

KLİNİK ÇALIŞMA

Makrofaj migrasyon inhibitör faktör (*MIF*) geni -173 G>C polimorfizminin koroner arter hastalığı ve tip 2 diyabet ile ilişkisi

Macrophage migration inhibitory factor (*MIF*) gene -173 G>C polymorphism and its relationship to coronary artery disease and type 2 diabetes

Dr. Neslihan Çoban,¹ Dr. Aycan Fahri Erkan,² Dr. Berkay Ekici,² Dr. Maide Kaşit,¹
Dr. Nihan Erginel Ünalıtuna,¹ Dr. Eren Vurgun¹

¹İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul

²Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

ÖZET

Amaç: Yapılan son çalışmalar, makrofaj migrasyon inhibitör faktörünün (*MIF*) ateroskleroz sırasında enflamatuvar süreçte aracılık eden güçlü bir proenflamatuvar sitokin olduğunu göstermektedir. Bu çalışmadaki amacımız, koroner arter hastalığı (KAH) olan ve KAH olmayan bireylerde *MIF* gen polimorfizmi ve tip 2 diyabetes mellitus (T2DM) arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Yöntemler: Seçilmemiş 259 Türk hasta, anlamlı KAH (%50–100 stenoz bulunan koroner lezyon) ve kontrol (<%30 stenozlu koroner lezyon) grupları, Real-Time PCR LightCycler 480 cihazında hibridizasyon problemleri kullanılarak *MIF* rs755622 polimorfizimleri için genotiplendi. Koroner anjiyografiden önce kan örnekleri alındı ve sonrasında hesaplanan Gensini ve SYNTAX skorlarına göre KAH anjiyografik yaygınlık ve ciddiyet dereceleri belirlendi.

Bulgular: Hasta ve kontrol grupları T2DM hastalığına göre gruplandırıldığında, *MIF* gen polimorfizminin KAH grubunda T2DM ile ilişkisi bulunmadı ($p>0.05$). Buna karşılık, aynı alt gruplarda, taşıyıcı olmayanlar ile karşılaştırıldığında, *MIF* geni rs755622 polimorfizmi yaygın allel taşıyıcıları, kontrol grubundaki T2DM hastalığını geliştirmeye karşı bir koruma göstermektedir ($p<0.05$). Buna ek olarak, T2DM grubunda *MIF* C alel taşıyıcılığının yüksek HbA1c ile ilişkili olduğu belirlendi ($p=0.038$).

Sonuç: *MIF* geni rs755622 polimorfizmi HbA1c ile ilişkili olarak belirlendi. Bu sonuç, *MIF* gen varyantının, Türk popülasyonunda diyabet yoluyla KAH riskine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

ABSTRACT

Objective: Recent studies indicate that macrophage migration inhibitory factor (*MIF*) is a potent proinflammatory cytokine which mediates the inflammatory process during atherosclerosis. The purpose of the study was to investigate an association between *MIF* gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus (T2DM) and coronary artery disease (CAD) in the Turkish population.

Methods: A total of 139 unselected Turkish patients with significant CAD (coronary lesion with 50–100% stenosis) and 120 control participants (coronary lesion with <30% stenosis) were genotyped for *MIF* rs755622 polymorphisms using hybridization probes in a Roche LightCycler 480 Real-Time Polymerase Chain Reaction 480 device. Blood samples were drawn before coronary angiography. Gensini and SYNTAX scores were used to determine the angiographic extent and severity of CAD.

Results: When the groups were stratified according to T2DM, polymorphism of *MIF* was not associated with T2DM in CAD patients ($p>0.05$). In the same subgroups, carriers of the *MIF* common allele in the control group demonstrated a protection against developing T2DM compared with noncarriers ($p<0.05$). In addition, *MIF* C allele carriage was associated with higher glycated hemoglobin (HbA1c) in the T2DM group ($p=0.038$).

Conclusion: The *MIF* rs755622 polymorphism was associated with HbA1c. This result suggests that the *MIF* gene variant may contribute to CAD risk through diabetes in the Turkish population.

Geliş tarihi: 26.07.2018 Kabul tarihi: 18.09.2018

Yazışma adresi: Dr. Neslihan Çoban, İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, Vakıf Gureba Cad., 34280 İstanbul, Turkey.

Tel: +90 212 - 414 20 00 e-posta: neslic@istanbul.edu.tr

© 2019 Türk Kardiyoloji Derneği



Makrofaj migrasyon inhibitör faktör (MIF) doğal immünitenin bir pleiotropik sitokindir. Antimikrobiyal ve stres yanıtının önemli bir bileşeni temsil etmektedir.^[1] 22q11.2 kromozom bölgesinde bulunan *MIF* geni, üç eksondan oluşan küçük bir genidir.^[2] *MIF* geni monositler, makrofajlar, vasküler düz kas hücreleri ve kardiyomyositler dahil olmak üzere birçok hücre tipinde eksprese edilmektedir.^[3-5] Klinik çalışmalar, MIF proteininin, enflamatuvar bir bileşene sahip olan farklı hastalıklar için bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermiştir.^[6] Sitokinler ve kemokinler aracılığıyla vasküler yara bölgesine, monositler ve T lenfosit dahil olmak üzere enflamatuvar hücrelerin alınması aterosklerozun başlangıç fazıdır.^[7] Bu süreçte güçlü bir proenflamatuvar sitokin olan MIF proteini önemli bir rol oynamaktadır.^[8] Bu konuda elde edilen bulgular, MIF proteininin erken ateromatöz plak oluşumunda ve aterosklerotik lezyonların ilerlemesinde rol oynadığını göstermektedir.^[9] Böylece, MIF protein seviyelerindeki yükselme koroner arter hastalığı (KAH) gelişimine neden olabilmektedir.^[8]

İnsan *MIF* geninde -173 (rs755622), +254 (rs2096525) ve +656 (rs2070766) tek nükleotid polimorfizmleri (Single nucleotide polymorphism [SNP]) ve 794CATT₅₋₈ mikrosatellit polimorfizmi olmak üzere toplamda dört polimorfizm bildirilmiştir. rs2096525 ve rs2070766 intronlarda, rs755622 ve -794CATT₅₋₈ ise promoter bölgesinde bulunmaktadır.^[10] Promotor bölgesinde bulunan G-173C noktasındaki polimorfizm, *MIF* geninin transkripsiyon aktivitesinde yükselmeye paralel olarak MIF protein üretiminin artışı ile ilişkili bulunmuştur.^[10] Kadınlarda, *MIF* geni rs755622 ve rs2070766 SNP'leri ve buna karşılık gelen haplotipler ile KAH arasında bir ilişki olduğu MONICA/KORA çalışmasında bildirilmiştir.^[11] Ayrıca, *MIF* geninin -173 pozisyonundaki polimorfizminin KAH ile istatistiksel olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir.^[12]

Miyokardiyal hasar,^[13] KAH,^[14] diyabetik retinopati,^[15] obezite^[16] ve metabolik sendrom^[17] gibi tip 2 diyabetes mellitus (T2DM) komplikasyonlarında MIF proteini yüksek oranda eksprese edilmektedir. MIF proteini, insülin reseptör sinyallemede rol alan ve insülin direncine yol açan proenflamatuvar sitokinlerin ve adipositokinlerin üretimini teşvik ederek T2DM gelişiminde dolaylı bir rol oynamaktadır.^[18] Birkaç klinik çalışmada, T2DM hastalarında serum MIF düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir.^[19] 2006 yılında,

T2DM başlangıcından önce kanda yüksek MIF seviyeleri olduğu öne sürülmüştür.^[20] Herder ve ark.,^[21] normoglisemik kontrollerle karşılaştırıldığında, T2DM hastalarında dolaşımdaki MIF, C-reaktif protein

(CRP) ve interlökin-6 (IL-6) seviyelerinde anlamlı bir artış olduğunu bildirmişlerdir. T2DM ve MIF arasındaki ilişki CRP ve IL-6 gibi diğer proteinlerden güçlü görünmektedir.^[20] Son zamanlarda yapılan büyük bir hasta kohort çalışmasında, MIF serum seviyelerinin artışı, erkeklerin aksine kadınlarda daha yüksek T2DM riski ile ilişkili bulunmuştur (HR 1.74).^[21] Popülasyonlarda *MIF* gen ekspresyonunun değişkenliğini açıklayabilen bir başka faktör de, bir dizi farklı *MIF* promoter genotipinin tespit edilmesidir.^[2,22] Stabil KAH ve T2DM hastalarında MIF proteininin yüksek plazma seviyeleri ile uzun süreli olumsuz sonuçlar arasındaki ilişki, Japon popülasyonunda yapılan ileriye dönük bir olgu kohort çalışmasında bildirilmiştir.^[14]

T2DM hastalığı ateroskleroz için bağımsız bir risk faktörü olduğu uzun yıllardan beri bilinmektedir. Ancak son yıllarda T2DM ve kardiyovasküler sistem arasındaki ilişkilerin daha iyi anlaşılması ve özellikle biriken epidemiyolojik kanıtlar T2DM için risk değerlendirmesinde “kardiyovasküler hastalık eşdeğeri” olarak anılmasına neden olmuştur.^[23] Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda, KAH ve T2DM hastalarında *MIF* gen polimorfizminin bu iki hastalığın bir arada bulunduğu duruma katkısını araştırmayı amaçladık.

Kısaltmalar:

CRP	C-reaktif protein
GDM	Gestational diabetes mellitus
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
IGT	Bozulmuş glukoz toleransı
IL-6	İnterlökin-6
KAH	Koroner arter hastalığı
MIF	Makrofaj migrasyon inhibitör faktör
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RT	Gerçek zamanlı
SNP	Single nucleotide polymorphism
T2DM	Tip 2 diyabetes mellitus

HASTALAR VE YÖNTEM

Koroner arter hastalığı ve kontrol seçimi

Klinik bulgulara ve non-invaziv iskemi testlerinin sonuçlarına göre yapılan koroner anjiyografiye göre anlamlı KAH olduğu saptanan (%50–100 stenoz bulunan koroner lezyon, n=139) ve kontrol olarak anlamlı KAH olmadığı saptanmayan (anjiyografik olarak normal koroner arterlere sahip ya da minimal aterosklerotik lezyonu olan bireyler, n=120) 259 birey çalışmaya dahil edildi. Bu bireylerden DNA eldesi için kan

örnekleri alınarak KAH DNA bankası oluşturuldu. Daha sonra 259 birey diyabet durumuna göre T2DM olan (n=112) ve T2DM olmayan (n=147) olmak üzere birinci alt grup olarak gruplandırıldı. Çalışmamızda ikinci alt grup olarak, KAH ve T2DM hastalığını bir arada taşıyan hasta (n=74) ve bu iki hastalığı taşımayan kontrol (n=80) grupları oluşturuldu. Tüm çalışma grubunda *MIF* geni -173G/C polimorfizmi genotiplendi ve oluşturulan gruplar ile *MIF* geni istatistiksel olarak ilişkilendirildi. Çalışma başlatılmadan önce İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı ve örnekleri alınan tüm hastalara bilgilendirilmiş gönüllü hasta onay formu imzalatıldı. Çalışmada, *MIF* gen polimorfizminin ilişkilendirmesi için 2015–2016 yıllarında çalışmaya katılan bireylerden oluşturulan DNA bankası kullanıldı. Aterosklerotik KAH vakalarının kan örnekleri ile kontrollere ait kan örnekleri T.C. Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı'ndan sağlandı. KAH DNA bankasında çalışılan 259 kişide (yaş ortalaması; 62.9±10.7, %69.8 erkek) *MIF* geninin -173G/C bölgesinde bulunan polimorfizmi genotiplendi. Anlamlı KAH grubunda bulunan bireylerin, Gensini ve SYNTAX skorları hesaplanarak derecelendirilen anjiyografik yaygınlık ve ciddiyeti belirlendi. Gensini skoru KAH'nın ciddiyet ve yaygınlığını derecelendirmekte zaman içinde altın standart haline gelmiştir. Bu sistemde epikardiyal koroner arterdeki darlığın derecesi (1: %1–25 stenoz, 2: %26–50 stenoz, 4: %51–75 stenoz, 8: %76–90 stenoz, 16: %91–99 stenoz ve 32: koroner arterin total oklüde olması) ve lezyonun anatomik lokalizasyonuna göre de uygun katsayı ile çarpılarak ve değerler toplanarak Gensini skoru elde edildi.^[24] Gensini skoru ne kadar yüksekse, KAH o kadar ciddi ve o kadar yaygın demektir. Hasta grubunda olup da, koroner arter lümeninde anlamlı derecede darlığı (%50 ve üzerinde darlık) olanlarda ise ayrıca KAH kompleksite derecesini değerlendirmek amacıyla SYNTAX skoru hesaplandı. SYNTAX skoru, lezyonların yerleşim ve dağılımını, lezyon uzunluğunu, tortüozite varlığını, bifürkasyon ya da trifürkasyon lezyonu olup olmaması gibi faktörleri hesaba katan bir skorlama sistemidir. SYNTAX skoru çapı >1.5 mm olan her bir epikardiyal koroner arterdeki >50% darlıklar online SYNTAX hesaplayıcıya girilerek hesaplandı (version 2.1 www.syntaxscore.com). Düşük SYNTAX skor (≤ 22), intermediate skor: 23–32 ve yüksek skor ≥ 33 olarak tanımlandı. SYNTAX skoru ≥ 23 olan hastalar orta-ciddi derecede kompleks KAH olarak tanımlandı.^[25]

Çalışmaya dahil edilen bireylerin seçiminde, koroner damar darlık skorunun yanı sıra KAH olan bireylerde aile hikayesinin varlığı, sigara içiciliği, diyabet, HbA1c ve açlık kan glukozu gibi biyokimyasal parametrelerin düzeyleri de dikkate alındı. Kontrol grubunda ise, koroner arter lümenindeki darlık oranının ≤ 30 olmasının yanında, diyabet hastalığı olmaması, KAH aile hikayesine sahip olmama ile serebrovasküler/periferal arter hastalığına sahip olmama ve ileri yaş (55 yaş ve üzerinde olan bireyler) olma durumu göz önünde bulunduruldu.

Biyokimyasal analizler

Kan örnekleri koroner anjiyografiden önce toplandı ve analiz edilene kadar -75 °C'de derin dondurucuda saklandı. Lipid içeriği fazla olan, sarılıklı ve hemolizli örnekler çalışmadan dışlandı. Biyokimyasal parametrelerin analizleri iki merkez laboratuvarında yapıldı. Total kolesterol, açlık trigliserid, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL)-kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL)-kolesterol konsantrasyonları UniCell DxC 800 (Beckman Coulter, ABD) ile ölçüldü. Glukoz ölçümü Abbott c8000 Architect otoanalizörde (Abbott Lifesciences, ABD) Heksokinaz/G-6-PDH reaksiyon prensibi kullanılarak spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. HbA1c düzeyleri altın standart olarak kabul edilen High Performance Liquid Chromatography (HPLC) sisteminde çalışıldı. Sonuçlar glikozile hemoglobin'in total hemoglobin'e yüzde cinsinden oranı şeklinde (Hb%) verilmektedir.

RT-PCR ile Genotipleme

Bu çalışma kapsamında yapılan, KAH ve T2DM ile *MIF* gen polimorfizminin ilişkilendirmesi için 2015–2016 yıllarında koroner anjiyografiye göre KAH tanısı konulan ve kontrol (anjiyografik olarak normal koroner arterlere sahip bireyler) olarak saptanan bireylerden oluşturulan DNA bankası kullanıldı. Çalışmaya dahil edilen bireylerden alınan 10 mL periferik kandan DNA izole edildi ve genotipleme çalışması için 259 örneklik bir DNA bankası oluşturuldu. Genotipleme işlemi, KAH-T2DM ve kontrol gruplarında yer alan toplam 259 kişiye ait DNA örneklerinde yapıldı. DNA örneklerinin genotiplemeleri Real-Time PCR yöntemi ile işaretli hibridizasyon problemleri kullanılarak LightCycler® 480 (Roche, Almanya) cihazında yapıldı. Çalışmada kullanılan Hibridizasyon prob-primer dizileri Tablo1'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Genotipleme için kullanılan primer-prob dizileri

Gen	Primer dizisi
<i>MIF</i> -Primer	5'-ggcttcatctctggaaggtaa-3' 5'-cagcaaccgccgctaagc-3'
<i>MIF</i> -Prob	5'-LCRed-640-ggcggctagaaatcggcctgt-Pho-3' 5'-gctccaagctgttctccac-Fluo-3'

MIF: Makrofaj migrasyon inhibitör faktör.

İstatistiksel analiz

Sürekli sayısal (kantitatif) değerler ortalama \pm standart sapma (SS) ve kategorik (nominal) değerler yüzde (%) ile ifade edildi. Çalışma ve kontrol grubundaki kategorik değişkenler ki-kare testi ile, kantitatif değişkenler student t-test ve ANOVA ile karşılaştırıldı. Risk değişkenleri ile kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkilerin ortaya çıkarılmasında, univariate analiz veya multiple regresyon analizleri kullanıldı. Her bir allelin frekansları bulunarak çalışılan popülasyonun denge kontrolü Hardy-Weinberg ve ki-kare testleri ile belirlendi. Anlamlılık $p < 0.05$ düzeyinde değerlendirildi. Tüm istatistiksel hesaplamalar Windows SPSS 21.0 (IBM, ABD) programı kullanılarak yapıldı.

BULGULAR

Çalışılan 259 kişide (yaş ortalaması; 62.9 ± 10.7 , %69.8 erkek) *MIF* geninin promoter bölgesinde bulunan polimorfizmi Light Cycler 480 cihazında hibridizasyon problemleri kullanılarak genotiplendi (Şekil 1).

Çalışmamıza katılan anjiyografi yöntemi ile anlamlı KAH tanısı alan ve almayan kişilerde T2DM durumuna göre klinik durumlar ve biyokimyasal parametreler Tablo 2'de özetlenmiştir.

MIF rs755622 genotip ve allel frekansları

Anlamlı KAH grubunda *MIF* rs755622 polimorfizminin genotip dağılımları GG, GC+CC için sırasıyla, %66.9 (n=93), %33.1 (n=46) olarak bulundu. C allel sıklığı anlamlı KAH grubunda %18.7 olarak belirlendi. Anlamlı KAH ve kontrol gruplarında genotip ve allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir. Aynı şekilde KAH-T2DM hasta grupları ile kontrol grubu arasında *MIF* rs755622 polimorfizminin genotip dağılımları incelendiğinde, KAH-DM grubunda GG, GC+CC genotipleri için sırasıyla, %65.8 (n=25), %34.2 (n=13) olarak bulundu. C allel sıklığı KAH-T2DM grubunda %16.9 olarak belirlendi. KAH-T2DM ve kontrol gruplarında genotip ve allel frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir ($p > 0.05$) (Şekil 2). Buna karşılık, aynı alt gruplarda, C allel taşıyıcısı olmayanlar ile karşılaştırıldığında, *MIF* yaygın genotipi, kontrol grubunda T2DM hastalık gelişimine karşı bir koruma göstermektedir ($p < 0.05$).

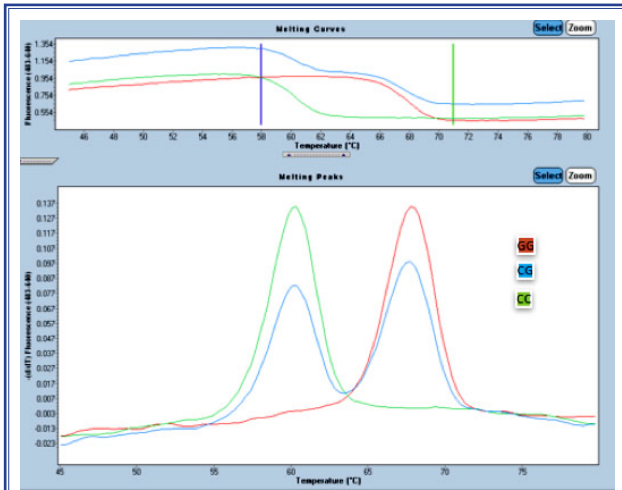
MIF rs755622 polimorfizminin Gensini ve SNTAX skorları ile ilişkisi

Koroner arter hastalığı anjiyografik şiddet ve yaygınlığı (Gensini ve SYNTAX skoru) ile *MIF* rs755622 polimorfizminin genotipleri arasında is-

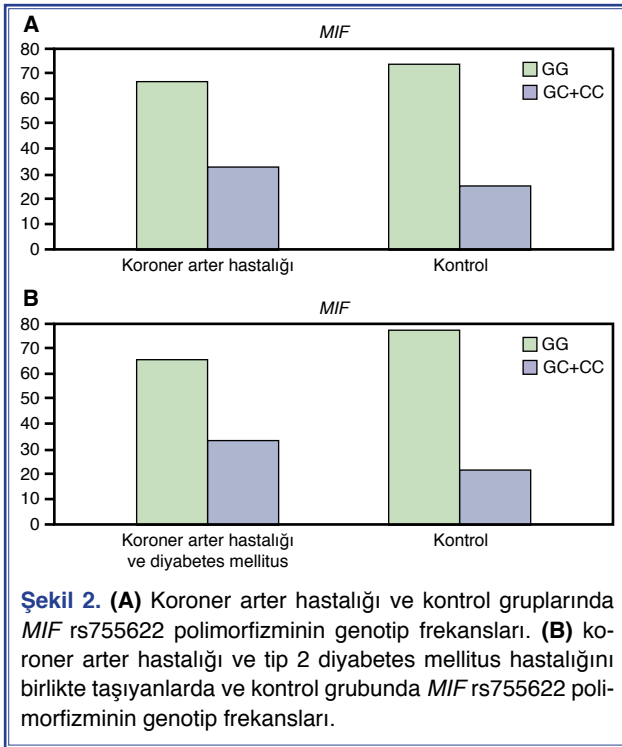
Tablo 2. Çalışma grubunda biyokimyasal durumların T2DM olan ve T2DM olmayanlara göre dağılımı

	T2DM (n=112)	T2DM olmayan (n=147)	p^*
Yaş (yıl)	62.8 \pm 10.8	59.6 \pm 11.7	0.002
Darlık (%)	56.5 \pm 36.4	43.9 \pm 38.0	<0.001
Gensini skoru	41.7 \pm 49.1	26.9 \pm 42.2	<0.001
SYNTAX skoru	11.6 \pm 12.4	7.76 \pm 11.6	<0.001
T-kolesterol (mg/dL)	194.5 \pm 46.2	200.9 \pm 48.7	0.150
LDL-kolesterol (mg/dL)	111.5 \pm 35.1	118.5 \pm 37.6	0.040
HDL-kolesterol (mg/dL)	39.2 \pm 10.1	42.0 \pm 10.9	0.004
Glukoz (mg/dL)	150 \pm 55.9	98.2 \pm 10.6	<0.001
Trigliserid (mg/dL)	154.9 \pm 1.73	134.9 \pm 1.66	0.004
HbA1c (%)	7.08 \pm 1.23	5.50 \pm 1.10	<0.001
BKİ (kg/m ²)	29.8 \pm 4.37	28.1 \pm 3.73	<0.001

T2DM: Tip 2 diyabetes mellitus; apoA1: Apolipoprotein A1; ApoE: Apolipoprotein E; BKİ: Beden kitle indeksi; CRP: C-reaktif protein; HbA1c: Hemoglobin a1c; HDL: Yüksek yoğunluklu lipoproteinler; LDL: Düşük yoğunluklu lipoproteinler; Lp(a): Lipoprotein (a); T-kolesterol: Total kolesterol.



Şekil 1. MIF-173G/C polimorfizm genotipleri. LC480 cihazında MIF rs755622 polimorfizmine özgü hibridizasyon problemleri ile elde edilen erime eğrisi grafikleri.



Şekil 2. (A) Koroner arter hastalığı ve kontrol gruplarında MIF rs755622 polimorfizminin genotip frekansları. **(B)** koroner arter hastalığı ve tip 2 diyabetes mellitus hastalığını birlikte taşıyanlarda ve kontrol grubunda MIF rs755622 polimorfizminin genotip frekansları.

tatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$). T2DM grubunda da anjiyografik şiddet ve yaygınlık ile MIF rs755622 polimorfizminin genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tablo 3).

MIF rs755622 polimorfizminin kardiyometabolik risk faktörleri ile ilişkisi

Koroner arter hastalığı-T2DM grubunda, MIF

rs755622 değişiminde C allel taşıyıcıları HbA1c ile istatistiksel olarak sınırda bir ilişki gösterdi (GG: 0.83 ± 0.093 , GC+CC: 0.88 ± 0.095 , $p=0.07$). KAH grubundan bağımsız olarak T2DM olan ve olmayan gruplarda MIF genotiplerinin biyometrik parametreler ve kardiyovasküler durumlar ile ilişkisi incelendiğinde kardiyovasküler hastalıklar ile anlamlı bir ilişki bulunamadı. Buna karşın, HbA1c ($p=0.038$) değeri T2DM grubunda C alleli taşıyıcılığı ile ilişkili bulundu (Tablo 3). Univariate analizde cinsiyet ve obezite durumuna göre ayarlandığında, C allel taşıyıcılığının yüksek HbA1c değeri için risk oluşturduğu gözlemlendi (Tablo 4, $p=0.036$).

Cinsiyete spesifik yapılan ANOVA ve t-test analizlerinde bu parametreler ve MIF rs755622 polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p>0.05$).

TARTIŞMA

Tip 2 diyabetes mellitus grubu ve T2DM olmayan grup karşılaştırıldığında, C alleli taşıyıcılığı T2DM grubunda yüksek HbA1c ile anlamlı düzeyde ilişkili bulundu. Çalışmamızın sonucuna göre Türk anamlı KAH hastalarında MIF gen -173G/C polimorfizminin T2DM aracılığıyla KAH riskini artırabileceği düşünülmektedir.

Son zamanlardaki çalışmalar MIF proteininin, glukoz homeostazında, T1DM ve T2DM gelişiminde önemli bir rol oynayabileceğini göstermiştir.^[26-28] MIF proteininin glukoz metabolizmasının iki farklı mekanizmasında rolü vardır; ilki insülin hedef hücrelerinin yanıtına etki ederek, ikincisi ise pankreatik beta hücrelerinden doğrudan insülin sekresyonuna yol açarak rol almasıdır.^[19,29] İnsülin direncinde patojenik bir rol oynayan MIF proteininin dolaşımdaki düzeyi, bozulmuş glukoz toleransı (IGT) durumunda ve T2DM hastalarında artmaktadır.^[14] Ayrıca, sistemik MIF protein konsantrasyonlarındaki artışın, T2DM başlangıcından önce ortaya çıktığı gösterilmiştir. Bu durum, diyabetik hastalarda aterosklerotik vasküler hastalığın, diyabetik olmayanlardan daha yaygın olması ile ilgili olabilir.^[20]

Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar MIF proteini ile obezite, insülin direnci ve T2DM gelişimi arasındaki güçlü bağlantıyı kanıtlamıştır.^[30] Daha önce yapılan bir çalışmada, serum MIF konsantrasyonunun normoglisemiden başlayarak bozulmuş glukoz intoleransına ve T2DM hastalığına doğru daha fazla arttığı bulun-

Tablo 3. T2DM olan ve olmayan gruplarda MIFrs755622 polimorfiminin kardiyometabolik risk faktörleri ile ilişkisi

	Genotipler		p*
	GG	GC+CC	
T2DM (n=112)			
Yaş (yıl)	62.3±11.1	63.4±11.2	0.605
Darlık (%)	54.8±35.8	50.4±35.2	0.543
Gensini skoru	52.1±53.9	41.0±55.1	0.313
SYNTAX skoru	13.5±13.7	10.2±13.0	0.224
T-kolesterol (mg/dL)	194.7±51.0	193.7±40.8	0.917
LDL-kolesterol (mg/dL)	111.5±37.1	114.1±34.9	0.726
HDL-kolesterol (mg/dL)	38.5±11.2	40.6±8.79	0.330
Glukoz (mg/dL)	142.2±54.7	147.2±40.6	0.627
Trigliserid (mg/dL)	158.5±1.66	151.3±1.78	0.543
HbA1c (%)	6.76±1.23	7.24±1.23	0.039
BKİ (kg/m ²)	29.6±4.02	28.3±4.31	0.102
T2DM olmayan (n=147)			
Yaş (yıl)	60.5±11.1	57.8±11.3	0.185
Darlık (%)	37.2±33.9	48.3±39.1	0.091
Gensini skoru	26.5±44.2	40.8±58.0	0.111
Syntax skoru	6.64±11.8	9.63±13.0	0.182
T-kolesterol (mg/dL)	200.3±50.1	197.6±47.6	0.767
LDL-kolesterol (mg/dL)	118.6±38.8	116.8±35.7	0.802
HDL-kolesterol (mg/dL)	42.2±9.46	40.6±9.74	0.368
Glukoz (mg/dL)	98.5±11.0	97.0±11.9	0.472
Trigliserid (mg/dL)	131.8±1.66	147.9±1.70	0.197
HbA1c (%)	5.50±1.10	5.50±1.10	0.492
BKİ (kg/m ²)	27.8±3.63	28.5±3.74	0.291

T2DM: Tip 2 diyabetes mellitus; MIF: Makrofaj migrasyon inhibitör faktör; GG: Yaygın genotip; GC: Heterozigot genotip; CC: Nadir genotip; ApoA1: Apolipoprotein A1; ApoE: Apolipoprotein E; BKİ: Beden kitle indeksi; CRP: C-reaktif protein; HbA1c: Hemogloblin a1c; HDL: Yüksek yoğunluklu lipoproteinler; LDL: Düşük yoğunluklu lipoproteinler; Lp(a): Lipoprotein (a); T-Kolesterol: Total kolesterol.

Tablo 4. Univariant analizde cinsiyet ve obezite durumuna göre ayarlandığında, MIF rs755622 polimorfizminin HbA1c değeri ile ilişkisi

	Genotipler		p*
	GG	GC+CC	
T2DM olan			
HbA1c (%)	6.76±1.02	7.24±1.02	0.036
T2DM olmayan			
HbA1c (%)	5.62±1.01	5.50±1.02	0.472

MIF: Makrofaj migrasyon inhibitör faktör; T2DM: Tip 2 diyabetes mellitus; HbA1c: Hemogloblin a1c; GG: Yaygın genotip; GC: Heterozigot genotip; CC: Nadir genotip.

muştur.^[20] Herder ve ark.,^[20] normoglisemik kontroller ile karşılaştırıldığında bozulmuş glukoz toleransı ve T2DM olan hastalarda dolaşımdaki CRP, MIF ve IL-6 düzeylerinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada ise, prediyabetik hastalarda (HbA1c: 6.0–6.5) MIF proteininin serum düzeyi ölçülmüş ve normal kontrollere göre anlamlı bir artış saptanmıştır.^[31] Benzer şekilde, çoğunlukla yüksek T2DM insidansı gösteren Amerikan Pima Kızılderilileri'nde yüksek serum MIF düzeyi tespit edilmiştir.^[32] Makino ve arkadaşlarının^[14] yaptıkları bir çalışmada IGT ve T2DM olan hastaların dahil olduğu stabil KAH olan bireylerde MIF düzeyleri ölçülmüştür. Sonuçlar yük-

sek MIF seviyesinin, IGT/T2DM bulunan KAH grubunda gelecekteki koroner olaylar için bağımsız bir risk faktörü olduğunu göstermektedir.

Gestational diabetes mellitus (GDM) birçok yönden T2DM hastalığına benzemektedir ve her iki durumda ana patofizyolojik mekanizması artmış insülin direncine yol açmaktadır. *MIF* rs755622 allel tiplerinin sıklığı GDM ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. CC ve CG genotipleri, GDM olan hamile kadınlarda OGTT sırasında artmış glukoz seviyeleri ve insülin direnci ile anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur. Sonuç olarak *MIF* gen rs755622 polimorfizmi Han Çin kadınlarında artmış GDM ve insülin direnci riski ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.^[33]

MIF proteini, aterosklerozun neden olduğu KAH patogenezinde kritik bir rol oynamaktadır. Aterosklerozda hemorajik mikrodamarları aktive etmektedir.^[34] Lezyon oluşumu ve ilerlemesi sırasında, vasküler endotel hücrelerinde normal arterlere kıyasla artmış *MIF* gen ekspresyonu görülmüştür.^[35] Yapılan bir çalışmada, *MIF* geni -173G/C pozisyonundaki polimorfizm ve KAH arasında yakın bir ilişki olduğu gösterilmiş ve *MIF* -173C alleli taşıyıcılarında KAH riskinin artmış plazma MIF konsantrasyonu ile birlikte olduğunu bulunmuştur.^[36] KAH ve kontrol gruplarında plazma MIF düzeyleri kıyaslandığında, KAH grubunda *MIF* -173C alelline sahip olan bireylerin anlamlı olarak daha yüksek MIF seviyelerine sahip olduğu bulunmuştur. *MIF* -173C alleli taşıyan bireylerin daha yüksek miktarlarda MIF proteini ürettiği öne sürülmüştür.^[36]

Popülasyona dayalı bir olgu-kohort çalışmasında *MIF* genotipleri, MIF serum düzeyleri ve KAH riski arasındaki ilişki araştırılmıştır. Kadınlarda, C-G-C-T haplotipinin artmış KAH risk ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğunu bulunmuştur (HR 2.44, %95 CI 1.30–4.59). Bu haplotip daha önce diğer proenflamatuar durumlar ile ilişkili bulunan rs755622C alellini içermektedir.^[11] Bir başka çalışmada, bu polimorfizmin KAH grubunda, kontrol grubuna göre daha düşük HDL-K ve daha yüksek glukoz, LDL-K, TG düzeyleri ile ilişkili olduğu ve artmış hipertansiyon ve diyabet prevalansı ile de anlamlı ilişkisi saptanmıştır.^[37]

MIF proteininin, IGT ve T2DM olan hastalardaki konsantrasyonları arasındaki güçlü pozitif ilişki, diğer immün araçlardan bağımsızdır. CRP ve IL-6'nın aksine, T2DM grubundaki MIF konsantrasyonları IGT grubu ile karşılaştırıldığında, sistemik MIF konsant-

rasyonlarının yükselmesinin T2DM başlangıcından önce olduğunu düşündüren oldukça anlamlı bir artış gösterilmiştir.^[28] Bu çalışmada ise, *MIF* C alleli taşıyıcılığının, T2DM'li KAH grubunda daha yüksek HbA1c ile ilişkisi bulundu. Daha önce erişkin Türk popülasyonunda obezite ve T2DM gibi kardiyovasküler risk faktörleri ile *MIF* gen polimorfizmi arasında bir ilişki olduğunu bildirdik.^[38] Yeni başlangıçlı diyabetin bağımsız olarak öngörülmesi için -173C alleli taşıyıcılığının eğilimi erkeklerle sınırlı olarak belirlendi.^[38] Ayrıca, Türk erişkinlerinde kalp hastalıkları ve risk faktörleri (TEKHARF) çalışmasında, MIF serum düzeyi ile diyabet ve metabolik sendrom arasında anlamlı bir ilişki belirlendi.^[39] Çalışmamızda, T2DM hasta grubunda Gensini ve SNYNTAX skor değerlerinin T2DM olmayan grup ile kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gözlemledik. KAH anjiyografik yaygınlık ve ciddiyeti ile ilişkili olan skorlamaların T2DM hastalığı ile olan ilişkisi, diyabetin genetik yatkınlığının KAH gruplarında araştırılması açısından önem taşımaktadır.

Çalışma kısıtlılıklarının başında, *MIF* gen polimorfizminin daha fazla sayıda hasta grubunda araştırılmaması gelmektedir. Daha fazla grupta araştırılarak cinsiyete göre istatistiksel analizler yapılması ve cinsiyete özgü bulguların gösterilmesi gerekmektedir. Çalışmamızda, *MIF* geninin diğer SNP'lerinin çalışmaya dahil edilememesi diğer bir kısıtlılıktır. Ayrıca, MIF protein düzeyinin ölçülemediği olması da çalışmanın kısıtlılığında.

Bu sonuçlar *MIF* gen varyantının Türk popülasyonunda T2DM yoluyla KAH riskine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. T2DM hastalığının KAH duyarlılığı ve anjiyografik şiddeti ile yakından ilişkili olduğu düşünüldüğünde, diyabetik durumun KAH grubunda genetik yatkınlığının detaylı olarak çalışılması gerekmektedir. *MIF* gen polimorfizminin T2DM'li KAH grubundaki rolünü daha iyi tanımlamak için daha büyük örnek grupları ile daha fazla çalışma gerekmektedir. Bu çalışmalar sonucunda, KAH gelişiminin takibinde *MIF* genindeki bu belirteçlerin test edilmesi erken tanı ve gene özgü tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

Fonlama kaynakları

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje birimi tarafından desteklemiştir. Proje No: 47372.

Hakem değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar çatışması: Bildirilmemiştir.

Yazar katkıları: Konsept: N.Ç.; Tasarım: N.Ç.; Kontrol: A.F.E., B.E., N.E.U.; Materyal: A.F.E., B.E.; Veri toplama: N.Ç., A.F.E., B.E.; Analiz: N.Ç., M.K., E.V.; Kaynak toplama: N.Ç., M.K.; Yazım: N.Ç.; Kritik revizyon: N.E.U., A.F.E.

KAYNAKLAR

- Calandra T, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2003;3:791–800. [CrossRef]
- Baugh JA, Chitnis S, Donnelly SC, Monteiro J, Lin X, Plant BJ, et al. A functional promoter polymorphism the macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene associated with disease severity in rheumatoid arthritis. *Genes Immun* 2002;3:170–6. [CrossRef]
- Calandra T, Bernhagen J, Mitchell RA, Bucala R. The macrophage is an important and previously unrecognized source of macrophage migration inhibitory factor. *J Exp Med* 1994;179:1895–902. [CrossRef]
- Burger-Kentischer A, Goebel H, Seiler R, Fraedrich G, Schaefer HE, Dimmeler S, et al. Expression of macrophage migration inhibitory factor in different stages of human atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1561–6. [CrossRef]
- Willis MS, Carlson DL, Dimaio JM, White MD, White DJ, Adams GA 4th, et al. Macrophage migration inhibitory factor mediates late cardiac dysfunction after burn injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;288:H795–804. [CrossRef]
- Grieb G, Merk M, Bernhagen J, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): a promising biomarker. *Drug News Perspect* 2010;23:257–64. [CrossRef]
- Hansson GK, Jonasson L, Seifert PS, Stemme S. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1989;9:567–78. [CrossRef]
- Zernecke A, Bernhagen J, Weber C. Macrophage migration inhibitory factor in cardiovascular disease. *Circulation* 2008;117:1594–602. [CrossRef]
- Müller II, Müller KA, Schönleber H, Karathanos A, Schneider M, Jorbenadze R, et al. Macrophage migration inhibitory factor is enhanced in acute coronary syndromes and is associated with the inflammatory response. *PLoS ONE* 2012;7:e38376. [CrossRef]
- Donn R, Alourfi Z, De Benedetti F, Meazza C, Zeggini E, Lunt M, et al. Mutation screening of the macrophage migration inhibitory factor gene: positive association of a functional polymorphism of macrophage migration inhibitory factor with juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46:2402–9. [CrossRef]
- Herder C, Illig T, Baumert J, Müller M, Klopp N, Khuseyinova N, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) and risk for coronary heart disease: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984-2002. *Atherosclerosis* 2008;200:380–8. [CrossRef]
- Ji K, Wang X, Li J, Lu Q, Wang G, Xue Y, et al. Macrophage migration inhibitory factor polymorphism is associated with susceptibility to inflammatory coronary heart disease. *Biomed Res Int* 2015;2015:315174. [CrossRef]
- Yu XY, Chen HM, Liang JL, Lin QX, Tan HH, Fu YH, et al. Hyperglycemic myocardial damage is mediated by proinflammatory cytokine: macrophage migration inhibitory factor. *PLoS ONE* 2011;6:e16239. [CrossRef]
- Makino A, Nakamura T, Hirano M, Kitta Y, Sano K, Kobayashi T, et al. High plasma levels of macrophage migration inhibitory factor are associated with adverse long-term outcome in patients with stable coronary artery disease and impaired glucose tolerance or type 2 diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 2010;213:573–8. [CrossRef]
- Mitamura Y, Takeuchi S, Matsuda A, Tagawa Y, Mizue Y, Nishihira J. Macrophage migration inhibitory factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2000;84:636–9. [CrossRef]
- Kamchybekov U, Figulla HR, Gerdes N, Jung C. Macrophage migration inhibitory factor is elevated in obese adolescents. *Arch Physiol Biochem* 2012;118:204–9. [CrossRef]
- Kim H, Lee S, Kim HJ, Kong MH, Kim YR, Kang SH, et al. Elevated levels of macrophage migration inhibitory factor in women with metabolic syndrome. *Horm Metab Res* 2011;43:642–5. [CrossRef]
- Sanchez-Zamora YI, Rodriguez-Sosa M. The role of MIF in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Res* 2014;804519. [CrossRef]
- Toso C, Emamaullee JA, Merani S, Shapiro AM. The role of macrophage migration inhibitory factor on glucose metabolism and diabetes. *Diabetologia* 2008;51:1937–46. [CrossRef]
- Herder C, Kolb H, Koenig W, Haastert B, Muller-Scholze S, Rathmann W, et al. Association of systemic concentrations of macrophage migration inhibitory factor with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes: results from the cooperative health research in the region of Augsburg, Survey 4 (KORA S4). *Diabetes Care* 2006;29:368–71. [CrossRef]
- Herder C, Klopp N, Baumert J, Müller M, Khuseyinova N, Meisinger C, et al. Effect of macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene variants and MIF serum concentrations on the risk of type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg Case-Cohort Study, 1984-2002. *Diabetologia* 2008;51:276–84. [CrossRef]
- Zhong X, Leng L, Beitin A, Chen R, McDonald C, Hsiao B, et al. Simultaneous detection of microsatellite repeats and SNPs in the macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene by thin-film biosensor chips and application to rural field studies. *Nucleic Acids Res* 2005;33:e121. [CrossRef]
- Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. *JAMA* 2001;286:2586–82.

- ment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001;285:2486–97. [CrossRef]
24. Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease. Am J Cardiol 1983;51:606. [CrossRef]
 25. Serruys PW, Morice MC, Kappetein AP, Colombo A, Holmes DR, Mack MJ, et al; SYNTAX Investigators. Percutaneous coronary intervention versus coronary-artery bypass grafting for severe coronary artery disease. N Engl J Med 2009;360:961–72. [CrossRef]
 26. Finucane OM, Reynolds CM, McGillicuddy FC, Roche HM. Insights into the role of macrophage migration inhibitory factor in obesity and insulin resistance. Proc Nutr Soc 2012;71:622–33. [CrossRef]
 27. Stojanovic I, Saksida T, Stosic-Grujicic S. Beta cell function: the role of macrophage migration inhibitory factor. Immunol Res 2012;52:81–8. [CrossRef]
 28. Kleemann R, Bucala R. Macrophage migration inhibitory factor: critical role in obesity, insulin resistance, and associated comorbidities. Mediators Inflamm 2010;610479. [CrossRef]
 29. Sakaue S, Nishihira J, Hirokawa J, Yoshimura H, Honda T, Aoki K, et al. Regulation of macrophage migration inhibitory factor (MIF) expression by glucose and insulin in adipocytes in vitro. Mol Med 1999;5:361–71. [CrossRef]
 30. Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Ihalmo P, Lassila M, Holthofer H, Mezzano S, et al. The MIF receptor CD74 in diabetic podocyte injury. J Am Soc Nephrol 2009;20:353–62. [CrossRef]
 31. Yabunaka N, Nishihira J, Mizue Y, Tsuji M, Kumagai M, Ohtsuka Y, et al. Elevated serum content of macrophage migration inhibitory factor in patients with type 2 diabetes. Diabetes Care 2000;23:256–8. [CrossRef]
 32. Nishihira J, Sakaue S. Overview of macrophage migration inhibitory factor (MIF) as a potential biomarker relevant to adiposity. J Tradit Complement Med 2012;2:186–91. [CrossRef]
 33. Li C, Qiao B, Qi W, Zhan Y, Ma C, Zhao L, et al. Association of macrophage migration inhibitory factor polymorphisms with gestational diabetes mellitus in Han Chinese women. Gynecol Obstet Invest 2016;81:84–9. [CrossRef]
 34. Benigni F, Atsumi T, Calandra T, Metz C, Echtenacher B, Peng T, et al. The proinflammatory mediator macrophage migration inhibitory factor induces glucose catabolism in muscle. J Clin Invest 2000;106:1291–300. [CrossRef]
 35. Sheu WH, Chang TM, Lee WJ, Ou HC, Wu CM, Tseng LN, et al. Effect of weight loss on proinflammatory state of mononuclear cells in obese women. Obesity (Silver Spring) 2008;16:1033–8. [CrossRef]
 36. Stosic-Grujicic S, Stojanovic I, Maksimovic-Ivanic D, Momcilovic M, Popadic D, Harhaji L, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) is necessary for progression of autoimmune diabetes mellitus. J Cell Physiol 2008;215:665–75. [CrossRef]
 37. Luo JY, Xu R, Li XM, Zhou Y, Zhao Q, Liu F, et al. MIF gene polymorphism rs755622 is associated with coronary artery disease and severity of coronary lesions in a Chinese Kazakh population. Medicine (Baltimore) 2016;95:e2617. [CrossRef]
 38. Coban N, Onat A, Yildirim O, Can G, Erginel-Unaltuna N. Oxidative stress-mediated (sex-specific) loss of protection against type-2 diabetes by macrophage migration inhibitory factor (MIF)-173G/C polymorphism. Clin Chim Acta 2015;438:1–6. [CrossRef]
 39. Onat A, Ademoğlu E, Can G, Çoban N, Kaya A, Yüksel H. Lower circulating migration inhibitory factor protein is associated with metabolic syndrome and diabetes. Biomark Med 2017;11:557–68. [CrossRef]

Anahtar sözcükler: Koroner arter hastalığı; makrofaj migrasyon inhibitör faktör geni; polimorfizm; tip 2 diyabetes mellitus.

Keywords: Coronary artery disease; macrophage migration inhibitory factor gene; polymorphism; type 2 diabetes mellitus.