

Yaşın Tükürük Transforme Edici Büyüme Faktör Beta (TGF- β) Düzeyleri Üzerindeki Etkisi

Rabia ŞEMSİ¹, Aylin SEPİCİ DİNÇEL²

Öz

Amaç: Transforme edici büyüme faktör-beta (TGF- β), birçok hücrede proliferasyon, hücre sel farklılaşma, motilite ve adezyon gibi fonksiyonları kontrol eden bir sitokin türüdür. Ayrıca, organizmada tüm dokuların gelişiminde, homeostazisinde ve onarımında çok önemli rol oynarlar. Bu çalışmanın amacı, belirlenen yaş gruplarında (55 yaş altı ve 55 yaş üstü) TGF- β düzeylerinin tükürük örneklerinde değişiminin değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 26-75 yaş aralığında 32 erişkin (15 kadın/17 erkek) birey dahil edildi. Stimüle edilmiş tükürük örnekleri, sabah 08.00-09.00 saatleri arasında SARSTEDT marka tükürük toplama tüpleri ile önerilen şekilde tüp kartuşlarının 2 dakika ağızda çiğnetilmesi ile toplandı. Sonrasında 30 dakika bekleme ve 3200 x g'de 15 dakika santrifüj yapıldı. Tükürük TGF- β düzeyleri ELISA kiti (pg/mL) ile çalışıldı.

Bulgular: Tükürük TGF- β düzeyleri belirlenen yaş grupları arasında anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.0001$). Sonuç: Sonuç olarak, 55 yaş üstü bireylerde tükürük TGF- β düzeylerinde gözlenen artışın aynı yaş grubu serum düzeyleri ile yapılan çalışmalarla benzer rakamsal sonuçların ölçülmesi tükürük örneklerinin kullanılabilirliğine dikkat çekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Tükürük, Sitokin, Transforme edici büyüme faktör-beta, Yaş

Effect of Age on Salivary Transforming Growth Factor Beta (TGF- β) Levels

Abstract

Objective: Transforming growth factor-beta (TGF- β) is a type of cytokine that controls functions such as proliferation, cellular differentiation, motility, and adhesion in many cells. They also play a very important role in the development, homeostasis and repair of all tissues in the organism. The aim of this study is to evaluate the changes in TGF- β levels in the determined age groups (under 55 years age and over 55 years age).

Material and Methods: 32 adult (15 female/17 male) individuals aged between 26-75 years were included in the study. Stimulated saliva samples were collected between 08.00-09.00 in the morning by chewing the tube cartridges in the mouth for 2 minutes with SARSTEDT brand saliva collection tubes as recommended. Afterwards, it was waited for 30 minutes and centrifuged at 3200 x g for 15 minutes. Saliva TGF- β levels (pg/mL) were studied with the ELISA kit.

Results: Salivary TGF- β levels were found to be significantly higher among the specified age groups ($p=0.0001$).

Conclusion: In conclusion, the increase observed in salivary TGF- β levels in individuals over 55 years of age showed similar numerical results with studies conducted with serum levels in the same age group, which draws attention to the usability of saliva samples.

Keywords: Saliva, Cytokine, Transforming growth factor-beta, Age

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, rabiasemsi2010@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-8477-5537

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, asepicidincel@gmail.com, ORCID ID: 0000-0001-5847-0556

Yazışma adresi: Rabia ŞEMSİ, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, Tel: 05454156384, e-posta: rabiasemsi2010@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-8477-5537

Geliş Tarihi: 2 Ekim 2021 Kabul Tarihi: 11 Kasım 2021
DOI: 10.17932/IAU.TFK.2018.008/TFK_v04i3003

Giriş

Transforme edici büyüme faktörü beta (TGF-β) sinyal yolu, insan sağlığı ve hastalıklarında çok önemli rolü ile bilinmektedir. Ligandların ve reseptörlerin ekspresyonu (ifadelenmesi) dokuya, hücreye ve duruma özel olmasına rağmen, TGF-β süper ailesi fizyolojik şartlarda her alanda bulunur.

(1). TGF-β süper ailesi, hücre proliferasyonu, farklılaşması, apoptoz ve yaşlanmaya kadar uzanan geniş bir biyolojik süreç yelpazesinde yer alan sinyal moleküllerinin çok yönlü ailelerinden birini oluşturur (2). İnsanlarda üç farklı TGF-β tanımlanmıştır: TGF-β1, TGF-β2 ve TGF-β3. TGF-β1, 25.000 (25 kDa) moleküler ağırlığa sahip disülfid bağlantılı bir homodimerik proteindir. Her TGF-β alt birimi başlangıçta öncülün C-terminalinden bir 112 amino asit fragmanı oluşturmak için proteolitik olarak işlenen aktif olmayan bir öncül molekül (390 amino asit) olarak sentezlenir. Bununla birlikte, birçok hücrede, öncül molekülün N-terminal segmenti, latent veya aktif olmayan bir kompleks oluşturarak TGF-β proteini ile ilişkili kalır. Trombositlerde, latent TGF-β bağlayıcı protein olarak adlandırılan üçüncü bir protein, latent TGF-β kompleksini bağlar ve kararlı hale getirir. TGF-β'lar, hücreler üzerinde benzer fakat aynı olmayan biyolojik etkilere sahiptir. Doku onarımı bağlamındaki en önemli etkilerinden ikisi, enflamatuvar hücrelerin kemotaksisini ve hücre dışı matrisin sentezini uyarma fonksiyonlarıdır (3).

Yaşlanma, genel olarak, bir ömür boyunca doku ve organların fizyolojik işlevinde, adaptasyonunda ve dayanıklılığında kademeli düşüşün zamana bağlı süreci olarak tanımlanır. Yaşlanan hücrelerin birikimi, yaşlanmanın bir özelliği olarak kabul edilir ve yaşlanma patolojilerine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (4). Yaşlanma süreci bireysel olarak değişir ve genetik altyapı ve kalori tüketiminden etkilenir. Hücresel düzeyde, hücre homeostazının kaybı, yaşlanma süreciyle ilişkilidir (5). Yaklaşık 60 yıl önce yaşlanmanın hücrelerde serbest radikaller, OH⁻ ve/veya H₂O₂ birikiminden

kaynaklandığı öne sürülmektedir. Bu tip hücresel hasar, artan oksidatif strese ve/veya bozulmuş DNA hasarı onarım mekanizmalarına dayandırılabilir, bu da hem yaşlanmanın hem de karsinogenezin ayırt edici özelliği olan DNA hasarının birikimini daha da artırır. Bununla birlikte, yaşlanma, proteinler ve lipitler dahil olmak üzere diğer hücre içi makromoleküllerin değişmesiyle tetiklenebilir (6,7). Çeşitli çevresel ve metabolik koşullarda birçok sayıda proteinin işlevselliğini korumak için, tüm protein türlerinin sentez sırasında verimli bir şekilde katlanması ve toplanması gerekir.

Yapılan literatür taraması, tükürük sitokin konsantrasyonları ve yaşa bağlı farklılıkları ile ilgili bilgi eksikliği olduğunu göstermektedir. Bazı çalışmalar, yaşla birlikte tükürük bezlerinin parankiminin yavaş yavaş yağ, bağ dokusu ve onkositlerle değiştirildiğini göstermiştir. Bununla birlikte, sağlıklı bireyler arasında yapılan fonksiyonel çalışmalar, yaşın ilerlemesinin tek başına bu bezlerin tükürük kapasitesinde bir azalmaya yol açmadığını göstermektedir. Yaşa bağlı fonksiyonu, DNA hasarı ve apoptoz ile sonuçlanan oksidatif stres birikimine bağlı olabilir. Oksidatif stres, tükürük bezi asiner hücrelerine Ca⁺² girişini engelleyen ve tükürük salgısını etkileyen endoplazmik retikulum stresini uyandırabilir (8,9). Serbest radikallerin etkisine bağlı olarak TGF-β sinyalinin, yaşlanma sürecinde etkisi olduğu düşünülmektedir. Hücresel düzeyde, TGF-β sinyalinin hücresel yaşlanma ve kök hücre yaşlanmasında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (10,11).

TGF-β/Smad aktivasyonu, karaciğer, böbrek ve kalp dokusu dahil olmak üzere doku fibrozunda çok önemli bir rol oynar. TGF-β sinyali aynı zamanda kronik otoimmün hastalık Sjögren sendromunda da fonksiyon gösterir. TGF-β/Smad yolundaki inhibitör bir molekül olan Smad7, Smad2/3 fosforilasyonunu inhibe eder ve TGF-β sinyalinin çekirdeğe iletilmesini engeller. Smad7, diğer organlarda TGF-β'nin neden olduğu fibrozis üzerinde engelleyici bir

etkiye sahiptir (12,13,14). Ayrıca, TGF- β sinyal yollarındaki farklılıklar, Alzheimer hastalığı, osteoartrit ve obezite dahil olmak üzere yaşa bağlı çeşitli hastalıklarda sıklıkla gözlenmiştir.

Sitokinler çeşitli fizyolojik tepkilere aracılık ettiğinden, yaşlanma gibi doğal olaylarda ve Sjögren sendromu gibi otoimmün hastalıklarda gözlemlendiği gibi tükürük parankim üretiminin baskılanmasına da katkıda bulunabilirler (15). Sjögren sendromu teşhisi konan bireyler arasında, tükürük bezi parankimindeki histolojik değişikliklere göre tükürük sitokin konsantrasyonlarının değişebileceğine dair kanıtlar vardır (16).

Fox ve ark., hem tükürük sıvısında hem de tükürük bezi dokularında sitokin düzeylerinin yükseldiğini bulmuşlardır (17). Ek olarak, Streckfus ve ark. sağlıklı bireylerin, birincil ve ikincil Sjögren sendromundan muzdarip bireylere kıyasla daha düşük tükürük IL-2 ve IL-6 düzeyleri gösterdiğini öne sürmüştür. Sonuçlar ayrıca, IFN- γ 'nın oral mukozal yoldan uygulanmasının, Sjögren sendromlu hastalarda tükürük bezi dokularının inflamatuvar yıkımı ile ilişkili bazı sitokinleri değiştirebileceğini de ileri sürmektedir (18). Bu bulgular, tükürük örneklerinde tespit edilebilen sitokin düzeylerinin, hücresel düzeyde meydana gelen metabolik değişiklikleri yansıtabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan bu çalışmalardan yola çıkarak, özellikle sağlıklı çocuklar ve yaşlı bireylerden doku almanın zorlukları dikkate alındığında tükürük örneği temininin kolaylığı, metabolik değişimleri sağlıklı ve hasta bireylerde incelemek için pratik ve güvenilir bir biyolojik materyal olarak değerlendirilebilir.

Bu çalışmada, belirlenen gruplar arasında yaşın tükürük TGF- β düzeyleri üzerinde etkisinin olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya 15'i kadın, 17'si erkek olmak üzere 32 kişi dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen grup 1 bireyler 55 ile 75 yaş arasında (n=16) ve daha genç bireylerden oluşan grup 2 ise 26-

50 yaş aralığındaki gönüllülerden oluşturuldu (n=16). Çalışmaya dahil edilen bireylerin bilinen herhangi bir akut veya kronik hastalığı, ilaç kullanımı ve sigara içme öyküsü mevcut değildi. Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 12.11.2018 tarih 831 sayılı karar numarası ile onaylandı. Tüm bireylere bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı.

Çalışmamızda örnekleri toplama ve saklama aşamasında polipropilen (PP)/düşük yoğunluklu polietilen (LD-PE) materyalden yapılmış SARSTEDT marka Salivette tüpler kullanıldı. Genç ve yaşlı olmak üzere 32 bireyden tükürük örnekleri toplandı. Örneklem zamanı 08:00-09:00 saatleri arası olarak belirlendi. Tükürük numunelerini toplama öncesinde genç ve yaşlı bireyler, 1 saat içerisinde dişlerini fırçalamamak, sigara içmemek, su dışında herhangi bir sıvı gıda yiyip içmemek konusunda bilgilendirildi. Bireylerden, pamukları 2 dakika boyunca ağızlarında bekleterek tamamen tükürük ile ıslatmaları istendi. Sonrasında 30 dakika bekleme ve 15 dakika 3200 x g'de santrifüj yapıldı. Santrifüjden sonra numuneler analize kadar -80°C'de saklandı.

Bireylerin, tükürük TGF- β düzeyleri ticari olarak temin edilen kit ile önerilen şekilde enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle ölçüldü. Standartlar ve örnekler çift çalışıldı. 450 nm'de ELISA okuyucuda örneklerin ve standartların absorbans değerlerine ait konsantrasyonlar standart eğriden hesaplandı. TGF- β 1 düzeylerinin birimi pg/mL'dir.

İstatistiksel Analiz

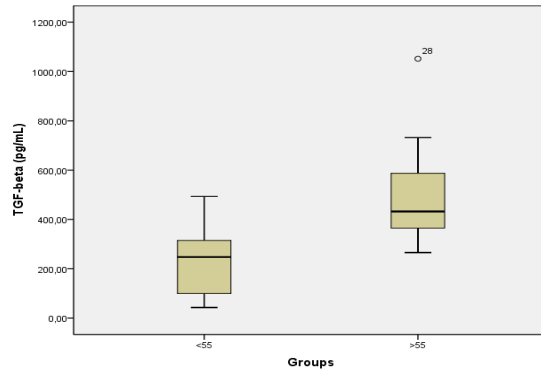
İstatistiksel analizler, SPSS 18 istatistik yazılım paketi kullanılarak yapıldı. Bu çalışmada parametrik olmayan testler kullanılmıştır. p<0.05 değerleri anlamlı kabul edildi. Yaş, BMI, TGF- β düzeylerindeki temel farklılıklar Mann-Whitney U testi ile analiz edildi. Tanımlayıcı veriler ortalama \pm standart sapma olarak sunuldu.

Bulgular

55 yaş altı ve 55 üstü gruplar arasında

hesaplanan yaş ve BMI ortalamaları Tablo 1’de gösterilmektedir.

Tükürük, TGF-β düzeyleri açısından <55 yaş altı ve >55 yaş üstü olarak değerlendirildi. Tüm bireylerde <55 yaş altı TGF-β düzeylerinin ortalaması 231.21 ± 135.30 (pg/mL), >55 yaş üstü TGF-β düzeylerinin ortalaması 502.10 ± 201.31 (pg/mL) bulundu. Sonuçlar arasında istatistiksel anlamlı bir artma saptandı ($p=0.0001$) (Şekil 1).



Şekil 1. Gruplara ait TGF-β (pg/mL) düzeyleri

Tartışma

TGF-β, birçok farklı metabolik fonksiyona sahip sitokinlerden oluşan geniş bir ailenin üyesidir ve bu ailede sadece TGF-β 1-3 izoformları değil, aynı zamanda aktivinler ve inhibinler de yer almaktadır. Yara iyileşmesi, fibrozis ve kanser gibi son derece önemli süreçlerde rol oynar. Ayrıca TGF-β, lenfositlerin, doğal öldürücü hücrelerin, dendritik hücrelerin, makrofajların, mast hücrelerinin ve granülositlerin kemotaksisinin düzenlenmesi, aktivasyonu ve hayatta kalması yoluyla inflamatuvar yanıtların başlatılmasını ve çözülmesini kontrol eder (16,19).

Tablo 1. Demografik Özellikler

	Grup 1 (yaş<55 yıl) n=16	Grup 2 (yaş>55 yıl) n=16
Erkek	38.00±8.34	63.14±8.59
Kadın	39.67±12.42	60.00±9.19
BMI (kg/m ²)	26.15±5.97	26.94±3.46

Bu çalışma sitokin düzeyi ile ilgili olarak, 55 yaş üstü bireylerin tükürük örneklerinde TGF-β düzeylerinin daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu sitokin apoptotik olaylarda ve bağışıklık baskılanmasında rol oynar. Bu nedenle, ilerleyen yaş ile birlikte TGF-β'nin tükürük düzeylerinde gözlenen artış, immün sistemde gözlenen düzensizlikler ile ilişkilendirilebilir (20,21). Bağışıklık sisteminin yaşa bağlı düzensizliğinin, reseptörlerin ifadenmesinin ve fonksiyonun azalmasından veya sinyal salınımlarından ve/veya sinyal yollarındaki kusurlardan, nihayetinde bağışıklık hücrelerinin ve bağışıklık hücrelerinin fonksiyonunun değişmesine yol açan kusurlardan kaynaklanabileceği öne sürülmüştür.

TGF-β, apoptotik olaylarda ve immün hücre homeostazının baskılanmasında önemli bir rol oynar. Düzenleyici T hücreleri, forkhead P3 (FOXP3) transkripsiyon faktörünün SMAD'ye bağlı indüksiyonu yoluyla uyarılır, bu da efektör T hücrelerinin işlevinin baskılanmasıyla sonuçlanır (19). TGF-β, T yardımcı 1 hücrelerini ve CD8⁺ T hücrelerini, T yardımcı hücre farklılaşmasını bloke ederek ve T hücresi reseptör aracılı T hücresi aktivasyonunu bloke ederek doğrudan etkiler. T hücre sayıları, sitostatik ve apoptotik yolların uyarılması yoluyla azaltılır (19,22). Ek olarak, SMAD sinyali, T hücresi aracılı öldürücü efektör genlerini baskılar. NK hücrelerinde, TGF-β, NK hücresi aktive edici reseptörlerin aşağı regülasyonu ve ayrıca interferon (IFN)-γ dahil efektör sitokinleri bloke ederek tanımayı baskılayabilir. Genel olarak, TGF-β, hem doğuştan gelen hem de

adaptif bağışıklık tepkileri üzerinde etkili olan bağışıklık sisteminin güçlü bir baskılayıcısıdır (23,24).

Yapılan literatür çalışmasında yaşlı bireylerde TGF- β ile ilgili çok az makale yayımlandığı görülmüştür. Yaşlı bireylerin nötrofillerinin apoptoza daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Yaşlı bireylerde dendritik hücrelerin T ve B hücrelerini uyarmada daha az etkili olduğu görülmüştür (25,26). Ayrıca, yaşlı deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda TGF- β 'da yaşa bağlı olarak bir artış gözlenmiştir. Buna ek olarak da deney hayvanlarında bu sitokin artışının makrofaj ve dendritik hücre kökenli olduğu da gösterilmiştir (27,28).

Yapılan çalışmalarda TGF- β 'nın serum düzeylerinin ilerleyen yaşlarda arttığı saptanmıştır. Lin et al. TGF- β düzeyindeki azalmanın yaşa bağlı olduğunu ve bu azalmanın yaşla ters orantılı olduğunu bulmuştur (29). Çalışma gruplarımız 26-75 yaş aralığında olduğu için 50 yaş altı bireylerde TGF- β düzeylerinin azaldığı ve 55 yaş üstü bireylerde arttığı bulunmuştur. Bu durumda, non-invaziv olarak tükürüğün bireylerde kana iyi bir alternatif örnek olarak kullanılabileceği anlamına gelir. Ayrıca, bağışıklık tepkisini dengelemek için önemli olan güçlü düzenleyici ve inflamatuvar aktiviteye sahip pleiotropik sitokin olan transforme edici büyüme faktörünün ağır COVID-19 hastalarında önemli ölçüde artmıştır (30). SARS-CoV-2 virüsü enfeksiyonu, bağışıklık hücrelerinin akciğerlere sızmasını artırır ve bu da hastaların kanına TGF- β salabilir (31).

Sonuç

Sitokinlerin, bağışıklık ve immünopatolojide önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir, bu nedenle yaşla birlikte bireylerde serum TGF- β düzeylerinde bir artış görülmektedir. Bizim çalışmamızın heterojen bir grup üzerinde yapılmış olması, birey sayısının az olmasına rağmen TGF- β değerlerinin belirlenen yaş grupları için faydalı olabileceğini göstermiştir.

Sonuçlar, yaş ile birlikte tükürük TGF- β

düzelelerinde bir artış olduğunu göstermektedir. İlerleyen yaş ile birlikte tükürük TGF- β düzeylerinin artması yapılan çalışmalar ile uyumludur. Ayrıca, bir DNA sentezi inhibitörü olan ve her ikisi de epitelyal proliferasyon için hayati önem taşıyan Na⁺/K⁺ ATPaz'ın ifadenmesini ve aktivitesini inhibe edebilen TGF- β 'nın artmasıyla desteklenir. Tükürükte TGF- β düzeylerinin belirlenen yaş gruplarında kesinliğini belirlemek için daha geniş örneklem büyüklüğünde daha fazla araştırma yapmak gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Xianglan Z, Jun Seop Y, Dawool H, Jong In Y, Hyun Sil K, and Euane Sandra C. TGF- β Pathway in Saliva Gland Fibrosis Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 9138; doi:10.3390/ijms21239138.
2. Massagué J. TGF- β signalling in context. Nat Rev Mol Cell Biol. 2012; 13(10):616-30.
3. Derynck R, Budi EH. Specificity, versatility, and control of TGF- β family signaling. Sci Signal. 2019; 12(570):eaav5183.
4. Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. Cell 2013; 153,1194-217.
5. He S, Sharpless NE. Senescence in Health and Disease. Cell 2017; 169, 1000-11.
6. Passarino G, De Rango F, Montesanto A. Human longevity: Genetics or Lifestyle? It takes two to tango. Immun. Ageing 2016; 13,12.
7. Cadenas E, Davies KJ. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. Free Radic. Biol. Med. 2000; 29,222-30.
8. Kaushik S, Cuervo AM. Proteostasis and aging. Nat. Med. 2015; 21,1406-15.
9. Morikawa M, Derynck R, Miyazono K. TGF- β and the TGF- β Family: Context-Dependent Roles in Cell and Tissue Physiology. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2016; 8.
10. Miyazono K, Katsuno Y, Koinuma D, Ehata

- S, Morikawa M. Intracellular and extracellular TGF-beta signaling in cancer: Some recent topics. *Front. Med.* 2018;12,387-411.
11. Feng XH, Derynck R. Specificity and versatility in TGFbeta signaling through smads. *Annu Cell Dev Biol* 2005; 21:659-93.
12. Meng XM, Tang PM, Li J, Lan HY. TGF-b/smud signaling in renal fibrosis. *Front Physiol* 2015; 6:82
13. Xu F, Liu C, Zhou D, Zhang L. TGF-b/SMAD pathway and its regulation in hepatic fibrosis. *J Histochem Cytochem* 2016; 64:157-67.
14. Sisto M, Lorusso L, Ingravallo G, Tamma R, Ribatti D, Lisi S. The TGFb1 signaling pathway as an attractive target in the fibrosis pathogenesis of Sjögren's syndrome. *Mediators Inflamm* 2018; 2018:1965935
15. Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, Panourgia MP, Invidia, L.; Celani, L.; Scurti, M.; et al. Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech. Ageing Dev.* 2007; 128,92-105.
16. Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2006; 24:99-146.
17. Fox RI, Kang H, Ando D, Abrams J, Pisa E. Cytokine mRNA expression in salivary gland biopsies of Sjögren's syndrome. *J Immunol* 1994; 152:5532-9.
18. Streckfus CF, Bigler L, Navazesh M, Al-Hashimi I. Cytokine concentrations in stimulated whole saliva among patients receiving varying doses of IFN- γ symptomatic treatment of Sjögren's syndrome: A preliminary study. *Clin Oral Invest* 2000; 5:133-5.
19. Battle E, Massague J. Transforming growth factor- β signaling in immunity and cancer. *Immunity.* 2019; 50(4):924-40.
20. Chen W, Frank ME, Jin W et al. TGF-beta released by apoptotic T cells contributes to an immunosuppressive milieu. *Immunity* 2001; 14:715-25.
21. Zhang H, Jiang Z, Chang J et al. Role of NAD(P)H oxidase in transforming growth factor-beta1-induced monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-6 expression in rat renal tubular epithelial cells. *Nephrology* 2009; 14:302-10.
22. Shull MM, Ormsby I, Kier AB, et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor- β 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature.* 1992; 359(6397):693-9.
23. Fionda C, Stabile H, Cerboni C, et al. Hitting more birds with a stone: impact of TGF- β on ILC activity in cancer. *J Clin Med.* 2020; 9(1):143.
24. Zhang F, Wang H, Wang X, et al. TGF- β induces M2-like macrophage polarization via SNAIL mediated suppression of a proinflammatory phenotype. *Oncotarget.* 2016; 7(32):52294-306.
25. Gocer P, Gurer US, Erten N, et al. Comparison of polymorphonuclear leukocyte functions in elderly patients and healthy young volunteers. *Med Princ Pract* 2005; 14:382-5.
26. Gregg R, Smith CM, Clark FJ, et al. The number of human peripheral blood CD4+ CD25 high regulatory T cells increases with age. *Clin Exp Immunol* 2005; 140:540-6.
27. Goodwin K, Viboud C, Simonsen L. Antibody response to influenza vaccination in the elderly: a quantitative review. *Vaccine* 2006; 24:1159-69.
28. Bruunsgaard H. Physical activity and modulation of systemic low level inflammation. *J Leuk Biol* 2005; 78:819-35.
29. Lin Y, Nakachi K, Ito Y. et al. Variations in serum transforming growth factor- β 1 levels with gender, age and lifestyle factors of healthy Japanese adults. *Disease Markers* 2009;

27:1,23-8.

30. Ghavazi A, Ganji A, Kshavarzaian N et al. Cytokine profile and disease severity in patients with COVID-19. *Cytokine*, 2021; 137:155323. doi: 10.1016/j.cyto.2020.155323.

31. Sanjabi S, Oh SA, Li MO. Regulation of the immune response by TGF- β : from conception to autoimmunity and infection, *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.*2017; 9:(6).a022236.