürmektedir.

Uzun dönem kalori kısıtlamasının etkinliğini değerlendiren Willette ve ark. (<sup>193</sup>) 2013 yılında 44 makak maymunu üzerinde kronik olarak uzun yıllar boyunca kalori

kısıtlaması (KKK) uygulamışlardır. Yaptıkları çalışmada, 17 makak maymununu kontrol gurubu olarak ad-libitum (AL) beslemişler ve 27 makak maymununu ise kontrol gurubuna kıyasla (AL) %30 kalori kısıtlaması (KKK) ile besleyerek elde ettikleri kan örneklerinden proinflatuar etkinliğe sahip IL-8 ve antiinflatuar etkinliğe sahip IL-10 sitokinlerinin değerlerine bakmışlardır. Elde edilen sonuçlardan IL-8 seviyelerinin KKK gurubunda AL gurubuna kıyasla daha düşük, IL-10 seviyelerinin ise KKK gurubunda AL gurubuna kıyasla daha yüksek seviyelerde olduğunu göstermişlerdir. Bu durum bu tez çalışmasından alınan sonuçlarla uyum içindedir. Tablo 12 incelenirse kalori kısıtlaması ile beraber artan IL-10 seviyeleri, kalori kısıtlamasının uzun dönemde de antiinflatuar etkinlikte önemli olduğunu göstermektedir. Ancak bu etkinlik AKK-K besleme modelinde kısa dönemde ki durumun aksine KKK besleme modelinin önüne geçmiştir. Bu sonuçlara dayanarak genel anlamda uzun dönem de AKK besleme modelinin KKK modeline göre proinflatuar sitokin seviyelerinde daha etkili bir düşürücü faktör olduğu ileri sürülebilir. Bu sonucu Doğan ve ark. (180) yaptıkları çalışma destekler niteliktedir. Doğan ve ark. (180)'da 70'li haftalara varan uzun dönem kalori kısıtlamalarının etkinliğini değerlendirdiklerinde IL-6 seviyelerinde yaşlanma ile beraber çeşitli artışlar görmüşler ancak genel anlamda AKK besleme modellerinin KKK besleme modellerine göre IL-6 seviyelerinde daha etkili düşümlere sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Diğer yandan istatistiki olarak bu tez çalışmasından alınan sonuçlarla uyum içerisinde olsa da Tam ve ark. (194) 2012 yılında yaptıkları çalışmada kalori kısıtlamasının bir farklılık yaratmadığını ileri sürmüşlerdir. 70 katılımcı ile gerçekleştirdikleri çalışmada kilolu insanlarda kalori kısıtlaması ve egzersiz uygulamaları yaparak sağlıklı insanlarla karşılaştırmışlardır. 24 hafta süren uygulamalar sonucunda katılımcılardan elde edilen serum örneklerinden IL-6, TNF- $\alpha$  ve MCP-1 değerlerini karşılaştırmışlardır. Karşılaştırmalar sonucunda kontrol gruplarına göre %25 kalori kısıtlaması uyguladıkları gurubun serum IL-6, TNF- $\alpha$  ve MCP-1 seviyelerinde anlamlı değişiklikler olmadığını ortaya koymuşlardır. Burada ki farklılık çalışmanın insanlar üzerinde gerçekleştirilmesinden kaynaklanabilir.

Tüm bu sonuçlardan kalori kısıtlamasının uzun veya kısa vade de serum sitokin seviyeleri üzerinde değişikliğe neden olduğunu gösterse de kalori kısıtlamasının tek bir yol izleyerek aynı şekilde davranmadığını anlaşılabilir.

Besleme modellerinin yani farklı diyet tiplerinin serum sitokin seviyeleri üzerine etkileri değerlendirilirken birde yaşlanmaya bağlı olarak hem aynı hayvanlardan

periyodik şekilde elde edilen örneklerden hem de aynı besleme gurubuna dahil farklı hayvanlardan periyodik şekilde elde edilen örneklerden değerlendirmeler yapılmıştır.

Aynı hayvanlar için değerlendirme yapmak gerekirse;

Tablo 16, 17 ve 19 incelendiğinde AL grupları için, her ne kadar istatisti ki olarak farklı olmasalar da yaşlanmaya bağlı olarak yani 10 haftalık yaşlardan 17 ve 50 haftalık yaşlara geçerken serum IL-1 $\alpha$ , IL-6 ve IL-13 seviyelerinin arttığı görülmektedir. Bu durum daha öncede bahsedildiği gibi ve Spaulding ve ark. (192) yaptığı çalışmada elde ettiği verilere paralel şekilde inflamasyon olaylarının yaşlanmaya bağlı artışı teorisini desteklemektedir. Bu duruma ek olarak yine AL besleme modeli gurubunda yaşlanmanın ilk periyodu olan 10 haftalık yaştan 17 haftalık yaşa geçişte antiinflamatuvar cevapta etkili IL-10'un seviyelerinin yükselmesi (Tablo 18) yani yaşlanmaya bağlı gelişen inflamasyona karşı ortaya çıkan antiinflamatuvar yanıtında arttığını düşündürmektedir. Diğer yandan 17 haftalık yaştan 50 haftalık yaşa geçişte yine AL gurubunda IL-10 seviyesi (Tablo 18) hem 10 haftalık yaşlara hem de 17 haftalık yaşlara kıyasla düşüşe geçmiştir. Bu durum tablo 21'de AL besleme gurubundaki TNF- $\alpha$  değerleri ile örtüşmemektedir. Normal şartlarda yaşlanma ile beraber inflamasyonun da arttığı teorisini kabul edildiğinde bu durumda TNF- $\alpha$  seviyelerinin de artması beklenirdi. Ancak böyle bir durum görülmemiş hatta TNF- $\alpha$  seviyeleri yaşlanma ile beraber azalmıştır. Bu da TNF- $\alpha$  ile IL-10 arasında başka bir yolak olma ihtimalini düşündürmektedir. Bu durum Dogan ve ark. yaptığı çalışma ile uyuşmamaktadır. Dogan ve ark. (180) yaptıkları çalışmada bu tez çalışmasında kullanılan aynı hayvan türünü kullanmışlar ancak AL gruplarında 10 haftalık yaştan 70 haftalık yaşlara doğru anlamlı derecede giderek artan bir TNF- $\alpha$  seviyesi olduğunu göstermişlerdir. Bu farklılık hayvan türüne veya kullanılan yem çeşidine bağlanamaz. Çünkü hem hayvan türü hem beslenme şekli hem de kullanılan yem aynıdır. Bu farklılık muhtemelen hayvanların yetiştirilme ve barınma şartlarından oluşabilen bireysel farklılıklardan kaynaklanabilir. Yine Ishaq ve ark. (159) yaptıkları çalışmada aynı hayvan türünü kullanmışlar ve AL gruplarında 5 aylık yaşlardan 30 aylık yaşlara geçişte anlamlı derecede artan DNA hasarı ve TNF- $\alpha$  seviyeleri olduğunu göstermişlerdir. Ancak burada ki farklılık ölçüm yapılan dokunun farklı olmasından kaynaklanabilir. Ishaq ve ark. (159)'nın TNF- $\alpha$  seviyelerini değerlendirmek için kullandıkları örnek beyaz yağ dokusudur. Ayrıca TNF- $\alpha$  açısından başka bir değerlendirme daha yaparsak, Meydani ve ark. (178) 2016 yılında 218 adet obez olmayan katılımcı ile gerçekleştirdikleri çalışmada, ad-libitum beslenme şekline karşılık %25 oranında kalori kısıtlaması gurubu oluşturmuşlar ve 12 ile 24 ay süresince uzun dönem

ve kısa dönem olarak uygulanan kalori kısıtlamasının plazma TNF- $\alpha$  seviyelerini üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Yaptıkları değerlendirmeler sonucu 12 aylık kısa periyotta plazma TNF- $\alpha$  seviyelerinin KK gurubunda AL gurubuna kıyasla anlamlı şekilde düştüğünü göstermişlerdir. Tablo 21’de KKK ve AKK grupları incelenirse bu tez çalışmasında da kalori kısıtlamasının uygulanması ile yaşlanmanın ilk periyodunda yani 10 haftalık yaştan 17 haftalık yaşa geçişte serum TNF- $\alpha$  seviyelerinin düştüğünü görebiliriz. Bu durum Meydani ve ark. (178) yaptığı çalışma ile paralel sonuçludur. Ancak Yine Meydani ve ark. (178) yaptığı çalışmada 24 aylık uzun periyotta plazma TNF- $\alpha$  seviyelerinin AL gruplarına göre anlamlı şekilde düştüğünü göstermişlerdir. Bu durum bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlarla uyuşmamaktadır. Tekrar tablo 21 incelenirse, KKK ve AKK kalori kısıtlaması modellerinde kısıtlamanın ikinci periyodunda yani 17 haftalık yaştan 50 haftalık yaşlara geçişte TNF- $\alpha$  seviyelerinin arttığını görmekteyiz. Bu durum insan ve hayvan metabolizması arası farklılıklarla ya da kısıtlama süresinin bizim çalışmamızda daha uzun tutulmasından kaynaklı değişen inflamasyon olaylarından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Yukarıda anlatılan bilgiler ışığında genel bir değerlendirme yapmak gerekirse, aynı hayvanlardan elde edilen sonuçlara dayanarak yaşlanmanın ilk periyodu olan 10 haftalık yaştan 17 haftalık yaşa geçişte yani 7 haftalık süreçte, inflamasyon olaylarında etkili olan IL-1 $\alpha$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  seviyeleri AKK besleme modelinde, AL ve KKK besleme modeline göre daha düşük seviyelerdedir. Bu durum tablo 16, 17 ve 21’de ki ilgili sitokinlerin tabloları incelenirse anlaşılabilir. Diğer yandan, tablo 18 incelendiğinde antiinflamatuvar etkili IL-10 seviyesindeki artış yani antiinflamatuvar cevap en yüksek yine AKK besleme gurubundadır.

Bununla beraber tablo 19 ve 20 incelendiğinde yine yaşlanmanın ilk periyodunda, AKK besleme modelinin, inflamatuvar etkili IL-13 ve MCP-1 seviyelerini azaltması açısından KKK besleme modeli kadar etkili olamadığını görmekteyiz. Çünkü, KKK besleme modelinde 10 haftalık yaştaki IL-13 ve MCP-1 seviyeleri sırası ile 17094,3 pg/ml ve 471,056 pg/ml iken, 7 hafta sonra KKK besleme modelinin uygulanması ile IL-13 seviyesi 23606,9 pg/ml düzeyine çıkarak yükselmiş, yani %38,09 artmıştır. MCP-1 seviyesi 281,661 pg/ml düzeyine düşerek alçalmış, yani %40,20 azalmıştır. AKK-K besleme modelinin uygulanması ile IL-13, 37114,6 pg/ml düzeyine çıkarak yükselmiş, yani %117,11 artmıştır. MCP-1 seviyesi 497,316 düzeyine çıkarak yükselmiş yani %5,57 artmıştır.



Yaşlanmanın ikinci periyodu olan 17 haftalık yaştan 50 haftalık yaşa geçişte tablo 17 ve 20 incelenirse ise inflamasyon olaylarında etkili IL-6 ve MCP-1 seviyelerinde ki azalma buna paralel olarak tablo 18 incelendiğinde IL-10 seviyelerinde ki artma KKK besleme modelinde AL ve AKK gruplarına kıyasla, daha fazla olduğu görülmektedir. (AL gurubu için; 17 haftalık yaştan 50 haftalık yaşa geçişte, serum IL-6 seviyesi 3487,73 pg/ml 'den 3966,49 pg/ml seviyesine yükselmiştir. Serum MCP-1 seviyesi 480,524 pg/ml'den 450,319 pg/ml seviyesine düşmüştür. Serum IL-10 7611,96 pg/ml'den 1734,45 pg/ml seviyesine düşmüştür. AKK-K gurubu için; 17 haftalık yaştan 50 haftalık yaşa geçişte, serum IL-6 seviyesi 2731,22 pg/ml'den 8089,89 pg/ml seviyesine yükselmiştir. Serum MCP-1 seviyesi 497,316 pg/ml'den 599,478 pg/ml seviyesine yükselmiştir. Serum IL-10 tekrar besleme periyodunda 9401,99 pg/ml'den 8233,89 pg/ml seviyesine düşmüştür. KKK gurubu için; 17 haftalık yaştan 50 haftalık yaşa geçişte, serum IL-6 seviyesi 8060,76 pg/ml seviyesinden 3697,01 seviyesine düşmüştür. Serum MCP-1 seviyesi 281,661 pg/ml'den 222,524 pg/ml seviyesine düşmüştür. Serum IL-10 3180,47 pg/ml 'den 4620,43 seviyesine yükselmiştir.) Buna karşılık tablo 16, 19 ve 21incelenirse IL-1 $\alpha$ , IL-13 ve TNF- $\alpha$  seviyelerinde en çok azalma AL ve KKK gruplarına kıyasla, AKK besleme gurubundadır.

Farklı hayvanlar için değerlendirme yapmak gerekirse;

Tablo 27 incelendiğinde, 17 haftalık yaşlarda yani erken dönem yaşlanmada, inflamasyon da etkili sitokin olan TNF- $\alpha$ 'nın serumdaki seviyelerinin, AKK-B besleme modeli gurubunda diğer besleme modellerine kıyasla, kontrol gurubuna göre artmadığını görmekteyiz. Aynı şekilde tablo 24 incelendiğinde IL-10 seviyelerinin en düşük olduğu gruplar yine AKK gruplarıdır. Buradaki IL-10 seviyesinde ki düşüklüğünün nedenini inflamasyon olaylarının azlığı ve buna karşı antiinflamatuvar yanıt verilmeyişi şeklinde de düşünebiliriz. Yani kısaca ne kadar az inflamasyon o kadar az antiinflamatuvar yanıt. Ancak bu tez çalışması yapılırken incelenen yayınlarda böyle bir sonuca ulaşabilen bir yayına rastlanmamıştır.

Şu ana kadar ki elde edilen veriler ve anlatılan bilgiler ışığında anlaşılan, inflamasyonun yaşlanmaya bağlı gerçekleştiği durumlarda Spaulding ve ark. (192) yaptığı çalışmada da belirtildiği üzere proinflamatuvar sitokin seviyelerinde artış söz konusudur. Bu artışın önüne geçmek ve antiinflamatuvar yanıt mekanizmalarını devreye sokmak için kalori kısıtlaması yapmak mümkün görünmektedir. Ancak kalori kısıtlaması yapılırken uygulanan yöntemlere göre ve uygulama periyoduna göre sitokin seviyelerinin farklı değerler aldığı da ortaya çıkmaktadır. Bu yüzden kalori kısıtlaması yaparken ilgi sitokinin

ya da seviyesi değiştirilmek istenen sitokinin karakterine veya türüne göre kalori kısıtlanması uygulamak daha uygun bir seçenek olabilir.

Tüm bunlar ile beraber veriler incelendiğinde gerek gruplardaki hayvan sayılarının yetersizliği gerekse geç dönem yaşlanmanın süresinin kısa tutulması kaynaklı olarak verilerin istatistiki olarak anlam taşımadıkları da dikkat çekicidir. Buradaki olayların daha detaylı ve tam olarak anlaşılabilmesi için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.



## 7. KAYNAKLAR

1. Cavaillon JM. Inflammation through the Ages: A Historical Perspective. *Inflammation: From Molecular and Cellular Mechanisms to the Clinic*. 2017;1-16.
2. Aggarwal BB, Gehlot P. Inflammation and cancer: how friendly is the relationship for cancer patients? *Current opinion in pharmacology*. 2009;9(4):351-369.
3. Aggarwal BB, Shishodia S, Sandur SK, Pandey MK, Sethi G. Inflammation and cancer: how hot is the link? *Biochemical pharmacology*. 2006;72(11):1605-1621.
4. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *The lancet*. 2001;357(9255):539-545.
5. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420(6917):860.
6. De Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nature reviews cancer*. 2006;6(1):24.
7. Federico A, Morgillo F, Tuccillo C, Ciardiello F, Loguercio C. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. *International Journal of Cancer*. 2007;121(11):2381-2386.
8. Eiró N, Vizoso FJ. Inflammation and cancer. *World journal of gastrointestinal surgery*. 2012;4(3):62.
9. Anand P, Kunnumakara AB, Sundaram C, et al. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharmaceutical research*. 2008;25(9):2097-2116.
10. Basu A, Devaraj S, Jialal I. Dietary factors that promote or retard inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2006;26(5):995-1001.
11. ÇEVİK BA, PİRİNÇCİ E. Beslenme ve Kanser. *Firat Tıp Dergisi*. 2017;22(1).
12. Hursting SD, Dunlap SM, Ford NA, Hursting MJ, Lashinger LM. Calorie restriction and cancer prevention: a mechanistic perspective. *Cancer & metabolism*. 2013;1(1):10.
13. Lindblad M, Rodríguez LAG, Lagergren J. Body mass, tobacco and alcohol and risk of esophageal, gastric cardia, and gastric non-cardia adenocarcinoma among men and women in a nested case-control study. *Cancer Causes & Control*. 2005;16(3):285-294.

14. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(1):175-184.
15. Michels KB, Ekbom A. Caloric restriction and incidence of breast cancer. *Jama*. 2004;291(10):1226-1230.
16. O'rouke RW. Inflammation in obesity-related diseases. *Surgery*. 2009;145(3):255-259.
17. Park EJ, Lee JH, Yu G-Y, et al. Dietary and genetic obesity promote liver inflammation and tumorigenesis by enhancing IL-6 and TNF expression. *Cell*. 2010;140(2):197-208.
18. Patel AV, Rodriguez C, Bernstein L, Chao A, Thun MJ, Calle EE. Obesity, recreational physical activity, and risk of pancreatic cancer in a large US Cohort. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2005;14(2):459-466.
19. Shacter E, Weitzman SA. Chronic inflammation and cancer. *ONCOLOGY-WILLISTON PARK THEN HUNTINGTON*-. 2002;16(2):217-229.
20. Subbaramaiah K, Howe LR, Bhardwaj P, et al. Obesity is associated with inflammation and elevated aromatase expression in the mouse mammary gland. *Cancer prevention research*. 2011;4(3):329-346.
21. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *The Journal of clinical investigation*. 2003;112(12):1796-1808.
22. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Basic immunology: functions and disorders of the immune system*. Elsevier Health Sciences; 2014.
23. Cho CH, Yu J. From inflammation to cancer. *Advances in Diagnosis and Therapy for Gastrointestinal and Hepatological Diseases*. 2012.
24. Chovatiya R, Medzhitov R. Stress, inflammation, and defense of homeostasis. *Molecular cell*. 2014;54(2):281-288.
25. Punchard NA, Whelan CJ, Adcock I. The journal of inflammation. In: BioMed Central; 2004.
26. Wallace KG. The pathophysiology of pain. *Critical care nursing quarterly*. 1992;15(2):1-13.
27. Sies H. Strategies of antioxidant defense. *European journal of biochemistry*. 1993;215(2):213-219.

28. Cole AL, Cole AM. The role of cationic polypeptides in modulating HIV-1 infection of the cervicovaginal mucosa. *Antibiotics*. 2014;3(4):677-693.
29. Tarte S, Takeuchi O. Pathogen recognition and toll-like receptor targeted therapeutics in innate immune cells. *International reviews of immunology*. 2017;36(2):57-73.
30. Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nature reviews immunology*. 2003;3(1):23.
31. Takabayashi T, Vannier E, Clark BD, et al. A new biologic role for C3a and C3a desArg: regulation of TNF-alpha and IL-1 beta synthesis. *The Journal of Immunology*. 1996;156(9):3455-3460.
32. Ley K, Laudanna C, Cybulsky MI, Nourshargh S. Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated. *Nature Reviews Immunology*. 2007;7(9):678.
33. van de Vijver E, van den Berg TK, Kuijpers TW. Leukocyte adhesion deficiencies. *Hematology/Oncology Clinics*. 2013;27(1):101-116.
34. Italiani P, Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation. *Frontiers in immunology*. 2014;5:514.
35. Wang N, Liang H, Zen K. Molecular mechanisms that influence the macrophage M1–M2 polarization balance. *Frontiers in immunology*. 2014;5:614.
36. Cirillo E, Giardino G, Gallo V, et al. Severe combined immunodeficiency—an update. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2015;1356(1):90-106.
37. Cunningham-Rundles C, Ponda PP. Molecular defects in T-and B-cell primary immunodeficiency diseases. *Nature reviews immunology*. 2005;5(11):880.
38. King JR, Hammarström L. Newborn screening for primary immunodeficiency diseases: history, current and future practice. *Journal of clinical immunology*. 2018;38(1):56-66.
39. Nardacci R, Ciccocanti F, Marsella C, Ippolito G, Piacentini M, Fimia G. Role of autophagy in HIV infection and pathogenesis. *Journal of internal medicine*. 2017;281(5):422-432.
40. Vaillant AAJ, Zito PM. Neutropenia. In: *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing; 2018.
41. Hubackova S, Kucerova A, Michlits G, et al. IFN $\gamma$  induces oxidative stress, DNA damage and tumor cell senescence via TGF $\beta$ /SMAD signaling-dependent induction of Nox4 and suppression of ANT2. *Oncogene*. 2016;35(10):1236.

42. Kelishadi R, Mirghaffari N, Poursafa P, Gidding SS. Lifestyle and environmental factors associated with inflammation, oxidative stress and insulin resistance in children. *Atherosclerosis*. 2009;203(1):311-319.
43. Hunter P. The inflammation theory of disease: The growing realization that chronic inflammation is crucial in many diseases opens new avenues for treatment. *EMBO reports*. 2012;13(11):968-970.
44. Kalelioğlu T, Genç A, Karamustafalıoğlu N. İki Uçlu Bozukluk ve İnflamasyon. *Journal of Mood Disorders*. 2017;7(1).
45. Gozal D. Sleep, sleep disorders and inflammation in children. *Sleep medicine*. 2009;10:S12-S16.
46. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*. 2014;105(2):141-150.
47. Kolb H, Mandrup-Poulsen T. The global diabetes epidemic as a consequence of lifestyle-induced low-grade inflammation. *Diabetologia*. 2010;53(1):10-20.
48. Marti A, Morell-Azanza L, Rendo-Urteaga T, et al. Serum and gene expression levels of CT-1, IL-6, and TNF- $\alpha$  after a lifestyle intervention in obese children. *Pediatric diabetes*. 2018;19(2):217-222.
49. GÜNER İ, ÖZMEN D, BAYINDIR O. Sitokinler. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 1997;17(2):65-74.
50. Kuralay F, Çavdar Z. İnflamatuar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Derg*. 2006;16(3):143-152.
51. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics-e-book*. Elsevier Health Sciences; 2012.
52. Plataniias LC, Vogelzang NJ. Interleukin-1: biology, pathophysiology, and clinical prospects. *The American journal of medicine*. 1990;89(5):621-629.
53. Peakman M, Vergani D. *Basic and Clinical Immunology E-Book*. Elsevier Health Sciences; 2009.
54. BAYKAL Y, KARAAHYVAZ M, KUTLU M. İnterlökinler. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 1998;18(2):77-84.
55. Carter A, Merchav S, Silvan-Draxler I, Tatarsky I. The role of interleukin-1 and tumour necrosis factor- $\alpha$  in human multiple myeloma. *British journal of haematology*. 1990;74(4):424-431.

56. Rosenzweig JM, Lei J, Burd I. Interleukin-1 receptor blockade in perinatal brain injury. *Frontiers in pediatrics*. 2014;2:108.
57. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2014;a016295.
58. Kishimoto T, Tanaka T. Interleukin 6. *Encyclopedia of Inflammatory Diseases*. 2015:1-8.
59. Zhang X, Klein B, Bataille R. Interleukin-6 is a potent myeloma-cell growth factor in patients with aggressive multiple myeloma. *Blood*. 1989;74(1):11-13.
60. Dvorak K, Dvorak B. Role of interleukin-6 in Barrett's esophagus pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2013;19(15):2307.
61. Moore KW, Vieira P, Fiorentino DF, Trounstein ML, Khan TA, Mosmann TR. Homology of cytokine synthesis inhibitory factor (IL-10) to the Epstein-Barr virus gene BCRF1. *Science*. 1990;248(4960):1230-1234.
62. Wakkach A, Cottrez F, Groux H. Can interleukin-10 be used as a true immunoregulatory cytokine? *European cytokine network*. 2000;11(2):153-160.
63. Changkija B, Konwar R. Role of interleukin-10 in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2012;133(1):11-21.
64. Arock M, Zuany-Amorim C, Singer M, Benhamou M, Pretolani M. Interleukin-10 inhibits cytokine generation from mast cells. *European journal of immunology*. 1996;26(1):166-170.
65. Lu Z-Y, Gu Z-J, Zhang X-G, et al. Interleukin-10 induces interleukin-11 responsiveness in human myeloma cell lines. *FEBS letters*. 1995;377(3):515-518.
66. Spittler A, Schiller C, Willheim M, Tempfer C, Winkler S, Boltz-Nitulescu G. IL-10 augments CD23 expression on U937 cells and down-regulates IL-4-driven CD23 expression on cultured human blood monocytes: effects of IL-10 and other cytokines on cell phenotype and phagocytosis. *Immunology*. 1995;85(2):311.
67. Berti FCB, Pereira APL, Cebinelli GCM, Trugilo KP, de Oliveira KB. The role of interleukin 10 in human papilloma virus infection and progression to cervical carcinoma. *Cytokine & growth factor reviews*. 2017;34:1-13.
68. Minty A, Chalon P, Derocq J-M, et al. Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. *Nature*. 1993;362(6417):248.
69. Rael EL, Lockey RF. Interleukin-13 signaling and its role in asthma. *World Allergy Organization Journal*. 2011;4(3):54.

70. Suzuki A, Leland P, Joshi BH, Puri RK. Targeting of IL-4 and IL-13 receptors for cancer therapy. *Cytokine*. 2015;75(1):79-88.
71. Viale G, Vercelli D. Interleukin-13 Regulates the Phenotype and Function of Human Monocytes. *International archives of allergy and immunology*. 1995;107(1-3):176-178.
72. Zurawski G, de Vries JE. Interleukin 13, an interleukin 4-like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells. *Immunology today*. 1994;15(1):19-26.
73. Lind M, Deleuran B, Yssel H, Fink-Eriksen E, Thestrup-Pedersen K. IL-4 and IL-13, but not IL-10, are chemotactic factors for human osteoblasts. *Cytokine*. 1995;7(1):78-82.
74. Şenel S, Kılıçkap S. Anti-tümör nekrozis faktör tedavisi ve kanser. *Cumhuriyet Medical Journal*. 2010;32(1):132-136.
75. Sethi G, Sung B, Aggarwal BB. TNF: a master switch for inflammation to cancer. *Front Biosci*. 2008;13(2):5094-5107.
76. Wu Y-d, Zhou B. TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B/Snail pathway in cancer cell migration and invasion. *British journal of cancer*. 2010;102(4):639.
77. Mathew SJ, Haubert D, Krönke M, Leptin M. Looking beyond death: a morphogenetic role for the TNF signalling pathway. *J Cell Sci*. 2009;122(12):1939-1946.
78. Saji H, Koike M, Yamori T, et al. Significant correlation of monocyte chemoattractant protein-1 expression with neovascularization and progression of breast carcinoma. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 2001;92(5):1085-1091.
79. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*. 2010;140(6):883-899.
80. Capece D, Verzella D, Tessitore A, Alesse E, Capalbo C, Zazzeroni F. Cancer secretome and inflammation: The bright and the dark sides of NF- $\kappa$ B. Paper presented at: Seminars in cell & developmental biology 2017.
81. Grivennikov SI, Karin M. Dangerous liaisons: STAT3 and NF- $\kappa$ B collaboration and crosstalk in cancer. *Cytokine & growth factor reviews*. 2010;21(1):11-19.
82. Karin M. Nuclear factor- $\kappa$ B in cancer development and progression. *Nature*. 2006;441(7092):431.



83. Karin M, Cao Y, Greten FR, Li Z-W. NF- $\kappa$ B in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nature reviews cancer*. 2002;2(4):301.
84. Karin M, Greten FR. NF- $\kappa$ B: linking inflammation and immunity to cancer development and progression. *Nature Reviews Immunology*. 2005;5(10):749.
85. Luo J-L, Kamata H, Karin M. IKK/NF- $\kappa$ B signaling: balancing life and death—a new approach to cancer therapy. *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(10):2625-2632.
86. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008;454(7203):436.
87. Yamamoto Y, Gaynor RB. Therapeutic potential of inhibition of the NF- $\kappa$ B pathway in the treatment of inflammation and cancer. *The Journal of clinical investigation*. 2001;107(2):135-142.
88. Lewis AM, Varghese S, Xu H, Alexander HR. Interleukin-1 and cancer progression: the emerging role of interleukin-1 receptor antagonist as a novel therapeutic agent in cancer treatment. *Journal of translational medicine*. 2006;4(1):48.
89. Felix CE, Ehigiator IF, Chinedum CF. Pro-Inflammatory Cytokines (TNF- $\alpha$  and IL-1) in Nigerian Women with Breast Cancer. *Open Journal of Immunology*. 2018;8(02):13.
90. Holen I, Lefley DV, Francis SE, et al. IL-1 drives breast cancer growth and bone metastasis in vivo. *Oncotarget*. 2016;7(46):75571.
91. Singer CF, Kronsteiner N, Hudelist G, et al. Interleukin 1 system and sex steroid receptor expression in human breast cancer: interleukin 1 $\alpha$  protein secretion is correlated with malignant phenotype. *Clinical cancer research*. 2003;9(13):4877-4883.
92. Taniguchi K, Karin M. IL-6 and related cytokines as the critical lynchpins between inflammation and cancer. Paper presented at: Seminars in immunology2014.
93. Bekalp İ, Arslan B, Yıldırım D, Tamer L, Çolak T, Aras N. İnterlökin-6 ve interlökin-18 gen polimorfizmlerinin ve plazma düzeylerinin kolorektal kanser ile ilişkisi. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2014;7(2):35-46.
94. Fisher DT, Appenheimer MM, Evans SS. The two faces of IL-6 in the tumor microenvironment. Paper presented at: Seminars in immunology2014.

95. Yao X, Huang J, Zhong H, et al. Targeting interleukin-6 in inflammatory autoimmune diseases and cancers. *Pharmacology & therapeutics*. 2014;141(2):125-139.
96. Cozen W, Gill PS, Ingles SA, et al. IL-6 levels and genotype are associated with risk of young adult Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2004;103(8):3216-3221.
97. Gadó K, Silva S, Pálóczi K, Domján G, Falus A. Mouse plasmacytoma: an experimental model of human multiple myeloma. *haematologica*. 2001;86(3):227-236.
98. Nguyen DP, Li J, Tewari AK. Inflammation and prostate cancer: the role of interleukin 6 (IL-6). *BJU international*. 2014;113(6):986-992.
99. Mauer J, Denson JL, Brüning JC. Versatile functions for IL-6 in metabolism and cancer. *Trends in immunology*. 2015;36(2):92-101.
100. Naugler WE, Sakurai T, Kim S, et al. Gender disparity in liver cancer due to sex differences in MyD88-dependent IL-6 production. *Science*. 2007;317(5834):121-124.
101. Akther S, Noman ASM, Nayeem J, et al. Serum Sonic hedgehog (Shh) and interleukin-(IL-6) as dual prognostic biomarkers in progressive metastatic breast cancer. In: AACR; 2017.
102. Ma Y, Ren Y, Dai Z-J, Wu C-J, Ji Y-H, Xu J. IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  levels correlate with disease stage in breast cancer patients. *Adv Clin Exp Med*. 2017;26(3):421-426.
103. Hoentjen F, Sartor RB, Ozaki M, Jobin C. STAT3 regulates NF- $\kappa$ B recruitment to the IL-12p40 promoter in dendritic cells. *Blood*. 2005;105(2):689-696.
104. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual review of immunology*. 2001;19(1):683-765.
105. Pestka S, Krause CD, Sarkar D, Walter MR, Shi Y, Fisher PB. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:929-979.
106. Schottelius AJ, Mayo MW, Sartor RB, Baldwin AS. Interleukin-10 signaling blocks inhibitor of  $\kappa$ B kinase activity and nuclear factor  $\kappa$ B DNA binding. *Journal of Biological Chemistry*. 1999;274(45):31868-31874.
107. Erdman SE, Rao VP, Poutahidis T, et al. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory lymphocytes require interleukin 10 to interrupt colon carcinogenesis in mice. *Cancer research*. 2003;63(18):6042-6050.

108. Erdman SE, Sohn JJ, Rao VP, et al. CD4+ CD25+ regulatory lymphocytes induce regression of intestinal tumors in ApcMin/+ mice. *Cancer research*. 2005;65(10):3998-4004.
109. Lin W-W, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(5):1175-1183.
110. Vicari AP, Trinchieri G. Interleukin-10 in viral diseases and cancer: exiting the labyrinth? *Immunological reviews*. 2004;202(1):223-236.
111. Blankenstein T. The role of tumor stroma in the interaction between tumor and immune system. *Current opinion in immunology*. 2005;17(2):180-186.
112. Kundu N, Fulton AM. Interleukin-10 inhibits tumor metastasis, downregulates MHC class I, and enhances NK lysis. *Cellular immunology*. 1997;180(1):55-61.
113. Pinzon-Charry A, Maxwell T, López JA. Dendritic cell dysfunction in cancer: a mechanism for immunosuppression. *Immunology and cell biology*. 2005;83(5):451-461.
114. Kundu N, Dorsey R, Jackson MJ, et al. Interleukin-10 gene transfer inhibits murine mammary tumors and elevates nitric oxide. *International journal of cancer*. 1998;76(5):713-719.
115. Dorsey R, Kundu N, Yang Q, et al. Immunotherapy with interleukin-10 depends on the CXC chemokines inducible protein-10 and monokine induced by IFN- $\gamma$ . *Cancer research*. 2002;62(9):2606-2610.
116. Giovarelli M, Musiani P, Modesti A, et al. Local release of IL-10 by transfected mouse mammary adenocarcinoma cells does not suppress but enhances antitumor reaction and elicits a strong cytotoxic lymphocyte and antibody-dependent immune memory. *The Journal of Immunology*. 1995;155(6):3112-3123.
117. Kozłowski L, Zakrzewska I, Tokajuk P, Wojtukiewicz M. Concentration of interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) and interleukin-10 (IL-10) in blood serum of breast cancer patients. *Roczniki Akademii Medycznej w Białymstoku (1995)*. 2003;48:82-84.
118. Joimel U, Gest C, Soria J, et al. Stimulation of angiogenesis resulting from cooperation between macrophages and MDA-MB-231 breast cancer cells: proposed molecular mechanism and effect of tetrathiomolybdate. *BMC cancer*. 2010;10(1):375.

119. Mohamed HT, El-Husseiny N, El-Ghonaimy EA, et al. IL-10 correlates with the expression of carboxypeptidase B2 and lymphovascular invasion in inflammatory breast cancer: The potential role of tumor infiltrated macrophages. *Current problems in cancer*. 2018;42(2):215-230.
120. Yang C, He L, He P, et al. Increased drug resistance in breast cancer by tumor-associated macrophages through IL-10/STAT3/bcl-2 signaling pathway. *Medical oncology*. 2015;32(2):14.
121. Mannino MH, Zhu Z, Xiao H, Bai Q, Wakefield MR, Fang Y. The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer. *Cancer letters*. 2015;367(2):103-107.
122. DeNardo DG, Barreto JB, Andreu P, et al. CD4+ T cells regulate pulmonary metastasis of mammary carcinomas by enhancing protumor properties of macrophages. *Cancer cell*. 2009;16(2):91-102.
123. Kwon HJ, Choi JE, Bae YK. Interleukin-13 receptor alpha 2 expression in tumor cells is associated with reduced disease-free survival in patients with luminal subtype invasive breast cancer. *Tumor Biology*. 2018;40(6):1010428318783657.
124. Venmar KT, Carter KJ, Hwang DG, Dozier EA, Fingleton B. IL-4 receptor ILR4 $\alpha$  regulates metastatic colonization by mammary tumors through multiple signaling pathways. *Cancer research*. 2014;canres. 0093.2014.
125. McCormick SM, Heller NM. Commentary: IL-4 and IL-13 receptors and signaling. *Cytokine*. 2015;75(1):38-50.
126. Terabe M, Park JM, Berzofsky JA. Role of IL-13 in regulation of anti-tumor immunity and tumor growth. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2004;53(2):79-85.
127. Srabovic N, Mujagic Z, Mujanovic-Mustedanagic J, Muminovic Z, Softic A, Begic L. Interleukin 13 expression in the primary breast cancer tumor tissue. *Biochemia medica: Biochemia medica*. 2011;21(2):131-138.
128. Lin W-J, Yeh W-C. Implication of Toll-like receptor and tumor necrosis factor  $\alpha$  signaling in septic shock. *Shock*. 2005;24(3):206-209.
129. Luo J-L, Maeda S, Hsu L-C, Yagita H, Karin M. Inhibition of NF- $\kappa$ B in cancer cells converts inflammation-induced tumor growth mediated by TNF $\alpha$  to TRAIL-mediated tumor regression. *Cancer cell*. 2004;6(3):297-305.
130. Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. Radical causes of cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2003;3(4):276.

131. Arnott CH, Scott KA, Moore RJ, Robinson SC, Thompson RG, Balkwill FR. Expression of both TNF- $\alpha$  receptor subtypes is essential for optimal skin tumour development. *Oncogene*. 2004;23(10):1902.
132. Pikarsky E, Porat RM, Stein I, et al. NF- $\kappa$ B functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer. *Nature*. 2004;431(7007):461.
133. Yu P, Huang Y, Han Y, et al. TNF $\alpha$ -activated mesenchymal stromal cells promote breast cancer metastasis by recruiting CXCR2+ neutrophils. *Oncogene*. 2017;36(4):482.
134. Watanabe N, Niitsu Y, Neda H, et al. Cytotoxic mechanism of TNF: effects of lysosomal enzyme and hydroxyl radical inhibitors on cytotoxicity. *Immunopharmacology and immunotoxicology*. 1988;10(1):109-116.
135. Wang K, Ren Y, Liu Y, Zhang J, He J-j. Tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ -induced protein 8-like-2 (TIPE2) inhibits proliferation and tumorigenesis in breast cancer cells. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*. 2017;25(1):55-63.
136. Korobeinikova E, Myrzaliyeva D, Ugenskiene R, et al. The prognostic value of IL10 and TNF alpha functional polymorphisms in premenopausal early-stage breast cancer patients. *BMC genetics*. 2015;16(1):70.
137. Watanabe N, Niitsu Y, Umeno H, et al. Toxic effect of tumor necrosis factor on tumor vasculature in mice. *Cancer research*. 1988;48(8):2179-2183.
138. Spriggs D, Imamura K, Rodriguez C, Horiguchi J, Kufe D. Induction of tumor necrosis factor expression and resistance in a human breast tumor cell line. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1987;84(18):6563-6566.
139. Pollard JW. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. *Nature Reviews Cancer*. 2004;4(1):71.
140. Nabors LB, Suswam E, Huang Y, Yang X, Johnson MJ, King PH. Tumor necrosis factor  $\alpha$  induces angiogenic factor up-regulation in malignant glioma cells: a role for RNA stabilization and HuR. *Cancer Research*. 2003;63(14):4181-4187.
141. Brown E, Charles K, Hoare S, et al. A clinical study assessing the tolerability and biological effects of infliximab, a TNF- $\alpha$  inhibitor, in patients with advanced cancer. *Annals of oncology*. 2008;19(7):1340-1346.
142. Harrison ML, Obermueller E, Maisey NR, et al. Tumor necrosis factor  $\alpha$  as a new target for renal cell carcinoma: two sequential phase II trials of infliximab at standard and high dose. *Journal of Clinical Oncology*. 2007;25(29):4542-4549.

143. Moore RJ, Owens DM, Stamp G, et al. Mice deficient in tumor necrosis factor- $\alpha$  are resistant to skin carcinogenesis. *Nature medicine*. 1999;5(7):828.
144. Ardestani S. *New insights into tumor necrosis factor-alpha in cancer: Distinct isoforms exert opposing effects on tumor associated myeloid cells and tumorigenesis*. Vanderbilt University; 2013.
145. Lim SY, Yuzhalin AE, Gordon-Weeks AN, Muschel RJ. Targeting the CCL2-CCR2 signaling axis in cancer metastasis. *Oncotarget*. 2016;7(19):28697.
146. Fang WB, Yao M, Brummer G, et al. Targeted gene silencing of CCL2 inhibits triple negative breast cancer progression by blocking cancer stem cell renewal and M2 macrophage recruitment. *Oncotarget*. 2016;7(31):49349.
147. Lavender N, Yang J, Chen S-C, et al. The Yin/Yan of CCL2: a minor role in neutrophil anti-tumor activity in vitro but a major role on the outgrowth of metastatic breast cancer lesions in the lung in vivo. *BMC cancer*. 2017;17(1):88.
148. Jurk D, Wilson C, Passos JF, et al. Chronic inflammation induces telomere dysfunction and accelerates ageing in mice. *Nature communications*. 2014;5:4172.
149. Leonardi GC, Accardi G, Monastero R, Nicoletti F, Libra M. Ageing: from inflammation to cancer. *Immunity & Ageing*. 2018;15(1):1.
150. Scuric Z, Carroll JE, Bower JE, et al. Biomarkers of aging associated with past treatments in breast cancer survivors. *NPJ breast cancer*. 2017;3(1):50.
151. Tchkonina T, Morbeck DE, Von Zglinicki T, et al. Fat tissue, aging, and cellular senescence. *Aging cell*. 2010;9(5):667-684.
152. Chung HY, Cesari M, Anton S, et al. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing research reviews*. 2009;8(1):18-30.
153. Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*. 2014;69(Suppl\_1):S4-S9.
154. Pawelec G, Goldeck D, Derhovanessian E. Inflammation, ageing and chronic disease. *Current opinion in immunology*. 2014;29:23-28.
155. Bauer ME, Jeckel CMM, Luz C. The role of stress factors during aging of the immune system. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2009;1153(1):139-152.
156. López-Lluch G, Navas P. Calorie restriction as an intervention in ageing. *The Journal of physiology*. 2016;594(8):2043-2060.

157. Xia S, Zhang X, Zheng S, et al. An update on inflamm-aging: mechanisms, prevention, and treatment. *Journal of immunology research*. 2016;2016.
158. Minciullo PL, Catalano A, Mandraffino G, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: the role of cytokines in extreme longevity. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*. 2016;64(2):111-126.
159. Ishaq A, Schröder J, Edwards N, von Zglinicki T, Saretzki G. Dietary Restriction Ameliorates Age-Related Increase in DNA Damage, Senescence and Inflammation in Mouse Adipose Tissue. *The journal of nutrition, health & aging*. 2018;22(4):555-561.
160. Pangrazzi L, Meryk A, Naismith E, et al. "Inflamm-aging" influences immune cell survival factors in human bone marrow. *European journal of immunology*. 2017;47(3):481-492.
161. Scherer PE. Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. *Diabetes*. 2006;55(6):1537-1545.
162. Mancuso P. The role of adipokines in chronic inflammation. *ImmunoTargets and therapy*. 2016;5:47.
163. Canello R, Henegar C, Viguerie N, et al. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss. *Diabetes*. 2005;54(8):2277-2286.
164. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *Journal of lipid research*. 2005;46(11):2347-2355.
165. Hursting SD, Berger NA. Energy balance, host-related factors, and cancer progression. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(26):4058.
166. Kanda H, Tateya S, Tamori Y, et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(6):1494-1505.
167. Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 2001;280(5):E745-E751.
168. Masoodi M, Kuda O, Rossmeisl M, Flachs P, Kopecky J. Lipid signaling in adipose tissue: Connecting inflammation & metabolism. *Biochimica et*

- Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2015;1851(4):503-518.
169. Murano I, Barbatelli G, Parisani V, et al. Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice. *Journal of lipid research*. 2008;49(7):1562-1568.
170. Olefsky JM, Glass CK. Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annual review of physiology*. 2010;72:219-246.
171. Pang C, Gao Z, Yin J, Zhang J, Jia W, Ye J. Macrophage infiltration into adipose tissue may promote angiogenesis for adipose tissue remodeling in obesity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2008;295(2):E313-E322.
172. Suganami T, Ogawa Y. Adipose tissue macrophages: their role in adipose tissue remodeling. *Journal of leukocyte biology*. 2010;88(1):33-39.
173. Van Kruijsdijk RC, van der Wall E, Visseren FL. Obesity and cancer: the role of dysfunctional adipose tissue. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. 2009;1055-9965. EPI-1009-0372.
174. Xu H, Barnes GT, Yang Q, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*. 2003;112(12):1821-1830.
175. Senichkin V, Kopeina G, Zamaraev A, Lavrik I, Zhivotovsky B. Nutrient restriction in combinatory therapy of tumors. *Molecular Biology*. 2016;50(3):362-378.
176. Fenton JI, Nunez N, Yakar S, Perkins S, Hord N, Hursting S. Diet-induced adiposity alters the serum profile of inflammation in C57BL/6N mice as measured by antibody array. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2009;11(4):343-354.
177. Olivo-Marston SE, Hursting SD, Perkins SN, et al. Effects of calorie restriction and diet-induced obesity on murine colon carcinogenesis, growth and inflammatory factors, and microRNA expression. *PloS one*. 2014;9(4):e94765.
178. Meydani SN, Das SK, Pieper CF, et al. Long-term moderate calorie restriction inhibits inflammation without impairing cell-mediated immunity: a randomized controlled trial in non-obese humans. *Aging (Albany NY)*. 2016;8(7):1416.
179. Lettieri-Barbato D, Giovannetti E, Aquilano K. Effects of dietary restriction on adipose mass and biomarkers of healthy aging in human. *Aging (Albany NY)*. 2016;8(12):3341.



180. Dogan S, Ray A, Cleary MP. The influence of different calorie restriction protocols on serum pro-inflammatory cytokines, adipokines and IGF-I levels in female C57BL6 mice: short term and long term diet effects. *Meta gene*. 2017;12:22-32.
181. Carlson AJ, Hoelzel F. Apparent prolongation of the life span of rats by intermittent fasting: one figure. *The Journal of nutrition*. 1946;31(3):363-375.
182. Engelman RW, Day NK, Chen R-F, et al. Calorie consumption level influences development of C3H/Ou breast adenocarcinoma with indifference to calorie source. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1990;193(1):23-30.
183. Zhu Z, Jiang W, Thompson HJ. An experimental paradigm for studying the cellular and molecular mechanisms of cancer inhibition by energy restriction. *Molecular Carcinogenesis: Published in cooperation with the University of Texas MD Anderson Cancer Center*. 2002;35(2):51-56.
184. Dogan S, Rogozina OP, Lokshin AE, Grande JP, Cleary MP. Effects of chronic vs. intermittent calorie restriction on mammary tumor incidence and serum adiponectin and leptin levels in MMTV-TGF- $\alpha$  mice at different ages. *Oncology letters*. 2010;1(1):167-176.
185. Cleary M, Grande J, Maihle NJ. Effect of high fat diet on body weight and mammary tumor latency in MMTV-TGF- $\alpha$  mice. *International journal of obesity*. 2004;28(8):956.
186. Matsui Y, Halter SA, Holt JT, Hogan BL, Coffey RJ. Development of mammary hyperplasia and neoplasia in MMTV-TGF $\alpha$  transgenic mice. *Cell*. 1990;61(6):1147-1155.
187. Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics*. 2010;1(2):87.
188. Castillo L, MacCallum DM. Cytokine measurement using cytometric bead arrays. In: *Host-Fungus Interactions*. Springer; 2012:425-434.
189. de Jager W, Bourcier K, Rijkers GT, Prakken BJ, Seyfert-Margolis V. Prerequisites for cytokine measurements in clinical trials with multiplex immunoassays. *BMC immunology*. 2009;10(1):52.

190. Trune DR, Larrain BE, Hausman FA, Kempton JB, MacArthur CJ. Simultaneous measurement of multiple ear proteins with multiplex ELISA assays. *Hearing research*. 2011;275(1-2):1-7.
191. Hursting SD, Smith SM, Lashinger LM, Harvey AE, Perkins SN. Calories and carcinogenesis: lessons learned from 30 years of calorie restriction research. *Carcinogenesis*. 2009;31(1):83-89.
192. Spaulding CC, Walford RL, Effros RB. Calorie restriction inhibits the age-related dysregulation of the cytokines TNF- $\alpha$  and IL-6 in C3B10RF1 mice. *Mechanisms of ageing and development*. 1997;93(1-3):87-94.
193. Willette A, Coe C, Birdsill A, et al. Interleukin-8 and interleukin-10, brain volume and microstructure, and the influence of calorie restriction in old rhesus macaques. *Age*. 2013;35(6):2215-2227.
194. Redman LM, Tam CS, Covington JD, Ravussin E. Little evidence of systemic and adipose tissue inflammation in overweight individuals. *Frontiers in genetics*. 2012;3:58.

## 8. EKLER

### 8.1. Özgeçmiş

#### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	İLKER	<b>Soyadı</b>	ÇOBAN
<b>Doğum Yeri</b>	AMASYA	<b>Doğum Tarihi</b>	26/03/1986
<b>Uyruğu</b>	T.C	<b>TC Kimlik No</b>	20554280994
<b>E-mail</b>	İlker.cobantd.yeditepe.edu.tr	<b>Tel</b>	(+90) 538 984 49 98

#### Öğrenim Durumu

Derece	Alan	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
<b>Doktora</b>			
<b>Yüksek Lisans</b>	VETERİNER HEKİM	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ	2016
<b>Lisans</b>	VETERİNER HEKİM	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ	2016
<b>Lise</b>	SAYISAL	AMASYA ANADOLU LİSESİ	2004

Bildiği Yabancı Dilleri	Yabancı Dil Sınav Notu (#)
İNGİLİZCE	
ALMANCA	

# Başarılmış birden fazla sınav varsa (KPDS, ÜDS, TOEFL; EELTS vs), tüm sonuçlar yazılmalıdır

#### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
ARAŞTIRMA ASİSTANI	YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ	2015-2018
ARAŞTIRMA ASİSTANI	İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ	2006-2010

#### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MULTIPLEX	ÇOK İYİ
GRAPHPADPRISM	ÇOK İYİ
IMAGEJ	ÇOK İYİ
MS OFFICE	ÇOK İYİ
MATLAB	ORTA
SPSS	ORTA
APE	ORTA

LINUX (openSUSE, Ubuntu)	ORTA
ENDNOTE	ÇOK İYİ
MAC OS	ÇOK İYİ
WINDOWS OS	ÇOK İYİ
PARDUS OS	ORTA

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

### **Bilimsel Çalışmaları**

#### **SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler**

<b>Coban, I.</b> , Topcuoglu, A., Albayrak, M., Erman, H., Balci, H., Uzun, H. (2014 Apr). "Effects of hormone replacement therapy on plasma and tissue fibrinolytic activity in a rat model of surgically induced menopause. " Clin. Invest. Med.,1;37(2): E85-92.
<b>Coban, I.</b> , Topcuoglu, A., Albayrak, M., Erman, H., Balci, H., Uzun, H. (2009 Apr). "Effects of estrogens on oxidative protein damage in plasma and tissues in ovariectomized rats." Clin. Invest. Med., 1;32(2): E133-43.

#### **Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler**

<b>Coban, I.</b> , Cicekdal, B., Guvenc Tuna, B., Aydın, A., Dogan, S. (2016, October) "Effects of Different Diet Types on DNA Damage and Inflammation in Breast Cancer" 6 <sup>th</sup> Congress of The Multidisciplinary Cancer Research, Konya, Turkey
<b>Coban, I.</b> , Topcuoglu, A., Albayrak, M., Erman, H., Balci, H., Uzun, H. (2010, May). " Effects of estrogens on oxidative protein damage in plasma and tissues in ovariectomized rats" 12th International Veterinary Medicine Students Scientific Research Congress, Istanbul, Turkey
<b>Coban, I.</b> , Ayan, S., Bayrak, I., Ayan, F., Altug, T. (2009, May). "Effects of Lycopene on Passive Smoker Rats About Learning, Behaving and Growing" 9th International Veterinary Medicine Students Scientific Research Congress, Istanbul, Turkey.
<b>Coban, I.</b> , Yetmen, O., Guzel, E., Karaca, C., Elicin, O., Suzer, O., Bese, N. (2009, Nov). "Sıçanlarda Göğüs Bölgesinde Radyoterapiyle Birlikte Lapatinip Kullanılması Toksikiteyi Belirgin Artırıyor" 20th International Pharmacology Congress, Antalya, Turkey

#### **Hakemli konferans/sempozyumların bildiri kitaplarında yer alan yayınlar**

<b>İlker Çoban.</b> , Soner Dogan., M. Burcu Cicekdal., Bayram Yılmaz., Bilge G. Tuna. (2017, October) "Effects of Calorie Restriction in Aging Process in Mouse Model" IUBMB Focused Meeting on «Molecular aspects of aging and longevity», Athens, Greece
---

<i>Coban, I.</i> , Cicekdal, B., Guvenc Tuna, B., Aydın, A., Dogan, S. (2016) “Effects of Different Diet Types on DNA Damage and Inflammation in Breast Cancer” Turkish Journal of Biochemistry, 6 <sup>th</sup> Multidisciplinary Cancer Research Congress., Congress Book. S-041, V-41.
<i>Coban, I.</i> , Yetmen, O., Guzel, E., Karaca, C., Elicin, O., Suzer, O., Bese, N. (2011) " Does lapatinib increase pulmonary toxicity when concurrently used with radiation therapy- An experimental study with Wistar albino rats." ASCO Annual Meeting., J Clin. Oncol. 29: 2011 (suppl; abstr. e11136)

### **Diğer (Görev Aldığı Projeler/Sertifikalari/Ödülleri)**

Training School of the COST Action CM1406 on “Epigenetic Chemical Biology (EPICHEMbio)-Fraunhofer Institute, Hamburg, Germany”
Short Term Scientific Mission (COST-STSM-ECOST-BM1402, Human Genome Research Centre, Institute of Biosciences, Vilnius University, Vilnius, Lithuania)
Certificate of Participation “qRT-PCR Workshop” (2016 Oct)., Selcuk University, Konya, Turkey
Certificate of Participation “Comet Assay Workshop” (2016 Oct)., Selcuk University, Konya, Turkey
Certificate of Participation “Western Blot Workshop” (2016 Oct)., Selcuk University, Konya, Turkey
Certificate of Participation “Basic Excel Education” (2016 Nov)., BilgeAdam Academy (Microsoft Partner), Istanbul, Turkey
Certificate of Participation “Advanced Photoshop” (2016 Nov)., WORLD OF Royal Academy (WORA), Istanbul, Turkey
Certificate of Participation “1 <sup>st</sup> Pharmacogenomics Istanbul Summit-Increasing the Safety and Effectiveness of Personalized Therapy for Metabolic Disorders” (2015 Nov)., Hilton Kozyatagi, Istanbul, Turkey
Certificate of Participation " Introduction to Clicker Training Course -Dog Trust " (2011 May)., Bakirkoy Municipality Department of Veterinary Medicine
Training School "The Scientific and Technological Research Council of Turkey" (2009 Aug)., Gebze, Turkey
Certificate of Participation " 11th International Veterinary Medicine Students Scientific Research Congress" (2009 May)., Istanbul University Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul, Turkey
Certificate of Participation "9th International Veterinary Medicine Students Scientific Research Congress" (2009 May)., Istanbul University Faculty of Veterinary Medicine, Istanbul, Turkey

Training School " Istanbul University Experimental Medicine Research Institute Department of Molecular Medicine" (2008 March).
Certificate of Participation "Animal Use in Experimental Research -16 Hours Theoretical." (2007 Jan)., Istanbul University Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul, Turkey
Certificate of Participation "Animal Use in Experimental Research -80 Hours Practical." (2007 Jan). Istanbul University Cerrahpasa Medical Faculty, Istanbul, Turkey
EĞİTİM BURSUSU (TUBİTAK, 114S129)
SÖZLÜ SUNUM PLAKETİ (XII. International Veterinary Medicine Students Scientific Research Congress)
ÜSTÜN BAŞARI BURSUSU (TÜRK EĞİTİM VAKFI-2 KEZ)

## 8.2. Etik Kurul Raporu



### T.C. YEDİTEPE ÜNİVERSİTESİ, DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU (YÜDİHEK)

#### ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Karar No	İlgi	Proje Yürütücüsü
14.07.2014	406	01.07.2014 Tarihli Yazı	Yrd. Doç.Dr. Soner DOĞAN

“MMTV-TGF- $\alpha$  Farelerde Farklı Şekillerde Uygulanan Kalori Kısıtlaması ile Meme Tümörü Gelişiminin Önlenmesinde Pro-inflammatuar Sitokinlerin Rollerinin Araştırılması.” adlı bilimsel çalışma etik kurulumuzda görüşülmüş olup, çalışmanın etik kurallara uygun olduğuna oy birliğiyle karar verilmiştir.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 2 Yıl

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. M. Ece GENÇ	
Başkan Yardımcısı	Prof. Dr. Erdem YEŞİLADA	
Raportör	Prof. Dr. Işıl Aksan KURNAZ	
Üye	Prof. Dr. Bayram YILMAZ	KATILMADI
Üye	Prof. Dr. Başar ATALAY	
Üye	Yard.Doç.Dr.Soner DOĞAN	KATILMADI
Üye	Yard. Doç. Dr. Ediz DENİZ	KATILMADI
Üye	Doç. Dr. C. Narter YEŞİLDAĞLAR	KATILMADI
Üye	Sumru KIRAZCI	