T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OBEZİTE VE TİP 2 DİYABET HASTALIKLARININ PATOGENEZİNDE YER ALAN İNSÜLİN DİRENCİNİN GELİŞİMİNDE PIK3R1 (FOSFOTİDİLİNOSİTOL 3 KİNAZ P85 ALFA DÜZENLEYİCİ ALT ÜNİTE 1) GEN POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ

A.Hakan KARADOĞAN

DOKTORA TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Hilal ARIKOĞLU

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 13202033 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2016

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Hakan KARADOĞAN tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri başkanı:	Prof. Dr. Ahmet ARSLAN Gaziantep Üniversitesi	İmza
Danışman:	Yrd. Doç. Dr. Hilal ARIKOĞLU Selçuk Üniversitesi	İmza
Üye:	Prof. Dr. S. Sennur DEMİREL Necmettin Erbakan Üniversitesi	İmza
Üye:	Prof. Dr. Tülin ÇORA Selçuk Üniversitesi	İmza
Üye:	Doç. Dr. Emine ARSLAN Selçuk Üniversitesi	İmza

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim kurulu …… tarih ve …… sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Hasan Hüseyin DÖNMEZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

En başta tez çalışmamın danışmanlığını üstlenip tezin her aşamasında bilimsel bilgi ve birikimiyle yön göstererek katkıda bulunan, yardımlarını, desteğini ve sabrını esirgemeyen Yard. Doç. Dr. Hilal ARIKOĞLU'na,

Bilimsel düşünceyi ve bilim sevgisini borçlu olduğum Prof. Dr. Ahmet Arslan'a,

Başlangıçta danışmanlığımı yapan daha sonra emekli olan Prof. Dr. Sennur Demirel'e,

Deneylerin gerçekleştirildiği tüm aşamalarında gösterdiği, içten ve fedakar çalışmaları nedeniyle araştırma görevlisi Fatma Göktürk'e,

Çalışma gruplarının oluşturulmasında yardımcı olan sayın Yrd.Doç.Dr. Süleyman Hilmi İpekçi'ye,

Tezin istatistik değerlendirmesinde yardımlarını esirgemeyen sayın Yrd.Doç.Dr. Funda İşcioğlu ve Doç.Dr. Sevim Karakaş'a,

Ara verdiğim doktora çalışmalarıma yıllar sonra yeniden dönmemde beni teşvik edip cesaretlendiren ablam Yard. Doç. Dr. Z. Zühal GÜVEN'e,

Manevi desteklerini esirgemeyen varlık nedenim Anne ve Babama,

Maddi destekleri ile tezime sağladıkları katkı nedeniyle S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne

Ve her şeyden önemlisi tezimin başlangıcından bitimine kadar her aşamasında yanımda olmasından büyük mutluluk ve gurur duyduğum ezelde tanıyıp ebede kadar seveceğim, hayat arkadaşım her şeyim Nilüfer'e ve onun dünyaya gelmesine vesile olan rahmetli Anne ve Babası'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR v

ÖZET viii

SUMMARY ix

1. GİRİŞ 1

1.1. Diabetes Mellitus 4

1.1.1. Tanımı ve Sınıflandırılması 4

1.1.2. Tip 2 Diyabetin Etiyopatogenezi 7

1.1.3. Tip 2 Diyabetin Epidemiyolojisi ve Önemi 11

1.1.4. Tip 2 Diyabet Genetiği 12

1.2. Obezite 14

1.2.1. Tanısı 16

1.2.2. Obezitenin Etiyolojisi 16

1.2.3. Obezitenin Epidemiyolojisi ve Önemi 16

1.2.4. Obezite Genetiği 18

1.3. İnsülin Direnci 19

1.4. İnsülin Hormonu ve Aktivasyonu 27

1.4.1.İnsülin Reseptörü ve İnsülin Reseptör Substratları 31

1.4.2. İnsülin Sinyal İleti Yolu 34

1.4.3. İnsülin Sinyal İleti Yolunun Düzenlenmesi 40

1.5. PIK3R1 Geni ve Proteini 46

2.MATERYAL VE METOD 50

2.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması 50

2.3. DNA eldesinde, PZR ve Real-time PCR için gerekli olan kimyasal maddeler 51

2.4. DNA eldesi 51
2.4.1. DNA eldesi için gerekli solüsyonların hazırlanması 51
2.4.2. DNA Eldesi 52
2. 5. Hedef Gen Bölgelerinin Belirlenmesi 53
2. 6. Hedef Gen Bölgelerinin Genotiplenmesi 53
2.6.1. Reaksiyon karışımının hazırlanması 54
2.6.2. Real-time PCR analizi 54
2.7. İstatistik Analizler 55
2.7.1. Tanımlayıcı istatistik analizleri 55
2.7.2. İlişki analizleri 55
2.7.3. Genotip-fenotip ilişki analizleri 56
3. BULGULAR 57
3.1. Çalışma Gruplarının Klinik Özellikleri 57
3.2. PIK3R1 Genindeki SNP'lerin belirlenmesi 57
3.2. İlişki çalışması 62
4. TARTIŞMA 65
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 74
6. KAYNAKLAR 76
7. EKLER 93
8. ÖZGEÇMİŞ 95

SİMGELER VE KISALTMALAR

αIRKO:	α Insulin Receptor Knockout
ABCC8:	ATP-Binding Cassette, Sub-Family C, Member 8
ADA:	American Diabetes Associaton
AKG:	Açlık Kan Glukozu
AMPK:	AMP-activated Protein Kinase
BDNF:	Brain Derived Neurotrophic Factor
BGT:	Bozulmuş Glukoz Toleransı
BMI:	Body Mass Index
CAPN10:	Calpain10
CoA:	Co-enzym A
EDTA:	Etilendiamin Tetraasetik Asit
FOXO:	Forkhead Box Class O
FTO:	Fat Mass and Obesity Associated
GAP:	GTPaz Aktive Edici Protein
GK:	Glukokinaz
GLUT:	Glucose Transporter Facilitator
GSK3:	Glikojen Sentaz Kinaz 3
GSKβ:	Glikojen Sentaz kinaz β
HDL:	High Density Liporotein
HIV:	Human Immunodeficiency Virus
HNF4A:	Hepatocyte Nuclear Factor 4 alpha
IFG:	Impaired Fasting Glucose; bozulmuş açlık glukozu
IGT:	Impaired Glucose Tolerance; bozulmuş glukoz toleransı
IL6:	Interlökin 6
IR:	İnsülin Reseptörü
IRS:	İnsülin Reseptör Subtratı
JAK:	Janus Kinase
JNK:	Jun Amino-Terminal Kinases
KCNJ11:	Potassium Voltage-gated Channel Subfamily J Member 11

LAR:	Leukocyte Common Antigen-Related
LIRKO:	Liver-Specific Insulin Receptor Knockout
MAP:	Mitogen-Activated Protein
MC4R:	Melanaokortin-4 reseptörü
NAD/NADH:	Nicotinamide Adenine Dinucleotide (Okside/Redükte)
NEFA:	Non Esterified Fatty Acid
PDGF:	Platelet Derived Growth Factor
PDH:	Pirüvat Dehidrogenaz
PDK:	Phosphoinositide-Dependent Protein Kinases (fosfoinositid bağımlı protein kinaz (PBK)
PDK:	Piruvat Dehidrogenaz Kinaz
PH:	Pleskstrin Homoloji
PIK3:	Phosphaditil Inositol 3 Kinase
PIK3R1:	Phosphoinositide-3-Kinase, Regulatory Subunit 1
PIP2:	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate
PIP3:	Phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate
PKC:	Protein kinaz C
PLCγ:	Protein Lipaz C gamma
POMC:	Proopiomelanokortin
PPARG:	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma
PTB:	Fosfotirozin Bağlayıcı Bölge
PTEN:	Phosphatase and Tensin Homolog
PTP:	Protein Tirozin Fosfataz
PZR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Ras MAP kinaz:	Ras Mitojen Aktivasyonlu Protein Kinaz
RBP4:	Retinol-Binding Protein 4
SH2B:	SH2 Adaptör Protein
SNARE:	Soluble N-ethylmaleimide Attachment Protein Receptor
SNP:	Single Nucleotide Polymorphism
STAT:	Signal Transducers and Activators of Transcription

TAG:	Triacylglyserol
T1DM:	Tip 1 Diabetes Mellitus
T2DM:	Tip 2 Diabetes Mellitus
TCF7L2:	Transcription Factor 7-like 2
TNFα :	Tumor Necrosis Factor-α
TOR:	Target Of Rapamycin
TORC1,2:	TOR Compleks 1,2
TURDEP:	Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması
UTR:	Untranslated Region
VKİ:	Vücut Kitle İndeksi
VLDL:	Very Low Density Lipoprotein
WHO:	World Health Organization

ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Obezite ve Tip 2 Diyabet Hastalıklarının Patogenezinde Yer Alan İnsülin Direncinin Gelişiminde PIK3R1 (fosfotidilinositol 3 kinaz p85 alfa düzenleyici alt ünite 1) Gen Polimorfizmlerinin Rolü

A.Hakan Karadoğan

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2016

İnsülin direnci; başlıca yağ dokusu, iskelet kası ve karaciğer hücreleri gibi hedef dokularda insülinin azalmış etkisine bağlı olarak, glukozun hücre içine alımının azalması şeklinde tanımlanır ve hem obezite hem de T2DM'nin karakteristik özelliğidir. İnsülin direnci gelişiminde insülin sinyal mekanizmasını ilgilendiren postreseptör düzeydeki defektler önem kazanmaktadır. İnsülin reseptör substratının (IRS), fosfotidilinositol 3 kinaz (PI3K)'ın düzenleyici etkiye sahip p85α alt ünitesine bağlanması, PI3K aktivasyonu ile sonuçlanmakta ve Akt'nin de içinde yer aldığı yolakların aktivasyonu gerçekleşmektedir. Bu durum, insülinin metabolik etkileri kadar, hücre büyümesi çoğalması, farklılaşması ve mitojenik etkilerinin oluşması için de gereklidir. T2DM'li ve obez hastalarda, insülin reseptörünün aşağı yönündeki PI3K insülin sinyal sisteminin p85α alt ünitesinde oluşan değişikliklere bağlı olarak baskılanmasıyla yolak aktivasyonunun bozulduğu insülin direncininin tetiklendiği bilinmektedir.

Çalışmamızda ilk kez Türk toplumunda 427 diyabetik (206 obez ve 221 nonobez) ve 413 diyabetik olmayan (138 obez ve 275 nonobez) olmak üzere toplam 840 bireyde, insülin sinyal yolunda anahtar protein olarak bilinen p85α alt ünitesini kodlayan PIK3R1 genindeki 6 tek nükleotid polmorfizminin (SNP), T2DM ve ilgili diğer fenotipik özellikler ile ilişkisi araştırılmıştır. Bu SNP'ler; rs3756668 (3' UTR), rs706713 (ekzon 1), rs3730089 (ekzon 6), rs7713645 ve rs7709243 (intron 1), rs1550805 (intron 6)'dır. Çalışmalarımızda, SNP rs706713, tip 2 diyabet ile önemli düzeyde ilişkili bulunmuştur. Ayrıca SNP rs706713'ün obez ve non-obez gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde, özellikle non-obezlerde hastalıkla güçlü ilişkisinin varlığı ortaya konmuştur. SNP rs3730089 (Met326Ile) değişiminin tip 2 diyabet ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. İntron 1'de lokalize SNP'lerden rs7709243 değişiminin obez bireylerde, SNP rs7713645 değişiminin ise non-obezlerde hastalıkla ilişkil olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). rs1550805'in ise vücut kitle indeksi ($p=0,007$) ve serum c-peptid düzeyi ($p=0,023$) ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur.

Bu yönüyle çalışmamız; insülin sinyal akışında kritik öneme sahip önemli bir aday gen olan PIK3R1'in T2DM ve obezite gelişimindeki rolünü desteklemektedir.

Anahtar sözcükler: Obezite, PI3K/Akt sinyal yolu, PIK3R1, SNP, Tip 2 Diabetes Mellitus,

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

The role of PIK3R1 (phosphotidylinositol 3 kinase p85 alpha regulatory subunit 1) gene polymorphisms on development of insulin resistance, involved in the pathogenesis of obesity and type 2 diabetes

Insulin resistance is mainly defined as decreased glucose uptake depending on reduced insulin effects on target tissues such as fat, skeletal muscle and liver, and it is characteristic feature of both obesity and T2DM. Postreceptor defects releated insulin signaling is important in developing insulin resistance. Binding insulin receptor substrate (IRS) to p85α regulator subunit of phosphoditilinositol 3 kinase (PI3K) results in PI3K activation and subsequently the activation of some pathway including Akt recruitment occurs. This case is necessary not only for metabolic effects of insulin but also cell growth, proliferation, differentiation and mitogenic effect. It is known that insulin resistance is trigered in obese and nonobese T2DM patients via the inhibition of downstream insulin receptor in PI3K signalling pathway due to the changes in PIK3R1 protein.

For the first time in Turkey the relationship between 6 single nucleotide polymorphism (SNP) in PIK3R1, which is known key protein in insulin signaling pathway, and T2DM and T2DM-related phenotypic features was investigated on 427 diabetic and 413 non diabetic, totally 840 participants in our study.

These were rs3756668 (3' UTR), rs706713 (exon 1), rs3730089 (exon 6), rs7713645 and rs7709243 (intron 1), rs1550805 (intron 6). As a resul of study, SNP rs706713 was found significantly related to T2DM, and when obese and non-obese groups were evaluated separately, a significant relation between rs706713 and the disease in non obese group was found. It was also found that SNP rs3730089 (Met326Ile) was related with T2DM. The other findings were while rs7709243C>T polymorphism localised intron 1 on PIK3R1 gene was related to disease in obese individuals, SNP rs7713645 changing was related to disease in non-obese individuals ($p<0,05$), and rs1550805 was significantly related with BMI ($p=0,007$) and serum c-peptide level ($p=0,023$).

In this respect, our study supports the role of a significant candidate gene PIK3R1 which has critical importance in insulin signalling in obesity and T2DM incidence.

Key words: Obesity, PIK3R1, PI3K/Akt signalling pathway, SNP, Type 2 Diabetes Mellitus,

1. GİRİŞ

Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM), yüksek kalorili beslenme, azalmış fiziksel aktivite gibi çevresel faktörler ile poligenik arka plan arasındaki etkileşimler sonucu ortaya çıkmakta, yaygınlığı ve sıklığı ise Türkiye ve dünyada giderek artmaktadır. Başta kalp ve damar sistemi hastalıkları olmak üzere kronik ve hasar bırakıcı pek çok hastalığın eşlik etmesi nedeniyle bireylerin yaşam kalitesini önemli ölçüde etkilemesinin yanı sıra, hem diyabetin hem de eşlik eden hastalıkların tedavi maliyetleri, yaygınlığı göz önüne alındığında, T2DM'yi toplum sağlığını tehdit edici bir unsur olarak karşımıza çıkarmaktadır (American Diabetes Associaton; ADA 2015).

Obezite ise insülin direncine yol açması nedeniyle T2DM etiyolojisinde yer alan en önemli faktörlerden birisidir. Obezite yaygın görülmesi ve hızlı artış göstermesiyle birlikte pek çok kronik hastalığın eşlik ettiği, bu hastalıklara bağlı belirgin mortalite artışı ile yakından ilişkisi olan ve sağlığın bozulmasına etkisi açısından değerlendirildiğinde halk sağlığını tehdit eden hastalıklar arasında ilk sıralarda yerini almaktadır (World Health Organization; WHO 2000).

T2DM ve obezite sıklıkla ailesel geçiş gösteren hastalıklar olup, aile öyküsü olan bireylerde risk artışının olduğu, bilinmektedir (Lyssenko ve ark 2005, Reilly ve ark 2005). T2DM ve obezitenin genetik geçişinde, birden fazla genin dahil olduğu karmaşık bir geçiş sözkonusudur (Lyon ve Hirschhorn 2005).

Obezite ve T2DM'nin en önemli ortak karakteristik özelliği, insüline karşı hedef hücrelerinin gösterdiği dirençtir. Başlıca yağ dokusu, iskelet kası ve karaciğer hücreleri gibi hedef dokularda insülinin azalmış etkisine bağlı olarak, glukozun hücre içine alımında ortaya çıkan azalma; insülin direnci olarak tanımlanır (Mather ve ark 2013). İnsülin, hedef dokulardaki aktivasyonunu PIK3/Akt yolu üzerinden gerçekleştirmektedir (Zick 2003). PI3K, insülinin olduğu kadar leptinin de metabolik etkilerini gerçekleştirdiği yolaklarda yer almaktadır (Jamshidi ve ark 2006).

İnsülinin hedef dokularda aktivasyon gösterebilmesi için gerekli olan metabolik yolaklarda görev alan proteinlerden herhangi birindeki bir bozukluk ya da değişikliğin insüline direncin gelişmesine neden olabileceği bilinmektedir (Okada ve ark 1994, Abdul-Ghani ve Cusi ve ark 2000, DeFronzo 2010). İnsülinin hedef

dokulardaki aktivitesinde iş gören yolaklardaki proteinleri kodlayan genler hem obezite hem de T2DM gelişiminde aday gen olarak tanımlanmaktadır. Bugüne kadar tanımlanmış bu aday genlerden en kuvvetli ilişkilendirilen bazı genler, T2DM için PPARG, CAPN10, HNF4A ve TCF7L2 (Cox ve ark 2004, Silander ve ark 2004, Barroso ve ark 2006, Damcott ve ark 2006, Florez ve ark 2007), obezite için ise FTO, MC4R, BDNF, SH2B, leptin ve leptin reseptör genleridir (Chagnon ve ark 2002, Hinney ve ark 2010).

Genlerde ortaya çıkan ve genellikle tek nükleotid polimorfizmi (single nucleotide polymorphism; SNP) şeklinde rastlanan polimorfizmlerin bazıları, genin bioyolojik işlevini değiştirerek protein yapısında değişikliğe neden olabilmektedir. Ancak intronik ve düzenleyici bölgelerde yer alan ve işlevsel olmayan çoğu SNP, protein yapısında değişiklik yapmamakla birlikte genlerin ifadesini etkileyebilmektedir. Bu değişiklikler ayrı ayrı veya birlikte kümülatif etki göstererek T2DM ve obezite gibi poligenik hastalıklara yatkınlık oluşturabilmektedirler (Lyon ve Hirschhorn 2005, Glamočlija ve Čaušević 2010). Genetik çeşitliliğin T2DM ve obezite üzerindeki etkisini incelemek için yapılan aday gen çalışmaları ve genom boyu ilişki analizleri ile çok sayıda gen ve varyantın bu hastalıkların zemininde rol oynadığına dair oldukça güçlü kanıtlar elde edilmiştir. Bu sonuçlar T2DM ve obezitenin karmaşık genetik yapısını teyid etmekte ve varyasyonların bu hastalıkların kalıtılmasında önemli katkı sağladığını kanıtlamaktadır.

Bu aday genlerden olduğu bilinen PIK3R1 geni (Barroso ve ark 2003), fosfotidilinositol 3-kinaz (PI3K)'ın düzenleyici alt ünitesi olan p85α'yı kodlamaktadır (Vanhaesebroeck ve ark 2005). İnsülin direnci gelişmiş farelerde yapılan, insülin reseptör, insülin reseptör substratları ve PIK3R1 genlerinin farklı kombinasyonlarda baskılandığı (knockout) in vivo çalışmalarda p85α alt ünitenin ifadesindeki azalmanın insülin sinyalizasyonunu düzelttiği ve glukoz homeostazisini ayarladığı yönünde bulgular elde edilmiştir (Mauvais-Jarvis ve ark 2002). Diğer in vivo çalışmalarda ise p85α alt ünitesindeki artışa bağlı olarak, artan alt ünitenin p85/p110 heterodimerik (PI3K) kompleksi ile yarışa girerek (Ueki ve ark 2002) iskelet kaslarında insülin direncini tetiklediği tespit edilmiştir (Barbour ve ark 2004). PI3K aktivitesinin düzenlenmesinin insülin sinyalizasyonun-daki kritik önemi, PI3K'nın terapötik yaklaşımlar için de hedef olabileceğini düşündürmektedir. PI3K, tip 2 diyabet ile

olduğu kadar obezite ile de ilişkili olduğu bilinen aday genlerle düzenlenen metabolik yolakların pek çoğunda, doğrudan ya da dolaylı olarak yer aldığı için, insülin direnci zemininde obezite ve/veya diyabet gelişiminde rol oynamaktadır.

İn vivo çalışmaların yanı sıra PIK3R1 genindeki varyasyonların insülin direnci gelişme riski ile birlikte yağ dokusu artışına ve dolayısıyla da obeziteye yol açtığına dair popülasyon temelli ilişki çalışmaları da bulunmaktadır. Bununla birlikte, PIK3R1 genindeki SNP'lerin Tip 2 diyabet gelişimiyle ilişkisini araştıran farklı popülasyonlarda yapılmış çalışmalar da mevcuttur. PIK3R1 geninde yer alan intronik SNP IVS4+82'nin insülin direncine bağlı vücut kitle artışı ile birlikte ortaya çıkan bozulmuş insülin etkilerine bağlı olarak T2DM gelişim riskini artırdığı rapor edilmiştir (Barroso ve ark 2003, Małodobra ve Dobosz 2008). PIK3R1 genindeki Met326Ile değişikliğinin T2DM riskini artırdığı bulguları literatürde yer alırken (Chen ve ark 2005, Jamshidi ve ark 2006), bu aminoasit değişikliğinin diyabet açısından artmış bir risk oluşturmadığına dair raporlar da bulunmaktadır (Hansen ve ark 1997, Hansen ve ark 2001).

PIK3R1 geninde yer alan ve çalışmamıza da konu olan diğer SNP'lerin de, vücut kitle indeksi (VKİ), insülin direnci, açlık ve tokluk kan glukoz düzeyleri gibi değişkenleri ele alarak T2DM ile ilişkisini inceleyen çalışmalar da bulunmaktadır. PIK3R1 geninin proteine çevrilmeyen UTR (untranslated region) dizilerini kodlayan bölgelerindeki bazı SNP'lerin, özellikle 3'UTR bölgesindeki SNP rs3756668 değişikliğinin, gen ifade düzeyini değiştirerek (Malodobra ve ark 2011, Malodobra 2011) insülin direnci riskini artırmasının yanısıra vücut kitle indeksi ile de ilişkili olduğu ve diyabetin ortaya çıkması açısından yüksek risk oluşturduğu bildirilmiştir (Malodobra ve ark 2011). Ekzon 1'de bulunan SNP rs706713 değişiminin sessiz bir değişim olmakla birlikte protein işlevini azalttığı yönünde raporlar da bulunmaktadır (Rai ve ark 2012).

PIK3R1 üzerindeki 8 adet tSNP (tagging SNP)'i kapsayan, ikiz kadın bireylerden oluşan geniş popülasyonlu bir çalışmada, PIK3R1 genindeki bu tSNP'lerin serum leptin düzeyi, vücut yağ kütlesi ve glukoz/insülin homeostazı üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Jamshidi ve ark 2006). Araştırma sonucuna göre; bu tSNP'lerden özellikle rs1550805'in, serum leptin düzeyi, VKİ, vücut ağırlığı ve bel çevresi genişliği ile belirgin olarak ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra intronik

SNP'ler rs7713645 ve rs7709243'ün VKİ ile, rs7709243'in ise vücut ağırlığı ile birlikte toplam ve santral yağlanma ile ilişkisinin belirgin olduğu bulunurken her iki tSNP'nin açlık kan glukozu ve oral glukoz uygulanmasından 2 saat sonraki kan glukoz düzeyi ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir. SNP rs706713'ün ise santral ve genel obezite skorları yanı sıra glukoz ve insülin değişkenleri açısında da belirgin bir etkisi belirlenmemiştir (Jamshidi ve ark 2006).

PI3K enziminin p85 düzenleyici alt ünitesini kodlayan PIK3R1 genindeki polimorfizmlerin insülin direnci, obezite ve tip 2 diyabetin yanı sıra kanser gibi hastalıkların gelişimi ile de ilişkili olduğu bulunmuştur (Conne ve ark 2000, Nelsoe ve ark 2006, Chen ve ark 2010, Malodobra ve ark 2011). Gen polimorfizmlerinin obez ve kanserli bireylerdeki gen ifade düzeyleri ve hastalıklarla ilişkisi üzerine yapılan çalışmalarda intronik varyantların da önemli etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Jamshidi ve ark 2006, 2007, Chen ve ark 2006, Kwon ve ark 2011, Wang 2012).

Çalışmamızda; PIK3R1 genindeki polimorfizmlerin Tip 2 diyabet, obezite ve kanser gibi hastalıkların gelişimi ile ilişkili olması ve T2DM tedavisinde kullanılan bazı ilaçların etkisiyle insülin duyarlığının ortaya çıkmasına katkıda bulunan genlerin PI3K/Akt sinyal yolunu direkt ya da indirekt olarak etkilemesi nedeniyle bu yoldaki anahtar protein olan PIK3R1 genindeki polimorfizmlerin ilk kez Türk toplumunda obez ve obez olmayan Tip 2 diyabetik bireylerde taranması hedeflenmiştir. Bu amaçla PIK3R1 geninin 3'UTR bölgesindeki SNP rs3756668, ekzon 1 ve 6'da yer alan sırasıyla SNP rs706713 ve rs3730089, ile intronik SNP'ler olan rs7713645, rs7709243 ve rs1550805 değişikliklerinin T2DM ve ilişkili oldukları klinik özellikler üzerine etkilerinin belirlenmesine yönelik yaptığımız çalışma sonuçlarının, literatüre önemli katkılar sağlamasının yanı sıra T2DM ve ona eşlik eden hastalıkların erken tanısında ya da tedavisinde yeni yaklaşımların geliştirilmesine katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

1.1. Diabetes Mellitus

1.1.1. Tanımı ve Sınıflandırılması

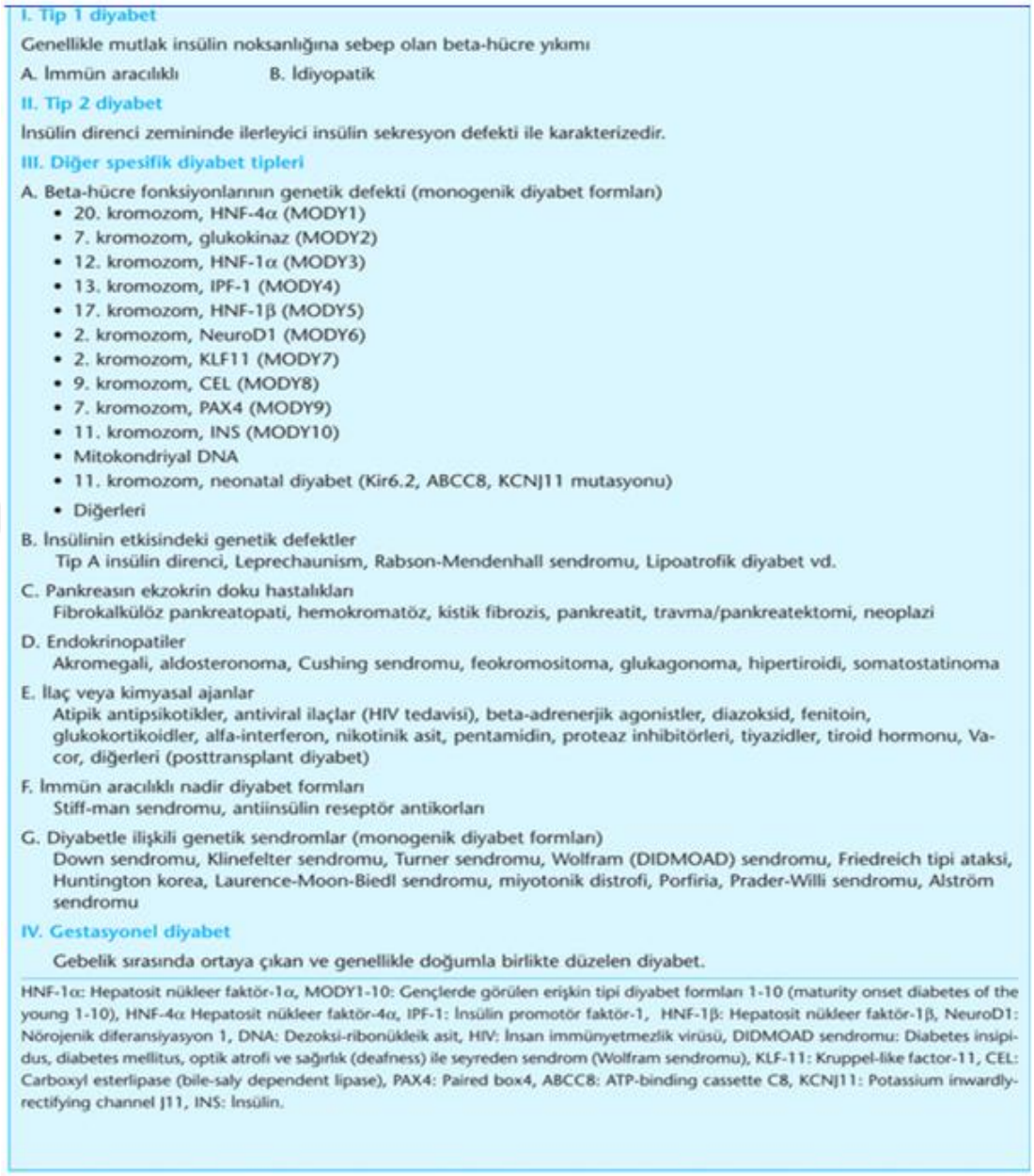
Diabetes Mellitus insulin sekresyonunda, insulinin etkilerinde veya her ikisinde ortaya çıkan bir bozukluktan kaynaklanan, hiperglisemi ile karakterli bir grup metabolik hastalığı ifade etmektedir (ADA 2014). Bu hastalıkta karbonhidrat, yağ ve

protein metabolizmasındaki bozuklukların sonucu olarak birçok organda yetmezlik bulguları ortaya çıkmaktadır (Alberti ve Zimmet 1998). Hastalık tablosunda rastlanan hiperglisemiye, poliüri, polidipsi, kilo kaybı ve bazen de polifaji ve görmede bulanıklık eşlik etmektedir. Çocuklarda kronik hiperglisemiye bağlı olarak, büyüme geriliği ve enfeksiyonlara yatkınlık da sıklıkla görülmektedir (ADA 2014).

Tip 1 ve Tip 2 diyabet olmak üzere başlıca iki tip diyabet vardır. Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM) pankreasın beta (β) hücrelerinin otoimmün harabiyetine bağlı olarak ortaya çıkar ve insülin salgılanmasında tam bir yetmezlik sözkonusudur. Tip 1 Diyabetli bireyler yaşam boyu insülin desteğine gereksinim duyarlar ve tüm diyabet vakalarının yaklaşık %10'unu oluştururlar. Tip 2 diabetes Mellitus ise insülin etkilerine karşı oluşan direncin ve bu direnci telafi etmek için ortaya çıkan insülin salgısındaki yetersizliğin bileşimi olarak karşımıza çıkmaktadır ve diyabet vakalarının yaklaşık %90-95'ini oluşturmaktadır (ADA 2014). Göreceli olarak insülin yetmezliği gösteren bu hastalar, en azından başlangıç safhasında sıklıkla da hayatları boyunca insülin tedavisine ihtiyaç duymamaktadırlar (ADA 2015).

T1DM ve T2DM'den başka bazı spesifik diyabet tipleri ve gestasyonel diyabet de bulunmaktadır (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Diyabetin etiyolojik sınıflandırılması (Dinççağ 2011).



I. Tip 1 diyabet

Genellikle mutlak insülin noksanlığına sebep olan beta-hücre yıkımı

A. İmmün aracılıklı B. İdiyopatik

II. Tip 2 diyabet

İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir.

III. Diğer spesifik diyabet tipleri

A. Beta-hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları)
- 20. kromozom, HNF-4α (MODY1)
- 7. kromozom, glukokinaz (MODY2)
- 12. kromozom, HNF-1α (MODY3)
- 13. kromozom, IPF-1 (MODY4)
- 17. kromozom, HNF-1β (MODY5)
- 2. kromozom, NeuroD1 (MODY6)
- 2. kromozom, KLF11 (MODY7)
- 9. kromozom, CEL (MODY8)
- 7. kromozom, PAX4 (MODY9)
- 11. kromozom, INS (MODY10)
- Mitokondriyal DNA
- 11. kromozom, neonatal diyabet (Kir6.2, ABCC8, KCNJ11 mutasyonu)
- Diğerleri

B. İnsülinin etkisindeki genetik defektler
Tip A insülin direnci, Leprechaunism, Rabson-Mendenhall sendromu, Lipoatrofik diyabet vd.

C. Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları
Fibrokalkülöz pankreatopati, hemokromatöz, kistik fibrozis, pankreatit, travma/pankreatektomi, neoplazi

D. Endokrinopatiler
Akromegali, aldosteronoma, Cushing sendromu, feokromositoma, glukagonoma, hipertiroidi, somatostatinoma

E. İlaç veya kimyasal ajanlar
Atipik antipsikotikler, antiviral ilaçlar (HIV tedavisi), beta-adrenerjik agonistler, diazoksid, fenitoin, glukokortikoidler, alfa-interferon, nikotinik asit, pentamidin, proteaz inhibitörleri, tiyazidler, tiroid hormonu, Vacor, diğerleri (posttransplant diyabet)

F. İmmün aracılıklı nadir diyabet formları
Stiff-man sendromu, antiinsülin reseptör antikorları

G. Diyabetle ilişkili genetik sendromlar (monogenik diyabet formları)
Down sendromu, Klinefelter sendromu, Turner sendromu, Wolfram (DIDMOAD) sendromu, Friedreich tipi ataksi, Huntington korea, Laurence-Moon-Biedl sendromu, miyotonik distrofi, Porfiria, Prader-Willi sendromu, Alström sendromu

IV. Gestasyonel diyabet

Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet.

HNF-1α: Hepatosit nükleer faktör-1α, MODY1-10: Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları 1-10 (maturity onset diabetes of the young 1-10), HNF-4α Hepatosit nükleer faktör-4α, IPF-1: İnsülin promotör faktör-1, HNF-1β: Hepatosit nükleer faktör-1β, NeuroD1: Nörojenik diferansiyasyon 1, DNA: Dezoksi-ribonükleik asit, HIV: İnsan immünyetmezlik virüsü, DIDMOAD sendromu: Diabetes insipidus, diabetes mellitus, optik atrofi ve sağırlık (deafness) ile seyreden sendrom (Wolfram sendromu), KLF-11: Kruppel-like factor-11, CEL: Carboxyl esterlipase (bile-saly dependent lipase), PAX4: Paired box4, ABCC8: ATP-binding cassette C8, KCNJ11: Potassium inwardly-rectifying channel J11, INS: İnsülin.

Son 10 yılda diyabet tanı ve sınıflamasında glukoz metabolizmasındaki diğer bozuklukları da kapsayacak şekilde değişiklikler yapılmıştır. Son yıllarda diyabet tanı ve sınıflandırma kriterleri içine glukoz metabolizmasındaki değişiklikler de dahil edilmiştir. Amerikan Diyabet Birliği (ADA) 1997 yılında yayınladığı yeni tanı ve sınıflandırma kriterleri 1999 yılında Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation; WHO) tarafından pek az değişkliklerle kabul edilmiştir. ADA'nın bozulmuş açlık glukozu (Impaired Fasting Glucose; IFG) tanımını eklemesi 2003 yılında gerçekleşmiştir. WHO ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (International Diabet Federation; IDF) 2006 yılındaki raporlarında 1999 kriterlerinin korunmasını

benimsediklerini bildirmişlerdir. Günümüzde diyabet tanımlaması için bu düzenleme kabul edilmektedir (Çizelge 1.2) (Dinççağ 2011).

Çizelge 1.2. Diyabetes Mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri (Dinççağ 2011).

	Aşikar DM	İzole IFG**	İzole IGT	IFG + IGT	DM riski yüksek
APG (≥ 8 saat açlıkta)	≥ 126 mg/dL	100-125 mg/dL	< 100 mg/dL	100-125 mg/dL	-
OGTT 2. st. PG (75 g glukoz ile)	≥ 200 mg/dL	< 140 mg/dL	140-199 mg/dL	140-199 mg/dL	-
Rastgele PG	≥ 200 mg/dL + Diyabet semptomları	-	-	-	-
A1C***	≥ %6.5 (≥ 48 mmol/mol)	-	-	-	%5.7-6.4 (39-46 mmol/mol)

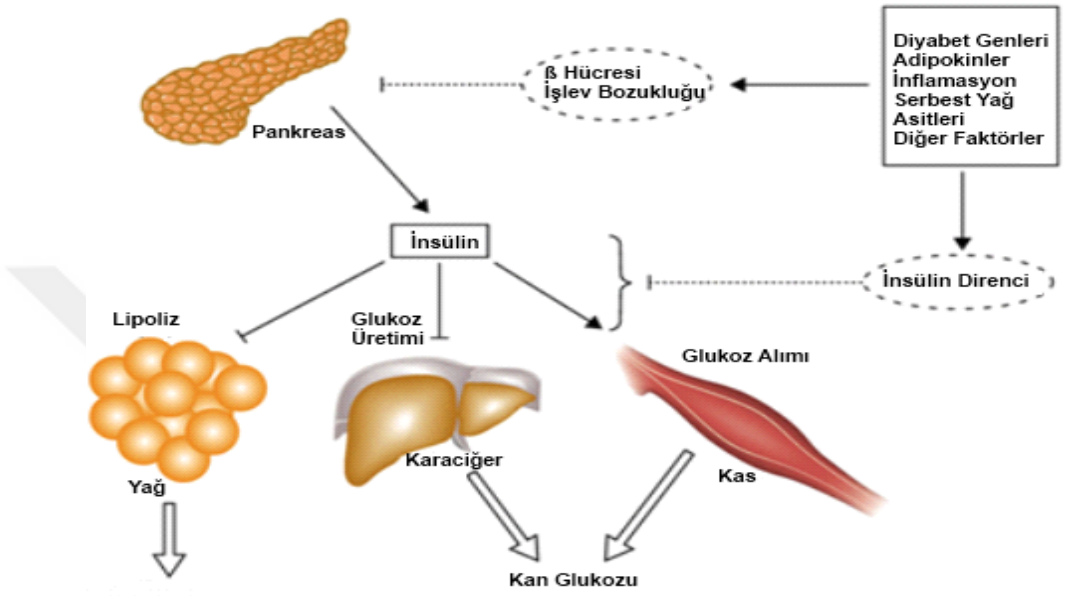
* Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemiyle mg/dL olarak ölçülür.
** 2006 yılı DSÖ/IDF raporunda normal APG kesim noktasının 110 mg/dL ve IFG: 110-125 mg/dL olarak korunması benimsenmiştir.
*** Standardize yöntemlerle ölçülmelidir.
DM: Diabetes mellitus, APG: Açlık plazma glukozu, 2. st PG: İkinci saat tokluk plazma glukozu, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, A1C: Glikozillenmiş hemoglobin A_{1c}, IFG: Bozulmuş açlık glukozu (Impaired Fasting Glucose), IGT: Bozulmuş glukoz toleransı (Impaired Glucose Tolerance), DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü, IDF: Uluslararası Diyabet Federasyonu.

Sağlıklı bireylerde glukozun uyarması ile pankreas β hücrelerinde karakteristik bifazik insülin salınımı ortaya çıkmaktadır. İlk faz olan akut faz, glukoz alımını takiben ilk 1-2 dk içerisinde başlar ve yaklaşık 10 dk içerisinde sona erer. İkinci faz ise daha uzundur, onuncu dakikadan sonra başlar ve hiperglisemi var olduğu sürece devam eder. T2DM'de bu ilk faz neredeyse kaybolmuş gibiyken ikinci faz kısmen de olsa korunmuştur (Perley ve Kipnis 1967). İnsülinin salgılanmasında iki tip dalgalanma söz konusudur. Ani dalgalanmalar her 8-15 dk da bir tekrarlanmaktadır ve glukoz düzeyindeki değişikliklerden bağımsız gibi görünmektedir. Daha yavaş olan dalgalanmalar ise her 80-120 dk da bir tekrarlar ve glukoz konsantrasyonun-daki değişikliklerle yakından ilişkilidir (Mitrakou ve ark 1992). O'Meara ve ark (1993)'na göre bozulmuş glukoz toleransı (BGT) ve T2DM'li hastalarda bu ikinci dalgalanmalarda aksama bulumaktadır. Özellikle BGT olan bireylerde oral glukoz alımını takiben, gecikmiş ve zayıflamış bir insülin cevabının oluştuğu gözlenmiştir (Mitrakou ve ark 1992). Bu durum insülin salgılanmasının glukoz uyarımlı olarak düzenlenmesindeki bozukluğa işaret etmektedir (O'Meara ve ark 1993).

1.1.2. Tip 2 Diyabetin Etiyopatogenezi

Diyabetin etiyolojisinde yer alan ana faktörler yaş, obezite, ailede diyabet varlığı ve fiziksel inaktivitedir (Forouhi ve Wareham 2014). T2DM'nin nedenleri hem

genetik hem de çevresel faktörleri içermesi açısından multifaktöriyeldir. İnsülinin sentezlenip salgılandığı pankreas β hücrelerinin işlevlerinde azalmanın yanı sıra, başlıca hedef dokular olan kas, karaciğer ve yağ dokusu ile pankreasın insüline duyarlılığı da olumsuz yönde etkilenmiştir (Şekil 1.1). Pankreasın β hücrelerinin işlevlerinde azalma ve insülin duyarlılığındaki düşüşün her ikisi de diyabetin patogenizinde önemli rol oynamaktadır (Scheen 2003).



Şekil 1.1. T2DM patogenezinde yer alan hiperglisemi ve serbest yağ asitlerinin artışı (Stumvoll ve ark 2005). Hiperglisemi ve serbest yağ asidi artışı T2DM'nin sonucu olarak ortaya çıkarken, aynı zamanda β hücresinde fonksiyon bozukluğu ve insülin direnci oluşumuna neden olarak T2DM oluşumuna neden olurlar.

T2DM'de spesifik etiyoloji tam olarak bilinmese de, T2DM hastalarında β hücrelerinin otoimmün yıkımı sözkonusu değildir. Hepsi olmasa da hastaların çoğu obezdir ve obezitenin insülin direncine neden olduğu bilinmektedir. T2DM hastalarının insülin düzeyleri normal ya da yükselmiş olabilir. β hücreleri sağlam olan hastalarda daha yüksek kan glukoz düzeylerinin, daha yüksek insülin değerleri ile sonuçlanması beklenirken bu hastalarda insülin salgılanmasının bozukluğu ve insülin direnci ile baş etme konusunda yetersiz kaldığı görülmektedir (ADA 2015).

T2DM'nin patogenezinde yer alan insülin direnci ve β hücrelerinin fonksiyon bozukluğunun sürece dahil olmaları birbirinden farklı zaman dilimlerinde gerçekleşmektedir (Taylor 2013). İnsulin etkilerindeki azalma; yetersiz insulin sekresyonundan ve/veya komleks yolakların bir ya da daha fazla noktasında insuline

karşı oluşan doku cevabının azalmasından kaynaklanabilmektedir. İnsulin sekresyonundaki bozulma ve insulin etkilerinde oluşan aksaklıklar aynı hastada sıklıkla bir arada bulunurlar. Ancak hangi bozukluğun tek başına hipergliseminin primer etkeni olduğu genellikle belirsizdir (ADA 2014). İnsülin direncinin T2DM oluşumuna yol açan bir dizi olayı başlattığı düşünülmektedir. Ancak klinik tablonun ortaya çıkmasında ilerleyici β hücre yetmezliğinin gelişmesi gerekmektedir (Gastaldelli ve ark 2004). Bu nedenle insülin direncinin sıklıkla diyabet tanısı konulmadan yıllar önce geliştiği, başlıca kas, karaciğer ve yağ dokusu olmak üzere hedef dokuların insüline olan cevabındaki azalmanın olduğu ve daha sonra β hücre yetmezliğinin geliştiği düşünülmektedir (Wijsman ve ark 2011).

T2DM'nin tespit edilebilen en erken bulgusu kaslarda ortaya çıkan insülin direncidir (Petersen ve ark 2012). Bu bozukluk glikojen sentaz etkisindeki azalmaya bağlı olarak ortaya çıkan glikojen sentezindeki azalma şeklinde olmaktadır (Rothman ve ark 1995). Kaslardaki bu erken bulgu adacık hücre yetmezliğine bağlı olarak oluşan glukoz homeostazındaki dekompanzasyondan önce ortaya çıkar. GLUT4 ifadesindeki azalma ya da bozulmayla, periferal dokularda özellikle de kasta tam ve yeterli insülin cevabı oluşması sekteye uğrar (Wallberg-Henriksson ve Zierath 2001).

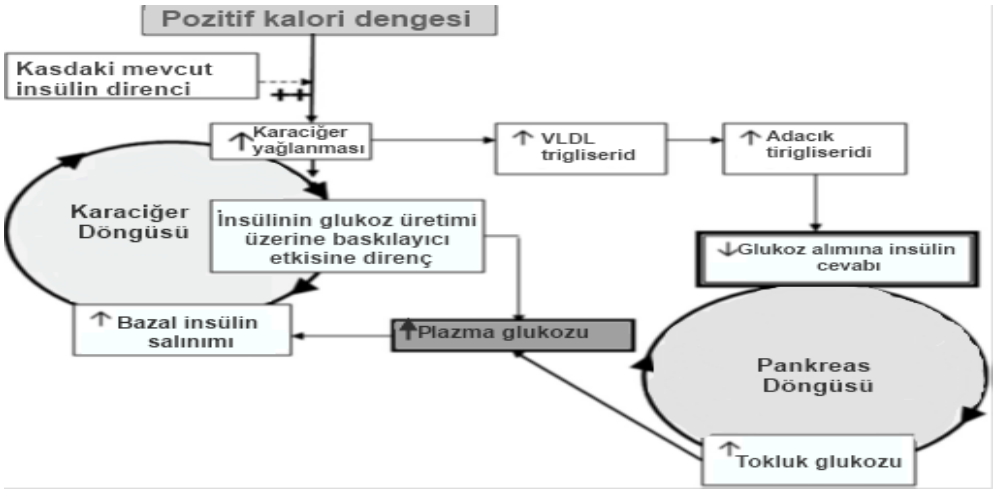
İnsülin salgılanmasını etkileyen β hücrelerinin işlev kaybı; hem hipergliseminin başlaması hem de insülin tedavisine doğru ilerleyişin belirleyici faktörüdür (Cali ve ark 2009).

İnsülin direnci ve β hücrelerinin işlev bozukluğunun etiyolojisinde farklı etkenler yer almaktadır. İnsülin direnci; insülin sinyal yolundaki (Cusi ve ark 2000), glukoz taşınması bozukluklarından (Suzuki ve Kono 1980) ya da lipotoksisiteden (Lelliott ve Vidal-Puig 2004) kaynaklanırken, β hücre bozukluğunun ise amiloid birikimi (Hull ve ark 2004), oksidatif stres (Roma ve ark 2012) ve aşırı yağ asidi birikimine (Cnop 2008) bağlı olarak ortaya çıkabileceği düşünülmektedir.

Pankreasta insülin salınımının baskılanması ve periferal dokularda insülin direnci gelişmesinin yanı sıra, karaciğer işlevlerinde ortaya çıkan bozulmanın da T2DM gelişmesinde önemli etkiye sahip olduğu düşünülmektedir (Taylor 2013). T2DM'nin etiyolojisinde hem glukoz hem de yağ metabolizması bozukluklarının var oluşu pankreas ve karaciğer fonksiyonlarını içeren ikiz çember hipotezinin

gelişmesine yol açmıştır (Taylor 2013). Bu hipotezde karaciğerde ve ikincil olarak pankreasta lipid birikimi, kendi kendisini güçlendiren bir döngüye neden olarak T2DM'yi ortaya çıkarmaktadır. Yağ asitleri bozulmuş açlık glukozu (IFG)'na yol açarak pankreasın da dahil olduğu bütün dokulara yağın dağılmasını artıran VLDL triaçilgliserol yükselişine neden olmaktadır (Şekil 1.2) (Adiels ve ark 2006, Taylor 2013). İnsülin, lipogenezi de novo olarak uyardığı için uzun süre yüksek kalorili besin alınması, insülin direnci olan bireylerde sağlıklı bireylere oranla daha kolaylıkla karaciğerde yağ birikimine neden olacaktır. Böylece karaciğerde yağ artışı insülinin hepatik glukoz üretimi üzerindeki baskılayıcı etkisinde göreceli olarak dirence neden olur. Karaciğer ve pankreasın bu döngüsü β hücrelerinin işlevlerinde azalmayı da beraberinde getirir. Pankreasta yağ asidi birikimi, gıda alımını takiben ortaya çıkan akut insülin salgılanmasında bozukluğa yol açmaktadır. Tokluk sonrası ortaya çıkan aşırı yağ asidi artışı da postbrandial hiperglisemi olarak karşımıza çıkmaktadır (Taylor 2013).

Jannetta ve ark (2010)'nın yaptıkları çalışmalar sonucu geliştirdikleri hipoteze göre; T2DM'nin başlangıcında yer alan ve altta yatan mekanizması tam olarak anlaşılmamış olan insülin direncinin gelişiminde, nörovasküler etkileşimler özellikle de arterde görülen genişleme ya da uzama şeklindeki yapısal değişiklikler rol oynamaktadır. Bu yapısal değişiklikler, beyinciğin ön kısmında yer alan sağ lateral medulla oblangata üzerinde baskı oluşturmakta ve bu da pankreasın fonksiyonlarında oluşan hiperaktiviteyi tetiklemektedir. Artmış hiperinsülinemi de insülin direnci ve T2DM gelişmesi için yatkınlık oluşturmaktadır (Jannetta ve ark 2010).



Şekil 1.2. Glukoz ve yağ metabolizması bozukluklarının T2DM oluşumuna katkısını açıklayan ikiz çember hipotezinin şematik gösterimi (Taylor 2013). Artan açlık plazma glukoz düzeyi, yıllar içerisinde insülin salgılanmasını uyarır ve alınan fazla kalori karaciğerde yağa dönüştürülür. Hiperglisemi ve artan insülin salınımı, karaciğer döngüsünü hızlandırır ve pankreas döngüsününün dinamik kalmasını sağlar. Sonuç olarak yağ asitleri ve glukozun adacık hücreleri üzerindeki baskılayıcı etkileri klinik diyabetin başlangıcında tetikleyici mekanizmayı oluşturmaktadır.

1.1.3. Tip 2 Diyabetin Epidemiyolojisi ve Önemi

Diyabet, yaşam tarzının değişmesi ve yaşam süresinin uzaması nedeniyle sıklığı giderek artan bir hastalıktır. Türkiye'de 20 yaş ve üzerinde olan bireyleri kapsayan, 1998 yılında yapılmış Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması (TURDEP)'nda %7,2 olan diyabet prevalansı (Satman ve ark 2002) 2010 yılında aynı merkezlerde tekrarlanan Türkiye Diyabet, Hipertansiyon, Obezite ve Endokrinolojik Hastalıklar Prevalans Çalışması II (TURDEP II)'ye göre %90 artış ile %13,7 düzeyine ulaşmıştır (Satman ve ark 2013). Uluslararası Diyabet Federasyonu tarafından yayınlanan Diyabet Atlası'na göre dünyada 20-79 yaş grubundaki diyabet nüfusu, 2011 yılı sonlarında 366 milyona ulaşmış olup bu sayının 2030 yılına kadar %51 artış ile 552 milyona varacağı tahmin edilmektedir (IDF, Fifth Diabetes Atlas 2011).

Diyabetteki kronik hiperglisemi; özellikle göz, böbrek, sinir hücresi, kalp ve kan damarları gibi farklı organlardaki uzun süreli ve hasar bırakıcı fonksiyon yetmezlikleri ile ilişkilidir (ADA 2014). Diyabetin uzun dönem komplikasyonları arasında görme kaybına yol açabilen retinopati, böbrek yetmezliğine yol açan nefropati, ayak ülserleri ve ampütasyonlara neden olabilen periferal nöropati ve gastrointestinal, ürogenital ve kardiyovaskuler semptomlara ve cinsel yetersizliğe neden olabilen otonom nöropati bulunmaktadır (ADA 2014). Bu yüzden diyabet, eşlik eden hastalıklar ve bu hastalıklara bağlı komplikasyonlar nedeniyle toplum sağlığı

üzerinde ayrı bir öneme sahiptir. Bu hastalıktan etkilenen doku ve organların çeşitliliği, bireylerin yaşam kalitesini önemli ölçüde etkilemesinin yansıra, sağlık sistemine artan maliyet getirmekte ve bu da toplumsal düzeyde sağlık hizmetlerinin ve kaynaklarının en çok kullanıldığı hastalık olmasına yol açmaktadır (Zhuo ve ark 2014).

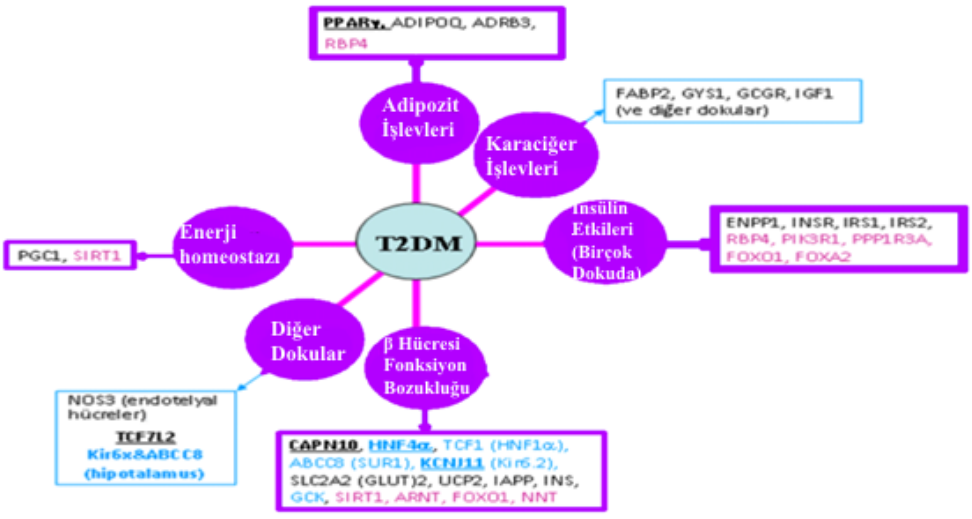
1.1.4. Tip 2 Diyabet Genetiği

T2DM'nin güçlü genetik bileşene sahip olması konusunda pek çok kanıt bulunmaktadır. Monozigotlar arasında T2DM görülme sıklığı yaklaşık %70, dizigotik ikizlerde ise bu oran %20-30'dur (Newman ve ark 1987). Bazı ailelerde T2DM'li birey sayısı fazla olmakta ve bu yönüyle T2DM, ailesel yığılmalar göstermektedir. T2DM'li anne babaların çocuklarında hayatı boyunca diyabet gelişme riskinin yaklaşık % 40 olduğu (Meigs ve ark 2000), anne babanın her ikisinin de T2DM olması halinde riskin, %70'lere çıktığı bildirilmektedir. Annenin T2DM'li olmasının, babanın T2DM'li olmasına göre çocukta T2DM gelişimi açısından daha büyük risk oluşturduğu da rapor edilmiştir (Groop ve ark 1996). Birinci derece akrabalarda T2DM olmasının kişide hastalık gelişme riskini üç kat artırdığı da ifade edilmektedir (Lyssenko ve ark 2005). Bunun yanı sıra pek çok çevresel ve genetik temelli faktörlerin diyabet oluşumuna katkıda bulunuyor olması T2DM'nin genetik temelinin anlaşılmasını zorlaştırmaktadır. Bunlar arasında yaş, cinsiyet, etnik yapı, fiziksel aktivite azlığı, beslenme alışkanlıkları, tütün kullanımı, obezite ve yağ dağılımı gibi faktörler bulunmakta ve bunlar insülin duyarlılığı ve insülin salgılanmasını etkilemektedir. Bu faktörlerin pek çoğu genetik kontrol altında olsa da, bu genler diyabete sebep olan genler olmayabilir. Örneğin, obezitedeki insülin direnci başlıca intraabdominal yağ birikimi ile ilişkilidir ve bu durum genetik temele dayalı olsa da, pek çok insülin dirençli obezde diyabet gelişmemektedir (Warram ve ark 1990). Bu nedenle iştahı, enerji harcanmasını ve intraabdominal yağ depolanmasını düzenleyen genler diyabet genleri değil diyabetle ilişkili genler olarak değerlendirilmektedir. Bu genler diyabete tek başlarına neden olmazlar ve diyabet gelişimi için mutlak gerekli değillerdir, genetik risk faktörü olarak kabul edilirler (Gerich 1998). Ayrıca diyabetin zayıf bireylerde de gelişmesi farklı genetik mekanizmaların diyabet gelişiminde rol oynadığını düşündürmektedir.

Tip 2 diyabet gelişiminde; pankreasın β hücre işlevi, insülinin etkili olduğu dokularda gerçekleşen sinyal yolakları, yağ hücrelerinin işlevleri gibi pek çok

mekanizmadaki bozukluklar söz konusu olduğundan tüm bu mekanizmalarda yer alan pek çok gen ve bunların ifade ettiği gen ürünlerindeki bozukluklar; ilgili yolağı etkileyebileceği için bu proteinleri kodlayan genler aday gen olarak ifade edilmektedir. Örneğin insülin alınımında merkezi rol oynayan ve sülfonil üre grubu ilaçların hedefi olan K_{ATP} kanallarını kodlayan KCNJ11 ve ABCC8 genleri, insülin sinyalizasyonunda önemli bir adipokin olan adiponektin ve onun gen ifadelerini düzenleyen PPARG, insülinin hedef dokulardaki sinyal ileti yolunda anahtar proteinler olan IRS'ler ve PIK3R1 proteinleri önemli aday genler olarak bilinmektedir (Şekil 1.3) (Barroso ve ark 2006, Florez ve ark 2007). Yine pankreas hücrelerinin sağ kalımı ve insülinin hedef hücredeki işlevinde rol oynayan ve diyabet geni olarak tanımlanan TCF7L2 (Damcott ve ark 2006), CAPN10 (Cox ve ark 2004), HNF4A (Silander ve ark 2004) genleri de T2DM ile ilişkili aday genler olarak pek çok popülasyonda yapılan ilişki analizlerinde teyit edilmiştir (Şekil 1.3).

Bunların yanı sıra 2007 yılından itibaren genom boyu ilişki analizleri ile bu aday genlerin dışında çok sayıda genin de diyabete yatkınlık oluşturmada etkili olduğu ortaya konmuştur (Saxena ve ark 2007, Sladek ve ark 2007, Scott ve ark 2007, Steinthorsdottir ve ark 2007, Burtonve ark 2007, Zeggini ve ark 2007, Zeggini ve ark 2008, Yamauchi ve ark 2010). Yaklaşık 70 genin tip 2 diyabetle ilişkili olarak tanımlanmasına rağmen bu genlerin varyantlarının küçük etkileri diyabet genetiğinin sadece %10-15'ini açıklayabilmektedir (Sanghera ve Blacket 2012). Bu nedenle diyabet genetiğini ortaya koymaya yönelik çalışmalar halen devam etmektedir.



Şekil 1.3. T2DM gelişiminde ilişkili olduğu bilinen aday genler ve biyolojik işlevleri. Koyu ve altı çizili belirtilen genler en güçlü ilişkilendirilen aday genlerdir (Freeman ve Cox 2006).

1.2. Obezite

Obezite, dünyada oldukça yaygın olarak görülen, aşırı yağ dokusu birikiminin belirgin olduğu (Barness ve ark 2007) ve ölümle sonuçlanabilecek birçok hastalığın eşlik ettiği kronik bir hastalık durumudur (Must ve ark 1999). Vücuttaki enerji kullanımının dengesizliğinin söz konusu olduğu obezitede alınan enerji harcanan enerjiden fazladır ve bu fazlalık yağ dokusu olarak birikmektedir (Kershaw ve Flier 2004).

Önceleri sadece pasif enerji deposu olarak kabul edilen (Bouchard 1997) yağ dokusu, interlökin 6 (IL 6), IL1b, TNF alfa, leptin ve adiponektin gibi maddeler (adipokinler) salgılayarak aktif bir endokrin organ olarak iş görmektedir (Kershaw ve Flier 2004, McArdle ve ark 2013).

Yağ dokusundan salınan sitokinlerin inflamatuar cevap oluşturmalarının yanı sıra obez bireylerde kanser, T2DM, kardiyovaskuler komplikasyonlar ve otoimmün hastalıkların ortaya çıkmasında da etkisi olduğu ileri sürülmektedir (Trayhurn ve ark 2006). Obezitenin inflamatuar hastalıklarla birlikte görülmesi ise, yağ hücreleri içerisinde makrofaj birikimi ile ilişkilendirilmektedir. Makrofajlar, ürettikleri sitokinlerle inflamatuar cevap oluşmasına neden olmaktadırlar (Weisberg ve ark 2003). Sitokinler dışında, lipolize bağlı olarak kandaki triaçilgliserol (TAG) miktarında ortaya çıkan artışın (Sethi ve Vidal-Puig 2007), inflamaturar yolakları aktive etmesinin yanı sıra insülin sinyalizasyonunda bozukluklara neden olduğu bilinmektedir (McArdle ve ark 2013).

Başlıca yağ dokusunda üretilen Leptin, enerji homeostazında, bağışıklık fonksiyonlarının düzenlenmesinde, glukoz ve lipid metabolizmasında önemli rol oynamaktadır (Moon ve ark 2013). Merkezi sinir sistemi yoluyla metabolizmayı düzenleyici etkilerinin yanı sıra, pankreatik β hücreleri, karaciğer, kas ve yağ dokusu gibi periferik hedef hücrelerinde doğrudan etkileri söz konusudur (Kahn ve Flier 2000). Leptin, kas ve β hücrelerinde lipid oksidasyonunu teşvik ederek ve lipid sentezini inhibe ederek insülin duyarlılığına katkıda bulunmaktadır (Muoio ve ark 1997). AMP aktivasyonlu protein kinaz (AMPK) üzerinden, yağ oksidasyonunu artıran ve yağ depolanmasını azaltan Leptin (Martinve ark 2006), enerji homeostazının düzenlenmesinde, gıda alımını azaltıp, enerji harcanmasını artırarak önemli rol oynar (Gautron ve Elmquist 2011).

İnsülin ve leptin, yağ depolanması ve glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde hipotalamusa sinyal taşıyan hormonlar olarak oldukça önemli bir yere sahiptir (Schwartz ve ark 2000). İnsülin, kendi reseptörü ve reseptör substratı üzerinden PI3K ve aşağı yöndeki sinyal iletimin düzenlerken (Niswender ve ark 2003). Leptin, kendi reseptörüne bağlandıktan sonra bir tirozin kinaz olan JAK (Janus Kinase)'ın aktivasyonunu, STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) faktörlerini ve bu faktörlerin gen ifadelerini kontrol altına alarak tetikler. Bununla birlikte, leptinin JAK2 üzerinden IRS proteiniyle etkileşmelerinin ardından PI3K aktivasyonunun da gerçekleştiği gösterilmiştir (Munzberg ve Myers 2005).

Yağ dokusundan salgılanan ve insülin sinyal ileti yolu ile ilişkili olan hormonlardan Adiponektin, karaciğerde insülin duyarlılığını ve serbest yağ asitlerinin oksidasyonunu artırır, glukoz çıkışını ve serbest yağ asidlerin akışını azaltır. Kasta ise, glukoz kullanımını ve serbest yağ asidi oksidasyonunu muhtemelen AMPK aracılığıyla uyarır (Tomas ve ark 2002). AMPK, glukozun insülinden bağımsız olarak kas içine taşınmasınında da rol oynar (Fujii ve ark 2006).

Adiponektin sekresyonunun düzenlenmesinde insülinin düzeyinden ziyade, insülinin adipositler üzerindeki etkisinin ve sinyal iletiminin rol oynadığı düşünülmektedir (Bogan ve Lodish 1999).

Obezite ve insülin direnciyle ilişkili diğer bir sitokin olan interlökin 6 (IL6)'nın ifadesinin %30'undan yağ dokusu sorumludur ve serum IL-6 düzeyleri ile serbet yağ asitleri düzeyleri arasında belirgin bir ilişki vardır (Bastard ve ark 2002). IL-6, STAT proteinlerinin aktivasyonuna yol açarak PI3K ve Akt'yi aktive etmektedir. Bu aktivasyon MAP kinazların aktivasyonuna neden olur (Meng ve ark 2005). Kendisi de bir MAP kinaz olan JNK, serin/treonin kinaz özelliği ile IRS'yi fosforile ederek insülinin sinyal iletimini bozar ve insülin direncine neden olur (Hirosumi ve ark 2002).

Yağ dokusundan salınan faktörlerden TNFα (tumor necrosis factor-α), RBP4 (retinol-binding protein 4) ve resistin yakın zamanda obezite kaynaklı insülin direnci

ile ilişkili olduğu bulunan diğer adipokinlerdir (Fernández-Real ve Ricart 2003, Bokarewa ve ark 2005, Yang ve ark 2005).

1.2.1. Tanısı

Kilolu olmak ve obezite terimleri, kişinin sağlığını bozacak düzeyde anormal ya da aşırı yağ dokusu birikimini ifade etmektedir. Obezite ve kilolu olma durumları vücut kitle indeksi (VKİ)'nden yararlanılarak belirlenir. VKİ, kişinin kilogram olarak ağırlığının, santimetre olarak boy uzunluğunun karesine bölünmesi ile elde edilir ve kg/m² olarak ifade edilir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre vücut kitle indeksinin cinsiyete bağlı olmaksızın 25 kg/m² ve üzeri olması, kilolu olmak olarak kabul edilirken, 30 kg/m² ve üzeri olması obezite olarak tanımlanmaktadır. VKİ, 18,5–24,9 kg/m² arası olan bireyler ise normal kilolu olarak tanımlanmaktadır (WHO 2015).

1.2.2. Obezitenin Etiyolojisi

Obezitenin etiyolojisinde genetik bozukluklarda olduğu gibi endojen faktörlerin yanı sıra davranış biçimi, alışkanlıklar, çevresel ve fizyolojik etkenler, sosyal ve kültürel ortam gibi ekzojen faktörler de rol oynar (Racette ve ark 2003, Barness ve ark 2007).

Etiyolojik faktörleri şu şekilde sınflandırmak mümkündür:

1. Genetik faktörler

a.Tek gen bozuklukları

b. Poligenik obezite

2. Çevresel faktörler
3. Ailesel ve etnik faktörler
4. Beslenme bileşenleri ve yeme alışkanlıkları
5. İlaçlar
6. Psikolojik faktörler
7. Travma
8. Endokrin ve metabolik hastalıklar (Atkinson 2004).

1.2.3. Obezitenin Epidemiyolojisi ve Önemi

Dünya Sağlık Örgütüne göre kronik bir hastalık olarak tanımlanan obezite, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde oldukça yaygın olarak görülmekte ve hatta sağlığın bozulmasına katkısı açısından değerlendirildiğinde, yetersiz beslenme ve

enfeksiyon hastalıkları gibi halk sağlığını tehdit eden hastalıkların yerini almaktadır (WHO 2000).

Yirmi birinci yüzyılın en ciddi halk sağlığı sorunlarından biri olarak karşımıza çıkan obezitenin dünya genelindeki yaygınlığı WHO'nun verilerine 1980'den bu yana iki kattan daha fazla oranda artmıştır. 2014 yılı itibarıyla, 18 yaş ve üzeri 1.9 milyar yetişkin fazla kiloludur ve bunların 600 milyonu obezdir. Genel olarak 2014 yılında yetişkin popülasyonunun yaklaşık olarak %13'ü obez, %39'u fazla kiloludur (WHO 2015).

Türkiye'de yapılan ulusal ve bölgesel epidemiyolojik çalışmalar da obezitenin yaygınlığının özellikle erkeklerde olmak üzere her iki cinste de 1990'dan 2010'a kadar yaklaşık iki kat arttığını göstermektedir (Erem 2015). İlk ulusal ölçekli çalışma olan ve 1997-1998 yılları arasında gerçekleştirilen TURDEP I çalışması, erişkin yaştaki Türklerin ancak %40 kadarının WHO tarafından belirlenen normallere uygun olduğunu, toplumun yarıdan fazlasının fazla kilo problemi bulunduğunu ortaya koymuştur (%35 fazla kilolu ve %22 obez). TURDEP-I çalışmasına göre yerleşim birimlerinde obezite sıklığı gözden geçirildiğinde kentsel ve kırsal yerleşim birimleri arasında çok belirgin bir fark olmadığı görülmüştür (kentsel %23,8, kırsal %19,6). Genel ve santral obezite prevalansı olarak değerlendirildiğinde ise; genel obezite prevalansı %22,3 bulunmuştur. Bu değer kadınlarda %29,9, erkeklerde ise %12,92'dir. Buna karşılık santral obezite açısından WHO'nun bel çevresi tanımı (kadında ≥88 cm, erkekte ≥102 cm) ele alındığında, genel obezite prevalansı %34,3 olarak tespit edilmiştir (kadınlarda %48,4 ve erkeklerde %16,9) (Satman ve ark 2011).

Obezite, yaygın görülmesi ve hızlı artış göstermesinin yanı sıra hipertansiyon, koroner kalp hastalıkları, dislipidemi, endotel hasarı, T2DM, serebrovaskuler hastalıklar, safra kesesi taşları, bazı kanser türleri, osteoartrit, uyku apnesi gibi pek çok kronik hastalığın eşlik etmesi nedeniyle de oldukça önemlidir (Garaulet ve ark 2010). Obezite aynı zamanda kardiyovaskuler hastalıklar, bazı kanserler, diyabet ve böbrek hastalıklarına bağlı belirgin mortalite artışı ile de yakından ilişkilidir (Flegal ve ark 2007).

1.2.4. Obezite Genetiği

Obezite, sıklıkla ailesel geçiş göstermekte, ailesinde obezite görülen bireyler, diğer aile üyeleri ile birlikte yaşamasalar bile artmış obezite riski taşımaktadırlar (Allison ve ark 1996). Ana babalarında obezitenin görülmesi, çocukluk ve adölesan dönemindeki bireyler için oldukça güçlü risk oluşturmaktadır (Reilly ve ark 2005). Genetik faktörlerin obezite etiyolojisi üzerindeki etkilerinin kanıtları ikizler üzerinde yapılan çalışmalara dayanmaktadır. Bouchard ve ark (1990), 12 gruptan oluşan monozigot yetişkin ikizler üzerinde uzun süre boyunca yüksek kalorili diyet uygulayarak yaptıkları çalışmalarında vücut ağırlığı ve abdominal yağ dokusu artışının monozigot ikiz bireylerde birbirine oldukça yakın olduğunu, ancak kilo alımı ve abdominal yağ dokusundaki bu artışın ikiz gruplar arasında farklılıklar gösterdiğini ve bu farklılıkların, tam olarak belirlenememiş genetik faktörlerden kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir (Bouchard ve ark 1990).

Stunkard ve ark (1990) ise monozigotik ikizlerde dizigotik olanlara göre VKİ'nin kalıtsallığı açısından daha güçlü bir ilişki olduğunu dizigotik ya da monozigotik olsun ayrı yetişen ikizlerde de bu kalıtsallığın var olduğunu göstermişlerdir.

Obezitenin ailesel birikim gösterdiği bilinmekle birlikte obezitenin eşlik ettiği kistik fibrozis ve Hungtington hastalığı gibi (Lyon ve Hirschhorn 2005) bazı nadir hastalıklar dışında, obez hastaların büyük bir çoğunluğu tam bir mendeliyen kalıtım göstermemektedir (Semerci 2004). Obezitenin genetik geçişinde, birden fazla genin işe karıştığı karmaşık bir geçiş sözkonusudur (Lyonve Hirschhorn 2005).

Chagnon ve ark (2003) yaptıkları çalışmalarında, 24 kromozomda bulunan 300'den fazla gen ve gen varyantlarının obezite ile ilişkili ya da bağlantılı olduğunu bildirmişlerdir (Chagnon ve ark 2003). Bu genlerden bazıları pek çok farklı tipte obezitenin oluşumuna yatkınlık oluşturma anlamında destek olurken, bazıları da koruyucu etki göstermektedir **(**Atkinson 2004). Obezite oluşumundan sorumlu tutulan genlerdeki bu sayıca çokluk ve çeşitlilik nedeniyle, obezitenin poligenik olduğunu ve çok faktörlü karmaşık bir genetik geçişe sahip olduğunu söylemek mümkündür (Sachidanandam ve ark 2001). Bu gen ve varyantlarının her birinin obezite geni vücut ağırlığına küçük bir katkı sağlaması nedeniyle beslenme ve fiziksel aktivite gibi çevresel faktörlerle birlikte ele alınarak karşı farklı bireysel cevapların ortaya çıkışının

belirlenmesinde önemli rol oynayacağı kabul edilmektedir (Sachidanandam ve ark 2001). Çünkü bir bireyde var olan obezite ile uyumlu bir takım poligenik çeşitliliğin, diğer bir obezde aynı olmayabileceği anlaşılmalıdır (Hinney ve ark 2010).

Bugüne kadar obeziteye neden olan en önemli iki gen leptin ve leptin reseptör genlerinin yanı sıra Proopiomelanokortin (POMC) geni de obezite ile ilişkisi bakımından dikkat çekmektedir (Chagnon ve ark 2003). Enerji homeostazını kontrol eden leptin-melanokortin ekseninde homeostazın kontrolünde melanaokortin-4 reseptörü (MC4R), anahtar rolü oynar. MC4R'de işlev kaybına yol açan mutasyonların ciddi ailesel obeziteye neden olduğu, seyrek görülen işlevsel polimorfizmlerin ise, obeziteye karşı koruyuculukla ilişkili olduğu görülmüştür (Geller ve ark 2004, Stutzmann ve ark 2007, Stutzmann ve ark 2008).

Yapılan bazı çalışmalarla ortaya konan bir diğer obeziteye yatkınlık geni de FTO (fat mass and obesity associated)'dur. Genom boyu ilişki çalışmalarında, T2DM ile ilgili bir gen olduğu vurgulanmış olan FTO geninin diyabetle ilişkisi, VKİ indeksi üzerine yapılan çalışmalarda, diyabetik vakaların kontrol grubuna oranla yüksek VKİ değerleri göstermesi bulgusuna dayanmaktadır (Frayling ve ark 2007). FTO genindeki varyantların obezite ile bağlantısı farklı dokularda farklı şekilde ortaya çıksa da, FTO ifadesinde yaşa bağlı azalma, glukoz ve yağ metabolizmasındaki (periferal) bozukluklarla birlikte ortaya çıkmaktadır (Wåhlénve ark 2008, Grunnet ve ark 2009). FTO ve MC4R'nin yanısıra, BDNF (brain derived neurotrophic factor) ve SH2B1 (SH2 adaptör protein1) genleri de obezite aday genleri arasında yer almaktadır (Hinney ve ark 2010).

1.3. İnsülin Direnci

İnsülinin keşfinden yaklaşık 10 yıl sonra, diyabetik hastaların insüline verdiği cevaplardaki farklılıklar dikkate alınarak hastalarda ortaya çıkan biyokimyasal bozukluğu tanımlamak için insülin duyarlılığı kavramı öne sürülmüştür (Himsworth 1936). İnsülin duyarlılığı, insülinin glukozun taşınması üzerine etkileri ile ilişkilidir ve glukozun dokulara taşınmasında maksimal etki için gerekli olan insülin konsantrasyonunun %50'si olarak olarak ifade edilir (Himsworth 1936, Kahn 1978, Holloszy 2005). Berson ve Yalow (1960)'un radyoimmunassey tekniğini geliştirerek yetişkin başlangçlı (tip 2) diyabetik hastalarda dolaşımdaki insülin düzeylerinin ortalama değerlerden yüksek olma eğiliminde olduğunu göstermesinin ardından

yapılan pek çok çalışma ile (Olefsky 1973, Kolterman 1980, Reaven 1988) bu bulgular desteklenmiş ve insülin direnci kavramının temelleri atılımıştır.

İnsülin direnci; yağ dokusu, iskelet kası ve karaciğer hücreleri gibi başlıca hedef dokularda insülinin azalmış etkisine bağlı olarak, glukozun hücre içine alımının azalması olarak tanımlanır (Mather ve ark 2013). İnsülin direnci olan bireylerde insülinin etkisi, normal glukoz toleransı gösteren ve ailesel diyabet özgeçmişi olmayan bireylere oranla azalmıştır. İnsülin direnci gelişmesi durumunda; dolaşımda normal düzeyde insülin bulunmasına rağmen, insülin etkisindeki azalma nedeniyle karaciğer, kas ve yağ dokusu insüline karşı uygun cevabı vermekte yetersiz kalmakta pankreas ise artmış kan glukoz düzeyini kompanse etmek için insülin sekresyonunu artırmaktadır (Petersen ve Shulman 2002).

İnsülin direncinin etiyolojisi içerisinde genetik faktörler (tip A insülin direnci), ve çevresel faktörler rol oynar. Azalmış fiziksel aktivite, yaşlılık, sigara kullanımı, tiyazid grubu diüretikler, β adrenerjik antagonistleri, glukokortikoid gibi ilaç uygulanması insülin direncine neden olan ya da katkıda bulunan çevresel faktörler arasındadır (Granberry ve Fonseca 1999). İnsülin direnci, anti HIV tedavisine ya da travma ve sepsisde gelişen akut inflamatuar duruma sekonder olarak da ortaya çıkabilir (Abdul-Ghani ve DeFronzo 2010). Bunun yanı sıra, kaslarda tespit edilen insülin direncinin, yaşlanma (DeFronzo 1979) ve dislipidemi (DeFronzo 2009) (artmış plazma trigliseridi ve azalmış HDL kolesterolü) ile de ilişkili olabileceği rapor edilmiştir.



Şekil 1.4. T2DM, obezite ve insülin direncinde yer alan bozukluklar ve ilişkili genler (Plengvidhya ve ark 2008**).**

İnsülin direnci hem obezite hem de T2DM'nin karakteristik özelliğidir (Şekil 1.4). Genel olarak insülin direnci, sebep olan mekanizmalar dikkate alındığında 3 kategoriye ayırılır (Olefsky ve Kolterman 1981).

I. β hücre sekresyonunun anormal ürünleri

A. Anormal insülin molekülü (insülinin özellikle β zincirini ilgilendiren mutasyonlara bağlı olarak, reseptöre bağlanmada güçlük çeken defektif insülin molekülleri)

B. Proinsülinin insüline tam olmayan dönüşümü

II. Dolaşımda insülin antagonistlerinin varlığı

A. İnsülin zıddı hormonların artması (glukagon, büyüme hormonu, kortizol, katekolaminler)

B. Anti-insülin antikorların varlığı

C. Anti-insülin reseptör antikorların varlığı

III. Hedef doku defektleri

A.İnsülin reseptör defektleri

B.Postreseptör defektler

İnsülin reseptörü ile bağlantılı olarak ortaya çıkan insülin direnci nadir olarak görülmektedir. İnsülin direnci genellikle insülin reseptörünün aşağı yöndeki defektlerin (postreseptör) neden olduğu insülin etkilerindeki bozukluklara bağlı olarak

ortaya çıkar (Rojek ve Niedziela 2010). Bu postreseptör defektler arasında glukoz taşınımı ve glukoz fosforilasyon bozuklukları, azalmış glukoz oksidasyonu ve glikojen sentezi, insülin reseptör kinaz aktivitesindeki değişiklikler, intraselüler substratların fosforilasyonunda azalma ve glukoz taşıyıcıların translokasyon ve aktivitelerindeki anormallikler gibi insülin sinyal mekanizmasını ilgilendiren moleküler düzeydeki defektler sayılabilir (Cushmans ve Wardzala 1980, Okada ve ark 1994, Cusi ve ark 2000, Abdul-Ghani ve DeFronzo 2010, Olson 2012).

İnsülin uyarımını takiben hedef hücrelerde glukozun hücre içine alınımı gerçekleşir. Bunun için en önemli basamaklardan biri glukoz taşıyıcısı olan GLUT4'ün sitozolden hücre zarına tranlokasyonudur. Bunun gerçekleşebilmesi için insülinin hedef hücrelerde temel sinyal yolağı olan PI3K/Akt yolağını aktive etmesi gerekir. Deneysel olarak Akt'den mahrum bırakılmış farelerde GLUT4 taşıyıcılarının zara gönderilmesinin bozulduğu dolayısıyla hücre içine glukoz alımının azalması sonucu insülin direnci ve T2DM geliştiği gözlenmiştir (Kohn ve ark 1996). Ayrıca GLUT4'ün hücre zarına translokasyonunda bazı proteinler kolaylaştırıcı rol oynamaktadırlar. SNARE (soluble N-ethylmaleimide attachment protein receptor) adı verilen bu proteinlerin iki türü vardır. v-SNARE proteinleri içeren GLUT4 vezikülleri plazma zarında bulunan ve karşılığı olan t-SNARE proteinleri ile etkileşerek vezikül translokasyonunu sağlarlar (Maier ve ark 2000). Bu yüzden PI3K/Akt sinyal ileti yolundaki ve/veya bu sisteme paralel olarak çalışan SNARE protein komplekslerindeki bir bozukluk, veziküllerin translokasyonunda ve dolayısıyla glukoz alımında azalmaya yol açmaktadır

İnsülin normal şartlarda hekzokinaz II enzimi üzerinden etki göstererek, hücre içinde glukoz 6-fosfat oluşumunu yani glukoz fosforilasyonunu da artırır (Vogt ve ark 1998). Tip 2 diyabetli hastaların insülin dirençli çocuklarında görülen glikojen sentezindeki azalma, ya glukoz taşınmasına (Cline ve ark 1999) ya da hekzokinaz II aktivitisindeki sekonder defekte bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Shulman 2000).

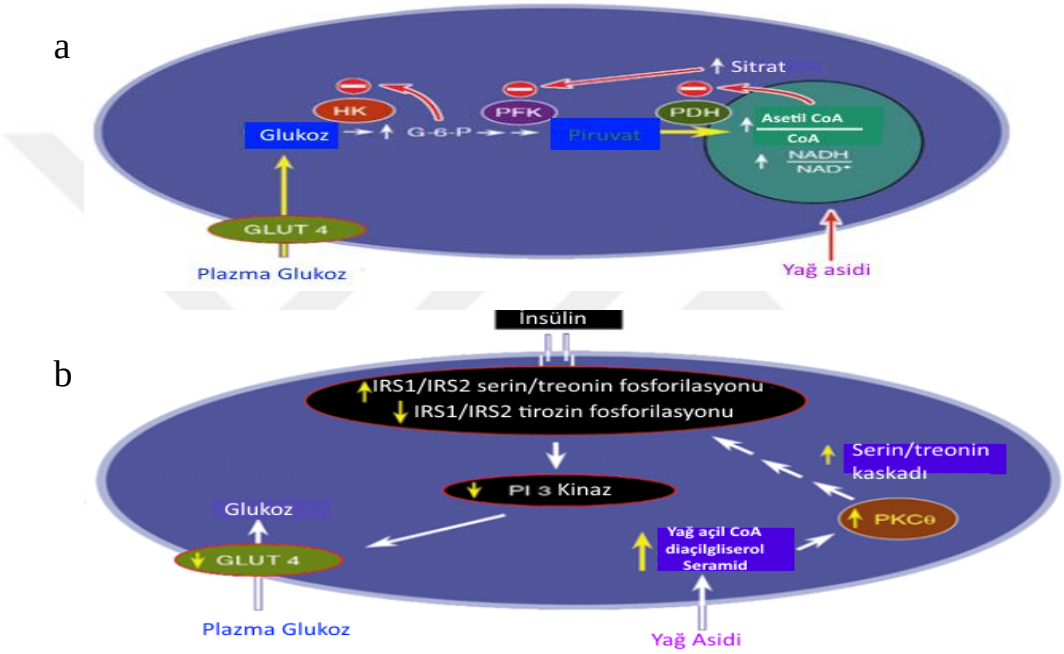
İnsülin direnci gelişiminin altında yatan sebeplerden biri olarak glukoz oksidasyonundaki bozulmalar gösterilmektedir. Glukoz oksidasyonunun hız sınırlayıcı basamağı olan piruvatın asetil CoA'ya dönüştüğü basamak, Pirüvat dehidrogenaz (PDH) tarafından katalizlenir. Prüvat dehidrogenaz aktivitesi, Piruvat dehidrogenaz kinaz (PDK) tarafından fosforillenerek inhibe edilir. PDK'ların ifadesi

ise FOXO (forkhead box class O) olarak adlandırılan transkripsiyon faktörlerince düzenlenir. İnsülin ve diğer büyüme faktörleri, PI3K/Akt sinyal yolağı üzerinden FOXO'yu fosforile ederek inhibe ederler ve buna bağlı olarak PDK'ların ifadesini azaltırlar. İnsülin, özellikle PDK'ların dört izoformundan birisi olan PDK4'ün ifadesini baskılar. Ancak bu yolaktaki bozulma sonucu FOXO'nun aşırı ifadesi, PDK'ların ifadelerinin artışı ile sonuçlanır (Kim ve ark 2006). Bu durumda da PDK'lar, hız sınırlayıcı basamağı katalizleyen prüvat dehidrogenazı baskılar ve prüvat asetil CoA'ya dönüşemez ve insülin direncinin altında yatan önemli bir mekanizma olan glukozun oksidasyonunda azalma gerçekleşir.

İnsülin reseptörünün kinaz kativitesindeki azalmanın da insülin direncinin gelişiminde önemli rol oynadığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Freidenberg ve ark 1985, Olefsky ve ark 1988). Deneysel olarak reseptörün kinaz aktivitesinde defekt oluşturulan mutant insülin reseptörünün konakçı hücreye transfeksiyonundan sonra insülinin biyolojik etkilerini ortaya çıkaramadığı gözlenmiştir (McClain ve ark 1987). Ayrıca diyabetin ve insülin direncinin belirli genetik formlarını taşıyan hastalarda (Grigorescu ve ark 1984) ve bazı hayvan modellerinde insülin reseptör kinaz aktivitesinde defekt olduğu gözlemlenmiştir (Freidenberg ve ark 1985). Bunun yanı sıra, anti-fosfotirozin antikorlarının hücre içine enjeksiyonu ile insülin etkileri güçlü şekilde bloke edilmiştir (Morgan ve ark 1986). Bu durum insülinin etkilerinin ortaya çıkmasında reseptörün β alt ünitesinin tirozin kinaz özelliğinin kritik önemini ortaya koymaktadır (Olefsky ve ark 1988).

İnsülin direnci gelişiminde yağ asitlerinin de önemli etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Randle ve ark (1964), yaptıkları bir dizi araştırmanın sonuçlarından yola çıkarak; oksidasyon substratı olarak glukozla yarışan yağ asitlerinin oksidasyonundaki artışın obezite ile ilişkili insülin direncine neden olabileceğini öne sürmüşlerdir. Önerdikleri mekanizmaya göre; yağ asitlerindeki artış mitokondri içindeki Asetil CoA/CoA ve NADH/NAD^+ oranlarını artırır ve bu durum piruvat dehidrogenaz enziminin inaktivasyonuna yol açar. Sonuçta artan sitrat konsantrasyonuna bağlı olarak glikolizin hız sınırlayıcı enzimi olan fosfofruktokinaz inhibe olur. Bu durum Glukoz 6-fosfat birikimine bağlı olarak hekzokinaz II'nin inhibisyonuna, glukozun hücre içi konsantrasyonunun artmasına ve glukoz alımının azalmasına yol açar (Şekil 1.5a) (Randle ve ark 1964, Randle 1964, Shulman 2000).

Yağ asitlerinin insulin direncinin gelişmesi yönünde etkili olduğuna dair önerilen bir diğer alternatif mekanizma ise yağ asitlerinin PI3K/Akt sinyal yolağı üzerine etkileridir. Hücre içi yağ asidi metabolitlerinden olan, diaçilgliserol, yağ açil CoA ve seramidin miktarındaki artışın, serin/treonin kinaz kaskadını aktive etmesi ve bunun da IRS1 ve IRS2'nin serin/treonin bölgelerinden fosforilasyonuna yol açmasından söz edilebilir. Bu durum IRS'lerin PI3K/Akt yolağını aktive etme becerisinde azalma ile dolayısıyla glukoz alınımında azalma ile sonuçlanır (Şekil 1.5b) (Shulman 2000).



Şekil 1.5. a ve b: Yağ asitlerinin insülin direnci gelişimine olası etkilerinin şematize edilerek gösterimi (Shulman 2000). HK: hekzokinaz II, PFK: fosfofruktokinaz, PDH: prüvat dehidrogenaz, PKCθ, protein kinaz Cθ.

İnsülin direnci, tip 2 diyabette primer olarak ortaya çıkabileceği gibi daha sonra ortaya çıkarak hastalığı daha da şiddetlendirebilir. Bu yüzden insülin etkilerine aracılık eden mekanizmaların bilinmesi, insülin direncinin tam olarak anlaşılabilmesi için gereklidir (Thong ve ark 2005). İnsülin direnci, insülinin başlıca hedef dokuları olan kas, karaciğer ve yağ dokularında ortaya çıkarken, pankreas ve santral sinir sisteminde de insülin direncinden bahsedilir.

İskelet kasında insülin direncinin gelişmesi

Hiperglisemik ve hiperinsülinemik durumlarda hem normal hem de diyabetik bireyler için glukoz metabolizmasında en önemli yolak glikojen sentezidir. Kas glikojen sentezinde ortaya çıkan defektlerin, T2DM'li hastalarda diyabetin başlamasından önce gelişen insülin direncinden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Hekzokinaz II enzimi üzerinden glukoz fosforilasyonunda görülen azalmanın (Vogt ve ark 1998) insülinin kasdaki bu etkileri üzerinde direnç gelişimine yol açtığı gösterilmiştir (Printz ve ark 1993, Postic ve ark 1993). İnsülin direnci gelişmesi durumunda iskelet kasında GLUT4 translokasyonu da bozulur ve bu nedenle insülinle uyarılan glukoz alınımında belirgin şekilde azalma olmaktadır (Zierath ve ark 1996, DeFronzo veTripathy 2009).

İskelet kasında, insülin etkisinin azalması ile, artmış PDK (prüvat dehidrogenaz kinaz) aktivitesi ve dolayısıyla glukoz oksidasyonunda baskılanma da söz konusudur (Kim ve ark 2006). T2DM'li bireylerde görülen bu azalmış glukoz oksidasyonu durumunda, insülin konsantrasyonu artırılarak telafi edilmeye çalışılmaktadır (Mandarino ve ark 1986). Ancak bu durum da hiperinsülineminin gelişimiyle sonuçlanır.

Karaciğerde insülin direncinin gelişmesi

İnsülin, normal şartlar altında karaciğerde glukoz üretimini baskılar. Karaciğer yağlanması ve insülin direnci gibi durumlarda ise insülinin bu etkisinde azalma ortaya çıkar, bu durum kan glukoz düzeyinin artmasına ve bu da insülin salınımının artmasına yol açar. Yağdan zengin diyetlerle beslenen köpekler üzerinde yapılan çalışmada periferal insulin direncinde orta düzeyce artış olurken insülinin hepatik glukoz üretimi üzerindeki baskılayıcı etkisinde azalmaya bağlı olarak karaciğerde belirgin insulin direnci ortaya çıktığı görülmüştür (Kim ve ark 2003).

Yağ dokusunda insülin direncinin gelişmesi

Yağ dokusu, insülin uyarımlı tüm vücut glukoz alımının yaklaşık %10'undan sorumludur. İnsülin, glukoz alımını uyarıp lipogenezi teşvik ederken, lipolizi ve buna bağlı olarak dolaşıma serbest yağ asidi geçişini baskılar. Diyabetik ve insülin dirençli bireylerin yağ hücrelerinde GLUT4 translokasyonu azalmış, IRS1 gen ifadesi,

insülinle uyarılan PI3K/Akt yolağı ve hücre içi sinyalizasyon bozulmuştur (Smith 2002).

Santral sinir sisteminde insülin direnci

İnsülin kan-beyin bariyerini transport mekanizmaları ile geçebildiği için insülin direnci santral sinir sisteminde de görülür. Hipotalamik arkuat nükleus insülin reseptörlerince zengindir ve insülinin iştah ve enerji dengesini sağlayıcı etkilerinin gerçekleştiği önemli bir bölgedir (Schwartz 2009). İnsülin direnci önce perifer hedef dokularda, daha sonra santral sistemde görülür. Her iki bölgedeki direnç obezite ile ilişkili olarak devam eder. Santral insülin direnci, kan-beyin bariyerinde bozukluktan daha çok, intrahipotalamik insülin duyarsızlığından kaynaklanmaktadır (Adam ve ark 2012). Hipotalamik insulin, kemirgenlerde endojen glukoz üretimini baskılayabilir. Bu etkisinden, hipotalamik PI3K aktivitesinin artmış olması ve glikoneojenik gen ifadesinin baskılanması sorumlu tutulmaktadır (Pocai ve ark 2005). İnsülin-beyin-karaciğer sinyal eksenindeki uzun süreli değişiklikler karaciğerin dolaşımdaki insülin miktarındaki ani değişikliklere karşı, Akt fosforilasyonu düzeyinde cevap verme becerisini değiştirebilir. Kronik hipotalamik insülin direnci, hepatik insülin direnci gelişmesine katkıda bulunabilir (Park ve ark 2009).

Pankreasta insülin direncinin gelişmesi

İnsülin direnci gelişiminde pankreasın β hücreleri kadar α hücrelerindeki fonksiyon bozuklukları da rol almaktadır. Pankreasın α hücrelerinin artmış ve uygunsuz işlevleri, hiperglukagonemi ile ilişkilidir ve karaciğerde glukoz üretiminin artmasından sorumludur. Bu durumun hiperglisemi oluşmasına katkıda bulunduğu ve diyabetik hastalardaki insülin direncinden sorumlu olabileceği düşünülmüştür (Unger ve ark 1970). Ferrannini ve arkadaşlarının 2007 yılında yaptıkları çalışmada 1.296 nondiyabetik bireyin insülin direnci öglisemik klemp tekniği ile ölçülmüş ve insülin direncinin muhtemelen α hücrelerindeki insülin direnci sonucu gelişen yükselmiş açlık glukagon konsantrasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Ferrannini ve ark 2007).

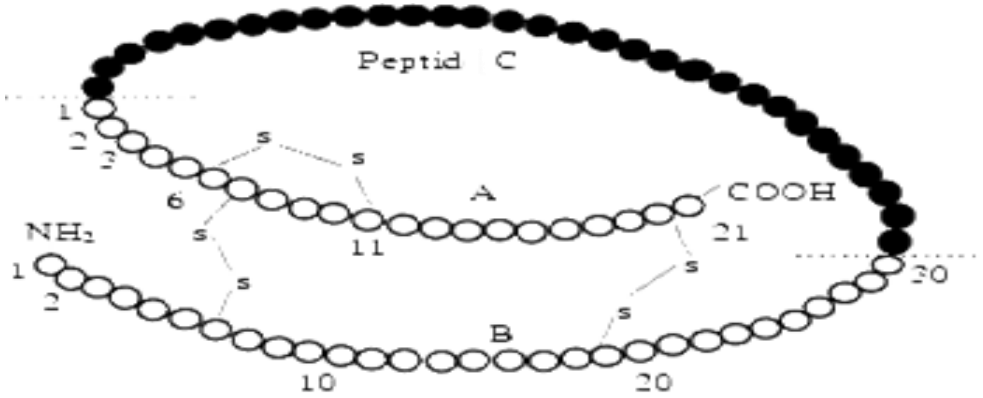
Yapılan bir diğer çalışmada, α hücresindeki insülin reseptöründe harabiyet oluşturulmuş (α insulin receptor knock out; αIRKO) farelerin, hiperglukagoneminin yanı sıra kontrol grubuna göre %50 oranında daha yüksek glukoz düzeylerine sahip oldukları gösterilmiştir. Bu durum, α hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde, direkt

in vivo insülin sinyal mekanizmalarının rolü olduğunu teyit etmektedir (Kawamori ve ark 2009).

1.4. İnsülin Hormonu ve Aktivasyonu

İnsülin, pankreasın Langerhans adacıklarındaki β hücrelerinden salgılanan peptid yapılı bir hormondur. Hücrelere glukoz alımını kolaylaştırmak, karbonhidrat ve lipid metabolizmasını düzenlemek ve bunun yanısıra mitojenik etkileri ile de hücre büyümesini ve bölünmesini teşvik etmek suretiyle normal kan glukoz düzeylerininin devamını sağlar.

Bir polipeptid olduğu 1928 yılında bulunan insülinin aminoasit diziliminin tanımlanması 1950'li yılları bulmuştur (Sanger ve Thompson 1953). İnsülin, birbirlerine disülfid köprüleri ile bağlanmış A ve B zincirlerini içeren, 51 aminoasitten oluşan ve moleküler ağırlığı 5802 olan bir dipeptiddir. İzoelektrik noktası pH 5,5'dir (Home 1997). A zinciri 21, B zinciri 30 aminoasit içermektedir. A zinciri antiparalel C-terminal helikse bağlı bir N-terminal heliks içerir. B zincirinin ise santral helikal bir segmenti vardır. Bu iki zincir A zincirinin N- ve C-terminal heliksleri ile B zincirinin santral heliksine iki adet disülfid bağı ile birleşmiştir (Şekil1.6). Proinsülinde, bağlayıcı peptid; A zincirinin N-terminalini, B zincirininin C-terminaline birleştirir (Dodson ve Steiner 1998).



Şekil 1.6. İnsülinin yapısı. İnsülin, birbirlerine disülfid köprüleri ile bağlanmış A ve B zincirlerini içeren bir peptid hormondur. A ve B zincirlerinin birbirlerine C (connecting) peptid ile bağlandığı yapı proinsülin olarak adlandırılır (http://www.pharmacorama.com/en/Sections/Insulin_1.php)

Sağlıklı kimselerde insülin metabolik ihtiyacı karşılamak için tam ve yeterli miktarda salınır. Özellikle β hücreleri plazma glukoz konsantrasyonundaki

değişikliklere karşı duyarlıdır ve glukoz değerlerine uyumlu şekilde cevap verir (Zhuove ark 2013).

Adacık hücrelerinden portal vene insülin sekresyonu, karakteristik olarak pulsatildir. Glukoz gibi uyaranlara cevap olarak ortaya çıkan insülin sekresyonu bifazik olup; 1. dk da ortaya çıkıp 3-5 dk'da zirveye ulaşan 1.faz salınımını, 10.dk sonlarında ortaya çıkan ve yoğunluğu daha az fakat daha sürekli olan 2.faz hormon salınımı takip eder**.** Pankreatik β hücreleri, bazal seviye olarak da adlandırılabilen açlık safhası esnasında, 0,25-1,5 ünite/saat insülin salgılarlar. Bu miktar glukozun hücrelere insülin bağımlı olarak girişi için yeterli bir miktardır (Bratanova-Tochkova ve ark 2002).

Başlıca hedef dokuları kas, karaciğer ve yağ dokusu olan insülin, etkilerini karbonhidrat yağ ve protein sentezini teşvik ederek gösterdiği için anabolik bir hormon olarak kabul edilir (Dimitriadisa ve ark 2011). İnsülinin bu etkileri aşağıdaki gibi gruplandırılabilir;

Karbonhidrat metabolizması

- Glukozun hücre zarı boyunca transport oranını artırır.
- Hekzokinaz ve 6-fosfofruktokinaz aktivitesini artırarak glikoliz oranını artırır.
- Kasda, yağ dokusunda ve karaciğerde glikojen sentezini uyarır, aynı zamanda glikojen yıkımını (glikojenoliz) azaltır.
- Karaciğerde glikoneogenez ve glikojenolizi azaltır

Lipid metabolizması

- Yağ dokusunda lipoliz oranını azaltır ve bu sayede plazma yağ asidi düzeyini düşürür.
- Dokularda yağ asidi ve trigliserol sentezini uyarır.
- Kandan yağ dokusu ve kas dokusuna trigliserid alımını artırır
- Karaciğer ve kasda yağ asidi oksidasyon oranını azaltır.
- Karaciğerde kolesterol sentezi oranı artırır.

Protein metabolizması

- Bazı amino asidlerin kas içerisine taşınma oranını artırır
- Kas, yağ dokusu, karaciğer ve diğer dokularda protein sentez oranını artırır.

- Kasda ve muhtemelen diğer dokularda, protein yıkım oranını azaltır.
- Üre oluşumunu azaltır**.**

İnsülinin, metabolizma üzerinde etkileri direkt ve indirekt etkiler olarak ele alınır. Aminoasid alımı, protein sentezi, yağ asidi alımı, yağ asidi sentezi ve kolesterol sentezi, insülinin direkt etkileri ile düzenir (Matthews ve ark 1985). İnsülin direkt etkilerini, hepatik insülin reseptörlerine bağlanarak ve böylece sinyal yolağını aktive ederek gösterir. İnsülin, hepatik glukoz üretimini regüle etmek için karaciğere doğrudan etki eder. İzole edilimiş sıçan hepatositlerinde insülinin, glikoneogenezi (Claus ve Pilkis 1976) ve glikojenolizi inhibe ederek glukoz üretimini önlediği gösterilmiştir (Marks ve Botelho 1986).

İnsülinin indirekt etkileri ise; pankreasta glukagon sekresyonunun azaltılması (Fisher ve Kahn 2003), yağ dokusunda lipolizin baskılanması (Mittelman ve Bergman 2000) ve kas dokusunda protein yıkımının azaltılmasıdır (Elia ve ark 1988). Yağ dokusunda lipolizin inhibe olması ile dolaşımdaki glikoneogenezi kolaylaştıran faktörlerden olan lipid ve gliserol miktarı azalır. Kas dokusunda protein yıkımının azalması ise glikoneogenez prekürsörlerini daha da azaltır (Wolfe ve Volpi 2001).

Açlık safhasında, adipoz dokudan yağ asitleri ve gliserol, iskelet kasından aminoasidler ve karaciğerden glukoz salınır (Olson 2012). Açlık safhası gibi düşük plazma glukoz insülin konsantrasyonlarında glikojen sentaz ve glukozun oksidasyonu, glukozun harcanmasına eşit olarak katkıda bulunur. Bununla birlikte artmış insülin konsantrasyonu ile aktive olan glikojen sentaz, glukoz yıkımında %70 gibi bir oranla baskın hale gelir. İskelet kaslarının açlık safhasında yağ oksidasyonunu, tokluk safhasında glukoz oksidasyonuna dönüştürme becerisi, metabolik esneklik olarak adlandırılır (Thiebaud 1982).

Doğumsal insülin reseptör yetmezliği olan, karaciğer spesifik reseptör harabiyetli (liver-specific insulin receptor knockout; LIRKO) farelerde, glukagon sekresyonu ve hepatik glukoz üretimi üzerinde insülinin baskılayıcı etkisi azalmaktadır (Fisher ve Kahn 2003). Bu durum insülinin hem indirekt hem de direkt etkilerinin ortaya çıkması için, karaciğerde sağlam insülin sinyal yolaklarının varlığının gerekli olduğunu göstermektedir (Girard 2006).

İnsülin, glukoz transportunu hızlandırıp, glikolizde görev alan hekzokinaz ve fosfofruktokinaz1 enzimlerinin aktivitesini artırarak glikoliz oranını artırır (Dimitriadis ve ark 1992, Mandarino ve ark 1995). Glukoz hücre içine girdikten sonra hekzokinaz tarafından fosforillenerek glukoz 6-fosfata dönüştürülür (Krook ve ark 2000). Fizyolojik şartlarda glukoz 6-fosfatın yaklaşık olarak üçte ikisi glikojene dönüştürülür ve üçte biri glikolize girer. Glikolitik yola giren glukozun büyük çoğunluğu (%80-90) karbondioksite, geri kalan %10-20'si ise laktata dönüştürülür (DeFronzo ve Tripathy 2009). Glikolizde yer alan ve fosfofruktokinaz1 tarafından, fruktoz 6 fosfat'ın fruktoz 1,6-bifosfat'a dönüştürüldüğü basamak geri dönüşümsüzdür. Bu yüzden fosfofruktokinaz1 glikolitik yolakda önemli bir kontrol noktasıdır ve glikolizin hızını belirler. Fosfofruktokinaz1 aktivitesinin ATP, sitrat ve yağ asitleri tarafından inhibe edilebilmesi negatif feedback mekanizmayı oluşturur (Weber 1977, Marshall ve ark 1978).

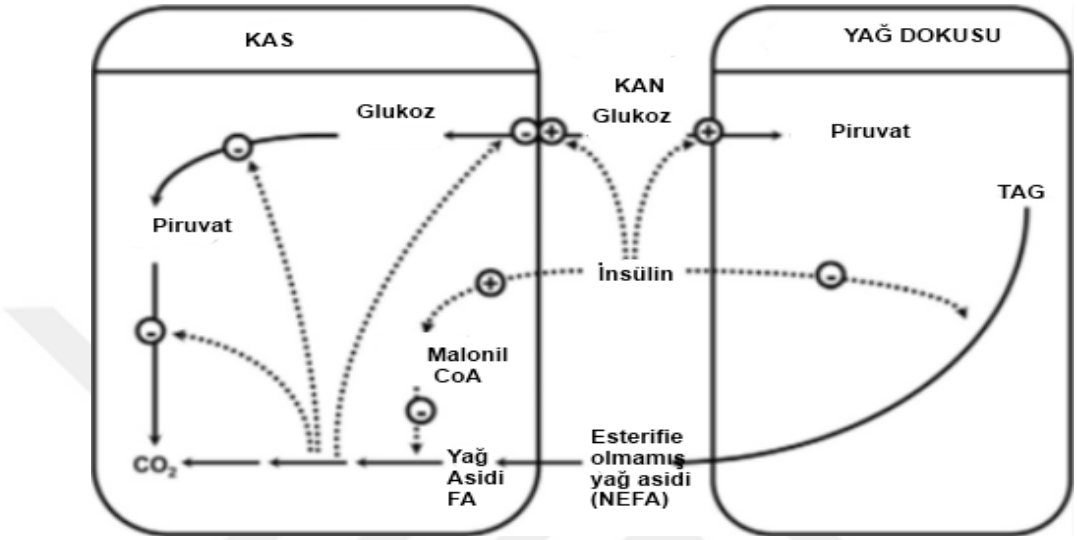
Glukoz alımını takiben plazma glukoz konsantrasyonundaki artış, β hücrelerinden insülin salgılanmasını uyarır, ortaya çıkan hiperinsülinemi, lipolizi baskılar. Lipolizin baskılanması ise plazma serbest yağ asidi (free fatty acid; FFA) konsantrasyonunu ve takiben lipid oksidasyon hızını azaltır (Abdul-Ghani ve DeFronzo 2010).

Klasik olarak karaciğerde yağ asidi oksidasyonu artışı; ATP, NADH ve prüvat karboksilazı aktive etmek için gerekli olan asetil Co-A'yı üreterek, glikoneogenezi teşvik eder. Sistemik insülin; yağ dokusundan gliserol ve esterifiye olmamış yağ asitlerinin (nonesterified fatty acid; NEFA) serbestleşmesini azaltarak karaciğerde NEFA akışını ve muhtemelen de yağ asidi oksidasyonunu azaltarak karaciğerde glukoz üretimini indirekt olarak baskılar (Sindelar ve ark 1997, Rebrin ve ark 1996, Mittelmanand ve Bergman 2000).

NEFA oksidasyonu, glukoz kullanım oranı ve oksidasyonunu spesifik olarak azaltır. Bunun yanı sıra glukoz, NEFA oksidasyon oranını azaltır, bu yüzden enerji kaynağı olan bu iki yakıtın oksidasyonu arasında karşılıklı bir ilişki vardır ve bu kontrol mekanizması, glukoz/yağ asidi döngüsü olarak bilinir.

İnsülin, lipoliz üzerine olan baskılayıcı etkileri ile plazma NEFA düzeyini azaltır. Ayrıca, kasdaki malonyl-CoA miktarını artırmak suretiyle, yağ asidi

oksidasyon oranını spesifik olarak azaltır (Şekil 1.7). NEFA artışına bağlı ortaya çıkan glukozun oksidasyon ve transportundaki azalma, insülin tarafından bertaraf edilmiş olur. Bu etkilerin birlikte uyum içerisinde çalışması glukoz kullanım oranında belirgin bir artış ile sonuçlanacaktır (Dimitriadisa ve ark 2011).



Şekil 1.7. Glukoz/yağ asidi döngüsü. İnsülin yağ dokusunda lipoliz oranını azaltır ve buna bağlı olarak kandaki esterifiye olmamış yağ asidi (NEFA) düzeyini düşürür. Kasdaki malonil-CoA miktarını ise artırır (Newsholme ve Dimitriadis (2001).

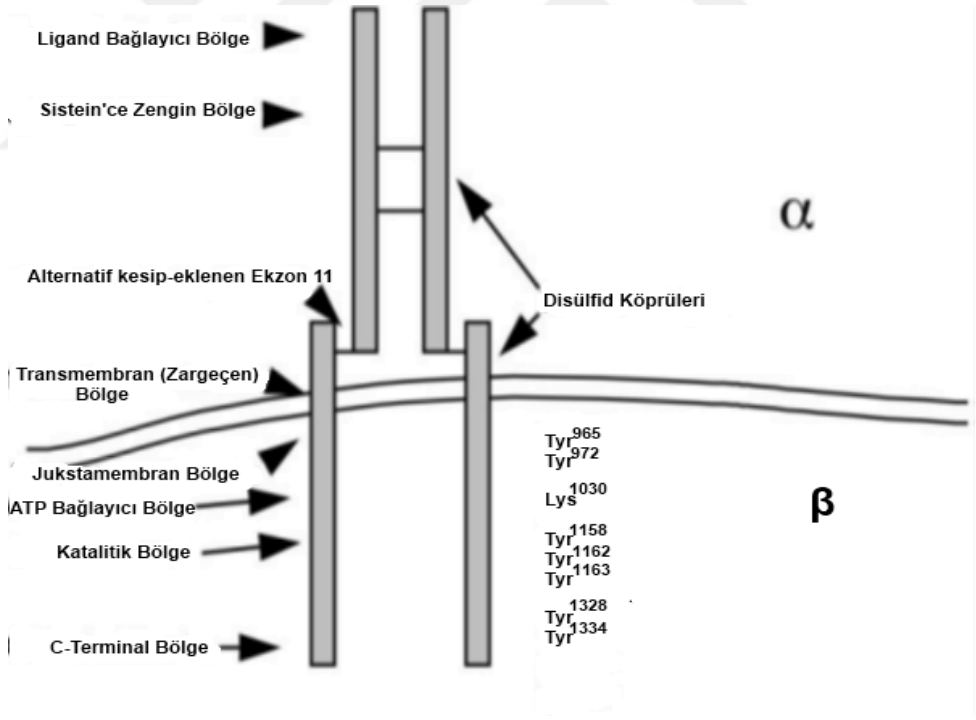
Glukoz ökaryotik hücrelere, iki farklı tipi bulunan zar proteinleri sayesinde girer. Bunlar; sodyumla eşleşmiş glukoz taşıyıcıları (Na^+ coupled glucose transporters; SGLT) ve glukoz transport kolaylaştırıcıları (glucose transporter facilitator; GLUT)'dır. İnsanda GLUT ailesi, 11'inin glukoz transportunu gerçekleştirdiği gösterilmiş olan 14 üyeden oluşur (Scheepers ve ark 2004). Bu glukoz taşınım kolaylaştırıcılardan birisi olan GLUT4'ün sitozolden plazma zarına translokasyonu insülin uyarımı ile gerçekleşir. GLUT4'ün ifadesinde ortaya çıkan bozukluklar, insülin direnci oluşumuna katkıda bulunabilmektedir (Jongsoon ve Pilch 1994, Scheepers ve ark 2004).

1.4.1.İnsülin Reseptörü ve İnsülin Reseptör Substratları

İnsülin reseptörü hücre zarına sıkıca bağlanmış, birbirlerine disülfid bağları ile bağlı iki adet β alt ünite ile iki adet α alt üniteden oluşmuş heterotetramerik bir glikoproteindir (Kristensen ve ark 1998). İnsülin reseptörünün α alt ünitesi tamamen hücre dışı matriks yerleşimlidir. β alt ünitesinin ise bir kısmı hücre dışı yerleşim

gösterirken jukstamembran bölümü ve katalitik aktiviteye sahip olan tirozin kinaz kısmı hücre içi yerleşim gösterir, zargeçen kısmı ise hücre zarına gömülü şekilde bulunur (Seino ve ark 1989). İki α zinciri, sınıf 1 disülfid bağları ile birbirlerine tutunurken β zincirleri ise sınıf 2 disülfid bağları ile α zincirlerine bağlanırlar (Şekil 1.8) (Massagué ve Czech 1982). Sınıf 1 disülfid bağları dithiothreitol tarafından kolayca ingirgenebilirken, sınıf 2 indirgenme işlemine oldukça dirençlidir (White ve Kahn 1994).

β alt ünitenin hücre içi bölgesinde, tirozin rezidülerinin fosforilasyona uğradığı birçok otofosforilasyon alanı vardır. Bu alanlardan biri olan aktif ilmekdeki rezidülerin fosforilasyonu, reseptörün kinaz aktivitesinin başlatılması için elzemdir. Karboksi-terminal fosforilasyon bölgesi reseptörün mitojenik aktivitesinde rol oynayabilir. Jukstamembran otofosforilasyon bölgesi ise reseptör/substrat kompleksinin stabilitesini artırmak için kenetlenme noktası sağlayarak reseptör ve onun hücre içi substratı ile arasındaki etkileşimimde önemli rol oynar (Tavare ve Siddle 1993).



Şekil 1. 8.İnsülin reseptörünün organizasyonu ve temel yapısal özelliklerinin şematik gösterimi. İnsülin bağlanma bölgesi, α alt ünitesinin N-terminal bölgesinde yer alır. Sitozolik bölgede yer alan β alt ünitesi, tirozin-spesifik protein kinaz aktivitesi içerir. Reseptörün hücre dışı bölgesine insülinin bağlanması, reseptörün hücre içi bölgesinin otofosforilasyonu ve ATP bağlanması gibi yapısal değişikliklere neden olur (Kido ve ark 2001).

İnsülin reseptör geni 180 kilobaz (kb) uzunluğunda olup 19. kromozomun kısa kolu üzerinde (19p13.3) yer alır. Yirmi iki ekzon ve 21 introndan oluşan (Ullrich ve ark 1985, Rojek ve Niedziela 2010), insülin reseptör geninin ilk 11 ekzonu reseptörün 90 kb uzunluğundaki α alt grubunu kodlarken, diğer 11 ekzon yaklaşık 30 kb uzunluğundaki β alt ünitesini kodlar (Rojek ve Niedziela 2010). mRNAdan tek zincir polipeptid prekürsörü olarak çevirilen insülin reseptörü, postranslasyonel kesimden sonra dimerize olur ve plazma zarına taşınır (Kido ve ark 2001).

İnsülin reseptörü, tirozin kinaz reseptör ailesinin bir üyesidir. Bütün tirozin kinaz reseptörleri ligandın bağlanmasını takiben ortaya çıkan otofosforilasyon sonucu efektör molekülle etkileşerek biyolojik cevap ortaya çıkarırken insülin reseptörü farklı olarak, önce geniş protein substratı (insüin reseptör substratı; IRS)'nı fosforile eder ve sonrasında efektör moleküllerle ilişkiye girer. İnsülin reseptörünün IRS'yi fosforilasyonu, tirozin rezidüleri üzerinden gerçekleşir (Koch ve ark 1991, Mayer ve Baltimore 1993).

Bilinen dört IRS proteini vardır. IRS1'in iskelet kasında, IRS2'nin karaciğerde, IRS3'ün adipoz dokuda, β hücrelerinde ve karaciğerde, IRS4'ün ise timus, beyin ve böbrekte ağırlıklı olarak ifade edildiği düşünülmektedir (Withers ve White 2000, Burks ve White 2001, Kido ve ark 2001).

Enzimatik aktiviteleri bulunmayan IRS proteinleri, insülin reseptörü ile aşağı ileti yolaklarındaki hedefler arasında köprü görevi görerek insülinin sinyal iletimini gerçekleştirirler (Myers ve ark 1994). Örneğin IRS1, aktive olmuş reseptör ile, üzerinde Src homoloji (SH2) bölgeleri taşıyan fosfotidilinositol 3-kinaz (PI3K), Ras, Gap ve Fosfolipaz C gamma (PLCγ) gibi bazı efektör proteinler arasında bağlantı oluşturarak bu işlevi görür (Sun ve ark 1991, Rhee ve Choi 1992, Sun ve ark 1993).

IRS1'de 20 adet tirozin rezidüsü bulunur. Bunların altısı, PI3K'nın düzenleyici alt ünitesi olan p85'in SH2 bölgesine (Myers ve ark 1992), IRS1'in bağlanmasını kolaylaştran YMXM dizisi (Tyr-Met-X-Met) içinde yer alır. İnsülinin etkisiyle fosforile olan IRS'lerin diğer bir motifi, spesifik YXXM dizileridir (Araki ve ark 1991, Shoelson ve ark 1992). Bu diziler de adeziv moleküller olarak görev alırlar ve tirozin rezidülerinde gerçekleşen fosforilasyon, IRS proteinlerinin, PI3K gibi diğer sinyal moleküllerine bağlanma afinitesini artırır. Bu sayede protein-protein kompleksleri

oluşumu ile çeşitli sinyal yolları işlerlik kazanır (White 1998). Tyr-Met-X-Met motifi aynı zamanda insülin reseptör tirozin kinazın, substratı olan IRS'yi tanıması için de belirleyici bir faktördür. Met+1 ve Met+3 pozisyonundaki amino asid değişikliklerine karşı insülin reseptör tirozin kinazın duyarlı olması, bu pozisyonların reseptör tirozin kinazın IRS1'i tanımasında önemli rol oynadığını düşündürmektedir (Cantley ve ark 1991, Shoelson ve ark 1992).

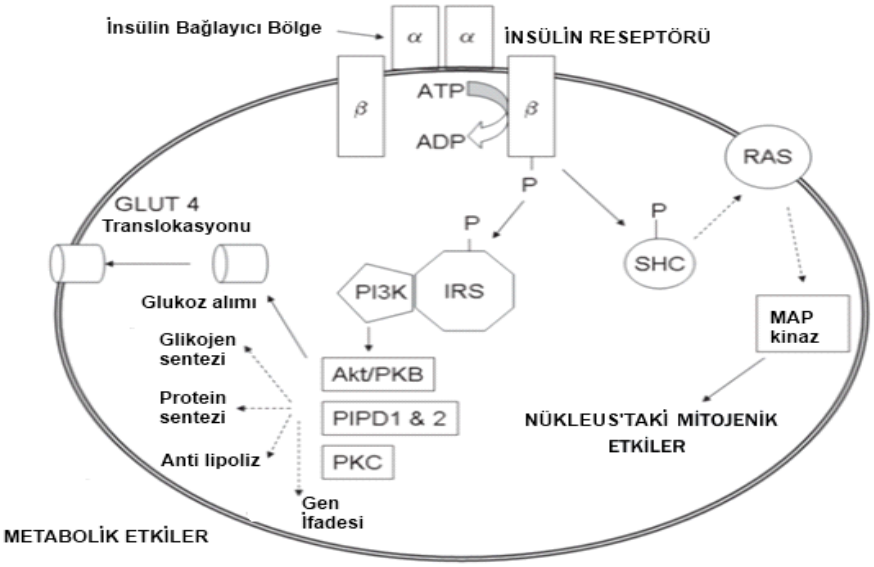
Aktifleşmiş reseptörle verimli bir etkileşimin olabilmesi için, IRS1 in en az iki bölgesinin varlığı gereklidir; N-terminal uçtaki Pleskstrin Homoloji (PH) bölgesi ve C terminal bölgesi. Bu ikinci bölge, IRS1 fosfotirozin-bağlayıcı (PTB) bölge olarak adlandırılır (Myers ve ark 1995).

İnsülin reseptör substratları ayrıca, sinyal yolunun baskılanmasında serin-protein kinaz kaskadını aktive eden aşağı yönde substratlar olarak da görev alır. Protein kinaz B (Akt) ve Ras Mitojen aktivasyonlu protein kinaz (Ras MAP kinaz); IRS'lerin substrat olarak görev alıp aktive ettikleri serin-protein kinaz kaskadları arasında yer alır (Beale 2013). Serin-protein kinazlar IRS'lerin PTB bölgesinin fosforilasyonunda rol alırlar (Paz ve ark 1999). Akt, enerji homeostazı ile ilgili yolaklarda yer alırken, Ras MAP kinaz daha çok protein sentezi, hücre büyümesi ve farklılaşması ile ilgilidir (Şekil 1.10) (DeFronzo 2010, Spiegel ve ark 2011).

1.4.2. İnsülin Sinyal İleti Yolu

İnsülin, metabolik ve büyümeyi teşvik edici etkisi olmak üzere iki yönde etki gösterir (Kahn 1985). İnsülin metabolik etkilerini PI3K/Akt yolu üzerinden gerçekleştirirken, mitojenik etkilerini ise Ras/MAP kinaz yolağı üzerinden gerçekleştirir (Şekil 1.9) (Rojek ve Niedziela 2010).

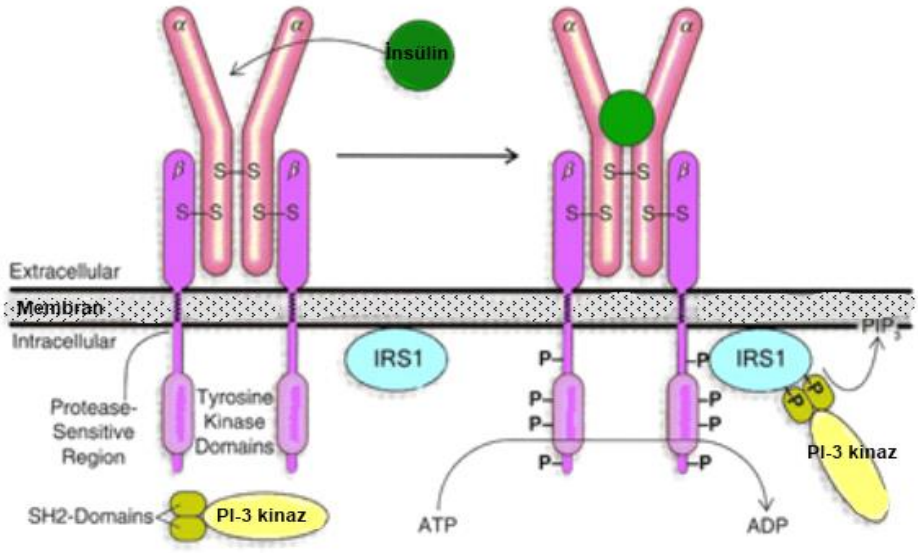
İnsülinin reseptöre bağlanması, reseptörün iki α-alt ünitesini birbirine yaklaştırır. Bu yapısal değişiklikler β-alt ünitenin hücre içi bölümüne ATP bağlanmasını mümkün kılar. ATP bağlanması ile aktive olan reseptör otofosforilasyonu, hücre içi protein substratlarına karşı reseptör kinaz aktivitesini sağlar (Şekil 1.9) (Hubbard ve ark 1994, Hubbard 1997).



Şekil 1.9. İnsülin sinyal yolağının şematik gösterimi. İnsülin sinyal yolu PI3K/Akt üzerinden metabolik etkilerini gösterirken, MAP kinaz üzerinden mitojenik etkilerini gösterir (Wilcox 2005).

Sinyal iletiminin 1. basamağı reseptörün katalitik kısmı içerisinde yer alan tirozin fosforilasyonu sonucu otoaktivasyonunu ve jukstamembran bölgede yer alan tirozinin fosforilasyonununu içerir. Jukstamemran bölgedeki tirozin fosforilasyonu, IRS1'in olaya dahil olmasının önünü açar (White ve ark 1988a, 1988b). IRS proteinlerindeki tirozinin fosforilasyonu; SH2 bölgesi içeren efektör moleküller için tanınma bölgeleri oluşturur. Bu moleküller içerisinde PI3K oldukça önemlidir (Pessin ve Saltiel 2000).

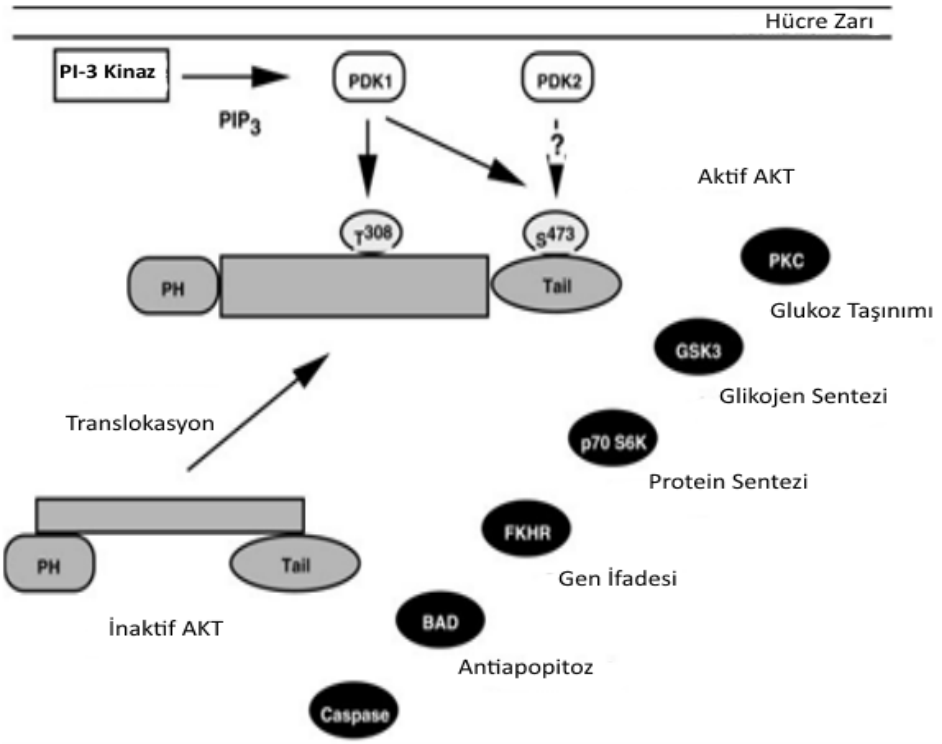
PI3K'nın IRS1'e bağlanması ile insülin için önemli bir fizyolojik hedef olan yağ hücrelerini de içeren (Kelly ve Ruderman 1993) çeşitli hücrelerin insülin bağımlı tarzda aktivasyonu başlamış olur (Ellis ve ark 1986, Backer ve ark 1993, Okamoto ve ark 1993). PI3K'nın p85 alt ünitesinde yer alan iki SH2 bölgesi, aktive reseptör ya da adaptör moleküllerde yer alan YXXM motiflerindeki fosfotirozin rezidülerini tanır (Şekil 1.10) (Songyang ve ark 1993).



Şekil 1.10. İnsülin reseptörünün stimülasyonu. PI3K'nın p85 alt ünitesinin, IRS1'in fosforile tirozin rezidülerine bağlanması, PI3K'nın katalitik p110 alt ünitesinin yapısal olarak değişimine ve takiben aktive olmasına yol açar. Daha sonra p85 düzenleyici alt ünite ile p110 katalitik alt ünite, bir bütün olarak hücre plazma zarına yerleşir. (http://www.trinity.edu/lespey/biol3449/lectures/lect10/lect10.htm)

Aktive olan PI3K; fosfotidilinositol 4,5 bifosfat (PIP2)'ı fosfotidillinositol 3,4,5 trifosfata (PIP3)'a dönüştürür (Rojek ve Niedziela 2010). PIP3 ise, PDK (fosfoinositid bağımlı kinaz; PBK) ve protein kinaz B (Akt) gibi proteinler için kenetlenme yerleri oluşturur (Backer ve ark 1992, Mora ve ark 2004).

PI3K'nın PIP2 üzerine etkisi ile oluşan PIP3, Akt'ye bağlanır ve Akt'nin hücre zarına taşınmasına yol açar. PIP3 aynı zamanda, PH bölgeleri aracılığı ile, PDK'ya bağlanır. Daha sonra PDK, Akt üzerindeki treonin rezidülerini fosforile ederek Akt'yi aktive eder (Şekil 1.11) (Rojek ve Niedziela 2010, Matsuda ve ark 2013).



Şekil 1.11. Akt'nin aktifleşmesinde PDK'nın rolü ve Akt'nin etkili olduğu mekanizmalar. PI3K'nın etkisiyle hücre içinde miktarı artan PIP3, PDK1 ve PDK2'yi aktive eder. PDK1 ve etkisi tam olarak belirlenemese de PDK2, Akt üzerindeki T308 ve S473 rezidülerini fosforile ederek Akt'yi aktifleştirir. İnsülin uyarımı ile aktive olan Akt, pek çok mekanizmanın gerçekleşmesinde görev alır (Kido ve ark 2001).

Akt, üç izoform halinde bulunur (Hers ve ark 2011). Akt1 daha çok büyümeye katkı sağlarken, Akt2 insülin aracılı GLUT4 translokasyonunun gerçekleşmesinde rol oynar (Leitner ve ark 1997, White 1997, Giovannone ve ark 2000). Akt3 ise insülin duyarlı dokularda ifade edilmez (Huang ve Czech 2007).

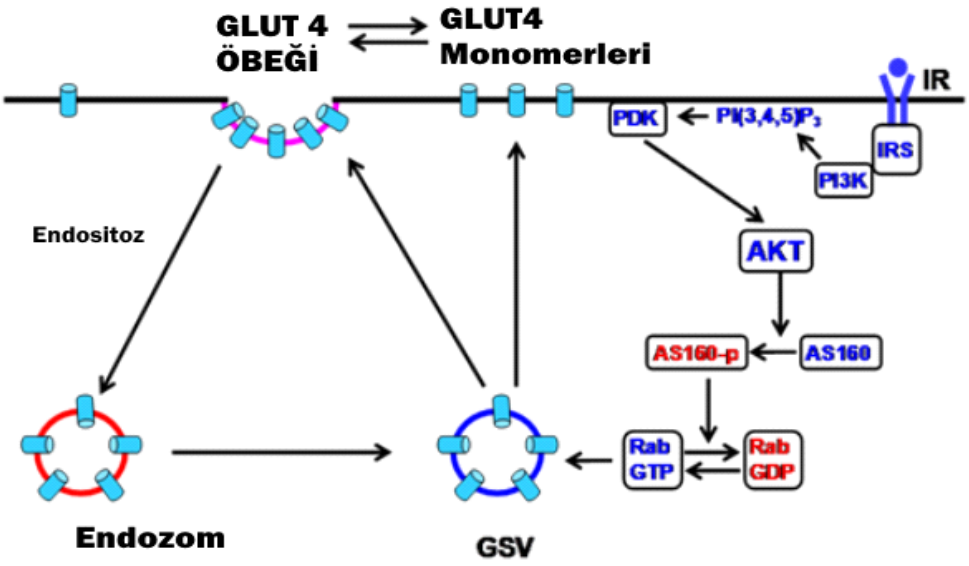
PI3K/Akt yolağı hem bir grup genin ifadesinin artırılması hem de glikolitik enzimlerin kontrolünü sağlamak suretiyle oldukça geniş etki alanına sahiptir. Glikolitik yolun düzenlenmesinde tanımlanmış Akt hedeflerinden bir tanesi glikojen sentez kinaz 3 (GSK3)'tür. GSK3, glikojen sentazı inhibe ederek glikojen sentezini önler. Akt ise, GSK3'ü fosforilleyerek inhibe eder ve glikojenin sentezini ve depolanmasını sağlar (Cross ve ark 1995). İnsülinin Akt sinyal yolu üzerinden glikojenezi desteklemesinin bir diğer mekanizması, glikojen sentaz ve glikojen fosforilaz üzerine olan etkileri ile açıklanır. İnsülin, hem glikojen sentazı hem de glikojen yıkımından sorumlu olan glikojen fosforilazı defosforile eder. Böylece glikojen sentaz aktifleşir, glikojen fosforilaz ise inaktifleştir. İnsülin ayrıca, Akt sinyal

ileti yolu üzerinden glukokinaz (GK) olarak da bilinen Hekzokinaz IV'ün ifadesini de düzenler (Iynedjian ve ark 2000).

İnsülinle aktivasyonunun, glukoz taşınması gibi insüline bağımlı fizyolojik işlemler ile bağlantısı 1990'lı yıllarda kurulamamışken (Jongsoon ve Pilch 1994), halihazırda insülin-uyarımlı GLUT4 translokasyonu için kesin olarak elzem olduğu bilinen tek aşağı ileti sinyal molekülü PI3K/Akt'dir. Çeşitli farmakolojik inhibitörlerin, mikroenjeksiyonla verilen bloke edici antikorların ve dominant etkili yapısal olarak aktif mutantların kullanıldığı çalışmalar; insülin-uyarımlı glukoz alımında ve GLUT4 translokasyonunda PI3K aktivitesinin gerekli olduğu düşüncesini desteklemektedir (Czech ve Corvera 1999).

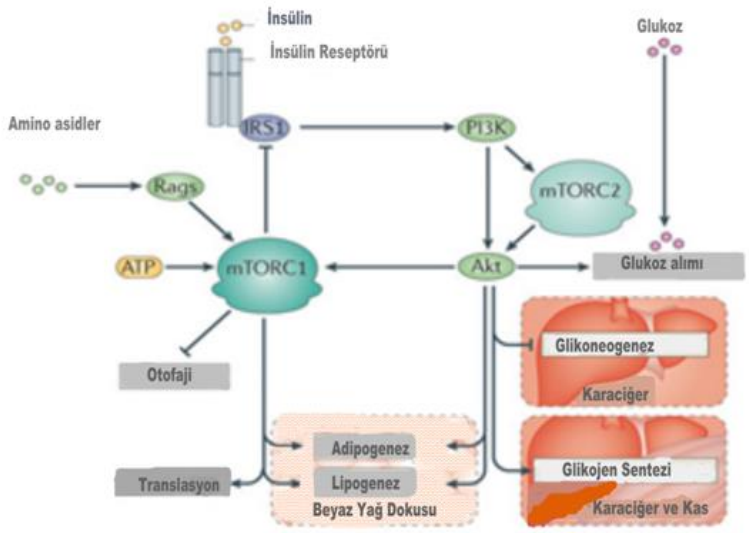
GLUT4 içeren veziküllerin GDP ile bağlanması, hücre yüzeyine translokasyonlarını inhibe eder. Akt'nin substratları (AS160 ve TBC1D1) ise, GTP'den GDP oluşturan Rab GTPaz aktive edici proteinler ile yüksek homoloji gösterirler. Akt'ın bu substratları fosforile etmesi ile Rab GTPaz etkisi azalır ve sonuçta GDP oluşamaz ve GLUT4 GDP ile bağlanamayacağı için translokasyon inhibe olmaz ve GLUT4 içeren veziküller serbestleşerek hücre yüzeyine transloke olur (Şekil 1.12) (Sano ve ark 2003). Bu durum, PI3K/Akt yolağının GLUT4 içeren veziküllerin döngüsünün (zar-sitozol arasındaki) düzenlemesi açısından glukozun hücre içine taşınımındaki önemini göstermektedir (Şekil 1.12).

Akt, mitokondrial hekzokinazın oksidatif fosforilasyon üzerine olan aktivitesini de düzenler. PI3K/Akt yolağı, glikolizin aktiviasyonuna bağlı olarak hücreleri apopitozdan da korumaktadır (Gottlob ve ark 2001).



Şekil 1.12. GLUT4'ün sitozol ve zar arasındaki devir daiminin düzenlenmesi. AKT: protein kinaz B; AS160: AKT substratı 160; GLUT4: glukoz transporter 4, GSV: GLUT4 depo vezikülleri, İR: insulin reseptör, IRS: insulin reseptör substrat, PDK: phosphoinositide-bağlı kinaz, PI3K: fosfotidil 3 kinaz, $PI(4,5)P_2$: fosfotidil (4,5) bifosfat, $PI(3,4,5)P_3$, fosfotidil (3,4,5) trifosfat, Rab: Ras-ilişkili küçük GTP-bağlanma proteini (http://www.ijbs.com/v06p0716.htm'den düzenlenerek alınmıştır)

Akt ve insülinin etkileştiği bir diğer sistem de mTOR sinyal sistemidir. Bütün ökaryotlarda, rapamisin hedefi (target of rapamycin; TOR) sinyal ileti yolağı, hücre büyümesi ve çoğalması ile ilişkilidir. TOR, bir protein kinazdır ve fosfotidilinositol 3 kinaz ile ilişkili protein kinaz (PIKK) ailesinin bir üyesidir. Serin/treonin kinaz aktivitesine sahip olan TOR, iki farklı multiprotein komleksinin bir parçasıdır: TOR komleks 1 (TORC1) ve TOR komleks2 (TORC2) (Wullschleger ve ark 2006). İnsülinin uyarımına bağlı PI3K aktivasyonu sonucu oluşan PIP3'ün etkisiyle hücre zarına yönelen Akt, mTORC2 (memeli TORC2) tarafından fosforillenerek aktive edilir (Şekil 1.13) (Zoncu ve ark 2011).



Şekil 1.13. mTORC1'in fizyolojik aktivasyonu. Gıda alımını takiben glukoz ve aminoasidlerin yanısıra insülin düzeyi de yükselir. PI3K aracılı olarak insülin ve mTORC tarafından aktive edilen Akt; insülinin glukoz taşınması gibi etkilerine aracılık etmesinin yanı sıra mTORC1'in etkilerini de destekler. mTORC2, glukozun hücre içine alımını ve glikojen sentezini artırıp glikoneogenezi inhibe ederek glukoz kullanımını desteklerken mTORC1 protein sentezini aktive eder. (http://www.nature.com/nrm/journal/v12/n1/fig_tab/nrm3025_F3.html).

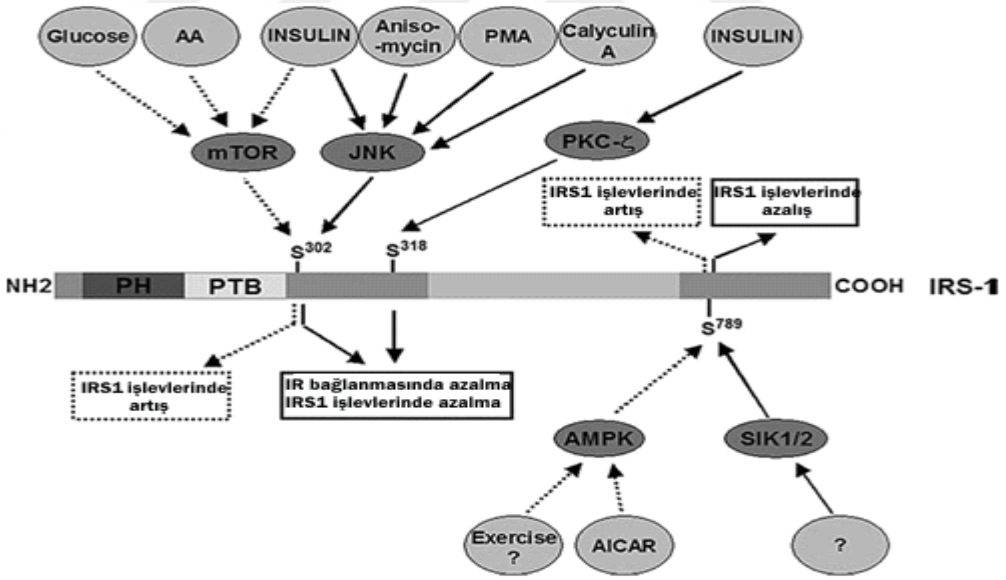
1.4.3. İnsülin Sinyal İleti Yolunun Düzenlenmesi

İnsülin sinyal iletimi, hem pozitif hem de negatif olarak düzenlenir (Ueki ve ark 2000). İnsülin sinyal ileti yolunun başlangıcında yer alan IRS fosforilasyonu; sinyal iletiminin kontrolünde oldukça önemlidir. IRS1'deki serin rezidülerinin fosforilasyonu, insülinin etkilerinin artırılması ya da sonlandırılması şeklinde ikili etkiye sahiptir (Şekil 1.14).

Bir serin/tireonin kinaz olan Akt tarafından IRS'lerin PTB bölgesi üzerinde gerçekleşen serin fosforilasyonu, IRS'leri tirozin fosfatazların yıkıcı etkilerinden koruyarak sinyal iletimin sürdürülmesini sağlar (Paz ve ark 1999).

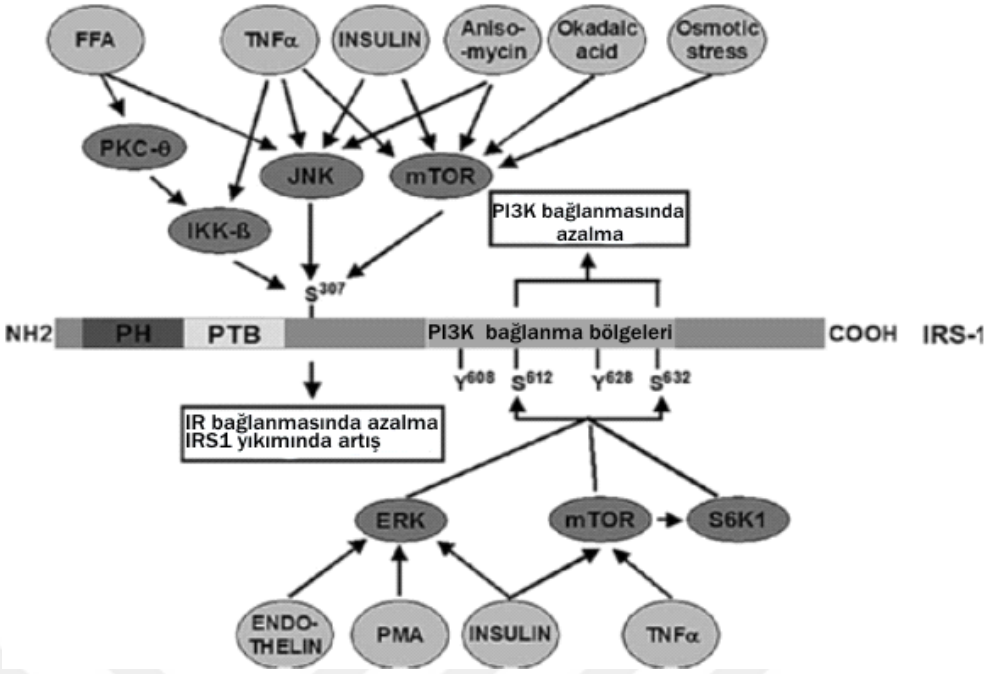
Serin rezidülerinden özellikle Ser302'nin fosforilasyonunun ikili etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Şekil 1.14) (Werner ve ark 2004, Gual ve ark 2005). Fare kas hücrelerinde ve adipositlerinde yapılan deneysel çalışmalar, insülinin yanısıra amino asidler ve glukozun da etkisiyle ortaya çıkan Serin302 fosforilasyonunun insülin

sinyalizasyonu üzerine olumlu etkilerini destekler niteliktedir (Giraud ve ark 2004). Ser302 fosforilasyonunun kronik insülin uyarımına bağlı olarak ortaya çıkması ise insülin reseptörünün substratı ile bağlantısını bozarak insülin sinyalizasyonu üzerine azaltıcı etki yapmaktadır (Şekil 1.14). Kronik insülin uyarımına bağlı ortaya çıkan Ser302 fossforilasyonu ise insülin reseptörünün substratı ile bağlantısını bozarak insülin reseptörünün ve insülin sinyalizasyonunun etkileri üzerine azaltıcı etki yapar. Diğer yandan IRS1'in bazı spesifik bölgelerinde uzun süreli insülin uyarımını takiben ortaya çıkan fosforilasyon, IRS1'in tirozin fosforilasyonunu azaltarak, insülin sinyalizasyonunda negatif konrtol mekanizması oluşturur (Zick 2001). Ser307, Ser612 ve Ser632 potansiyel serin fosforilasyon alanları IRS1 üzerinde yer alan bu spesifik bölgeler arasında ele alınmaktadır. Örneğin; Ser307 fosforilasyonu, IRS1'in insülin reseptörü ile kenetlenmesini bozup tirozin fosforilasyonunun gerçekleşmesine engel olarak IRS'nin yıkımını artırır (Rui ve ark 2001). Ser612 ve Ser632 fosforilasyonu ise IRS1 üzerindeki PI3K'nın bağlanma bölgesindeki tirozin rezidülerinine yakın olması nedeniyle PI3K'nın etkinliğni azaltır (Şekil 1.15) (Gual ve ark 2003).



Şekil 1.14. Ser302 fosforilasyonunun IRS1 işlevi üzerine iki yönlü etkisi. Glukoz, aminoasidler ve insülin etkisiyle oluşan Ser302 fosforilasyonu IRS1 işlevlerini artırıken, JNK aracılı kronik insülin uyarımı sonucu oluşan Ser302 fosforilasyonu insülin reseptör bağlantısını zayıflatarak IRS1 işlevlerini azaltır.

IRS proteinlerindeki serin/treonin fosforilasyonlarının negatif düzenleyici fonksiyonlarına rağmen IRS fonksiyonları için, bazal düzeyde de olsa serin/treonin fosforilasyonu gereklidir ve bu fosforilasyon, substrattaki tirozin rezidülerinin, reseptör tarafından fosforlanmasını teşvik eder (Greene ve Garofalo 2002).

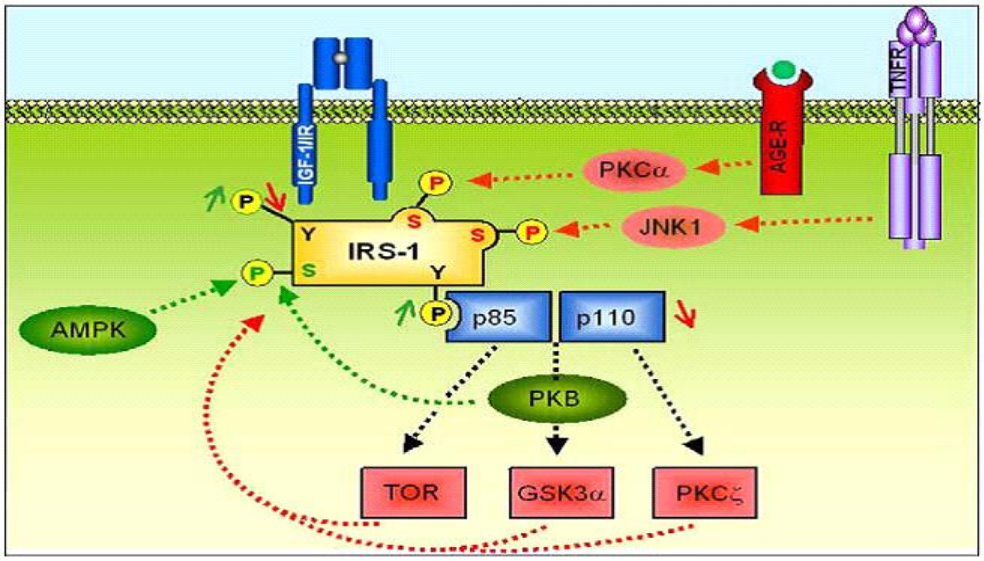


Şekil 1.15. IRS1'in Ser307, Ser612, and Ser632 üzerinden fosforilasyonu ile negatif düzenlenmesi. IRS1 üzerinde yer alan Ser307 nin fosforilasyonu IR bağlanmasında azalma ve IRS1 yıkımında artış yaparken, Ser612 ve Ser632'nin fosforilasyonu PI3K bağlanmasında azalmayla sonuçlanır.

İnsüline cevap olarak ortaya çıkan Akt aktivasyonu sonucunda, IRS1'deki serin rezidülerinin fosforilasyonundaki artışın yanısıra Akt'nin aşağı sinyal ileti yolundaki diğer bir substratı olan GSKβ (glucogen sentaz kinaz β), fosforillenerek inaktif hale getirilir. Böylece GSK'nın glikojen sentaz enzimi üzerindeki inaktivasyonu önlenmiş olacağı için glikojen sentezi ve glukoz depolanmasının önü açılmış olur. Bu durum insülin sinyalizasyonunda, pozitif düzenleyici (pozitif-feedback) etki olarak karşımıza çıkar (Wong ve ark 2007). P85 alt ünitesinin de insülin sinyal mekanızmasında düzenleyici etkisi vardır.

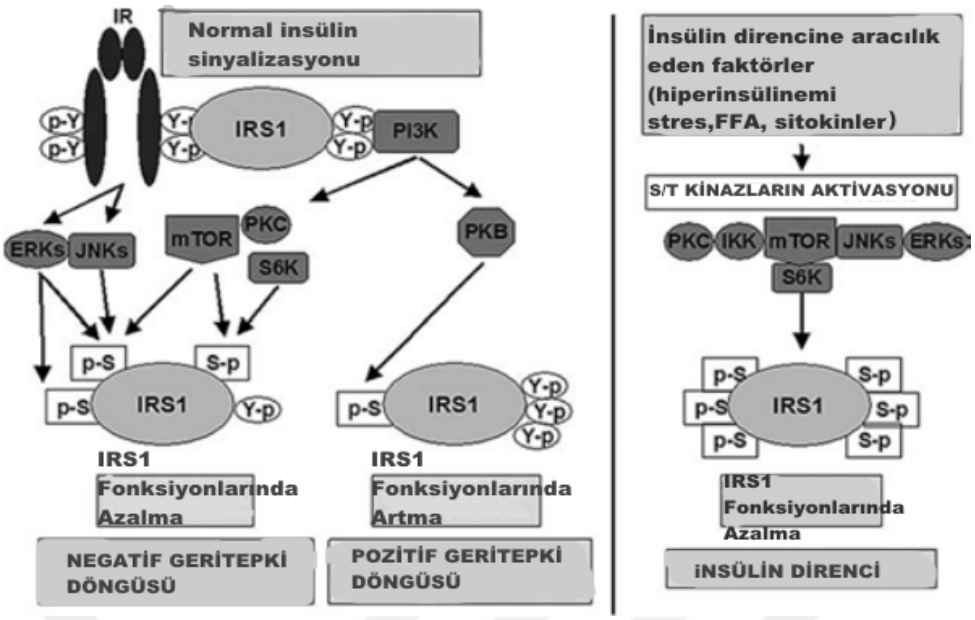
PI3K'nın aktivitesinden iki alt ünitesi olan p85 ve p110'un oluşturduğu heterodimerik kompleks sorumludur. p85 monomeri ise IRS'ye bağlanma konusunda bu kompleks ile yarış halindedir. Bu yüzden p85 alt ünitenin ifadesinde ortaya çıkan artış ya da azalma, PI3K aktivitesinde artış ya da azalma ile sonuçlanır (Ueki ve ark 2002). İnsan plasenta kaynaklı büyüme hormonunun, p85 alt ünitenin ifadesini artırarak iskelet kaslarında insülin direncini tetiklediğine dair çalışmalar da göz önüne alındığında (Barbour ve ark 2004) p85 alt ünitenin PI3K üzerinde negatif düzenleyici etkisinin olduğundan bahsetmek mümkündür.

İnsülin aynı zamanda IRS1 üzerindeki spesifik bölgelerin fosforilasyonunu sağlayan mTOR ve PKC gibi serin/treonin kinazları da aktive eder. Bu bölgelerin fosforilasyonu IRS1 fonksiyonlarını bozar. Bu da insülinin negatif düzenleyici (negatif feedback) etkisi olarak adlandırılır. Bu yüzden IRS1'in fonksiyonlarının düzenlenmesi açısından IRS1'in negatif ve pozitif fosforilasyonu arasında hassas bir denge sözkonusudur (Şekil 1.16 ve 1.17).



Şekil 1.16. IRS1 işlevlerinin serin/treonin fosforilasyonu ile düzenlenmesi. IRS1'in tirozin rezidülerinin fosforillenmesi, p85/p110 heterodimerik yapıdaki PI3K ile ilişkisini sağlar. AKT ve AMPK aracılı serin/treonin fosforilasyonu bu ilişkiyi pozitif yönde etkilerken, negatif düzenlenme ise PKCK, JNK1, TOR ve GSK3 ile gerçekleşir (Johnston ve ark 2003).

mTORC1 (mammalian TOR complexes 1)'in kendi substratı olan S6K, IRS1'in negatif düzenlenmesini sağlar. Hiperinsülinemi gibi nedenlerle mTORC1'in uzun süreli aktivasyonu, S6K üzerinden IRS'in fonksiyonlarını azaltarak, insülin direncine neden olabilmektedir (Şekil 1.17 ve 1.18) (Zoncu ve ark 2011).

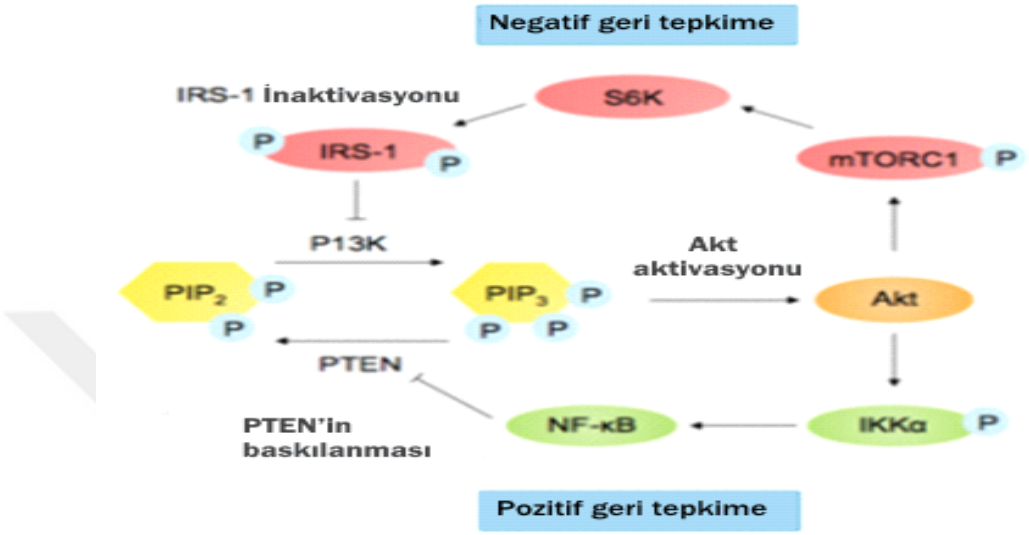


Şekil 1.17. IRS1 fosforilasyonunun normal insülin sinyalizasyonu ve insülin direnci oluşumundaki rolü. IRS1'in insülinle aktive olan PKB (Akt) tarafından fosforillenmesi IRS fonksiyonlarında pozitif etki yaparak insülin etkilerini artırıken, fosforilasyonun Akt dışındaki PKC ve mTOR gibi faktörlerle gerçekleşmesi ise negatif etki yaparak, insülinin etkilerini sonlandırmaktadır (Gual ve ark 2005).

Serbest yağ asitleri, sitokinler, anjiyotensin II, hücresel stres ve hiperinsülinemi, IRS1'deki serin fosforilasyonu üzerinden gerçekleşen negatif kontrolü artıran faktörler arasında sayılabilir. Bu faktörler, mTOR, PKC gibi serin/treonin kinazları aktive ederek, IRS1'in negatif fosforilasyonuna neden olurlar (Gual ve ark 2005). Ayrıca hücre sağ kalımını, büyümesini ve göçünü de düzenleyen PI3K/PTEN ekseninde yer alan PTEN'in de insülin sinyal ileti yolunda negatif düzenleyici rolü vardır (Şekil 1.18) (Marqués ve ark 2008).

Sinyal iletiminin negatif düzenlenmesinde yer alan bir takım protein tirozin fosfatazlar (PTP) bulunmaktadır. Bu fosfatazlar, insülin reseptörünü defosforile ederek kinaz aktivitesinde azalmaya ve böylece insülinin etkilerinde zayıflamaya yol açarlar (Goldstein ve ark 1998). İnsülin reseptörünün negatif düzenlenmesinde görev alan iki adet PTP tanımlanmıştır: PTP1B ve LAR (Leukocyte common antigen-related) fosfataz. Kültür ortamında bu enzimlerin ifadesi, insülin reseptörünün kinaz aktivitesini ve insülin sinyalizasyonunu önler (Drake ve Posner 1998). Ayrıca, PTB1B'den yoksun (knockout) farelerde insülin duyarlılığı da artmaktadır (Elchebly ve ark 1999). Yukarıda da bahsedildiği gibi IRS1 üzerinde yer alan PTB bölgesindeki serin rezidülerinin insülin uyarımlı Akt tarafından fosforilasyonu, IRS proteinlerini PTP'lerin negatif etkilerinden de korur (Paz ve ark 1999, Zick 2001).

Bir lipid fosfataz olan PTEN, PI3K nın katalitik etkileri ile oluşan PIP3'ü defosforile ederek PIP2'ye dönüştürür (Şekil 1.18). PTEN, PIP3 miktarını bazal seviyelere düşürerek, Akt ile etkileşen miktarında ve sonuçta glukozun hücre içine alımında azalmaya yol açar ve PI3K sinyal iletim yolağını sonlandırır(Wong ve ark 2007, Pérez-García ve ark 2014).



Şekil 1.18. PI3K/Akt yolağının düzenlenmesi. PIP2'nin PIP3'e dönüşümü PI3K/Akt yolağının düzenlenmesinde önem kazanmaktadır. Bu dönüşümü inhibe eden S6K, mTORC IRS1 inaktivasyonu negatif düzenlemeyi sağlarken, PIP2 PIP3 dönüşümünü engelleyen PTEN'in NF-kB ve IKKα tarafından baskılanması ile pozitif düzenleme gerçekleşir (https://en.wikipedia.org/wiki/Akt/PKB_signaling_pathway).

Kas dokusunda insülin direnci gösteren bireylerde ve tip 2 diabetes mellitus (T2DM)'lu hastalarda insülin-uyarımlı Akt üzerindeki serin/treonin fosforilasyonu bozulmuş, Akt substratının (AS160/TBC1D4) insülinle uyarımı azalmıştır (Karlsson ve ark 2005).

İnsülin sinyal iletiminin aktivasyonu kadar önemli olan sonlandırılması durumu aşağıdaki gibi özetlenebilir;

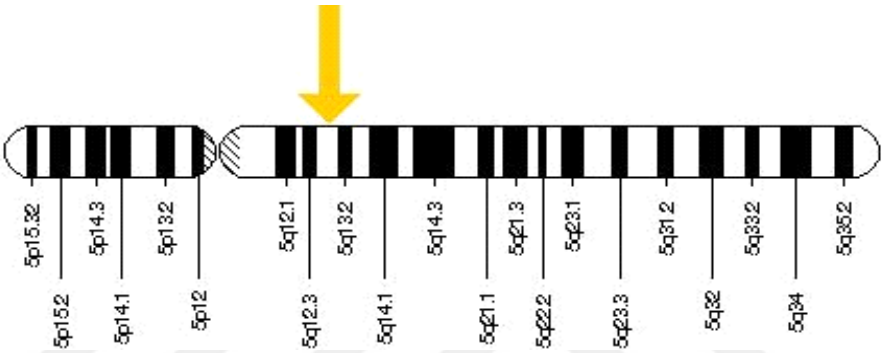
- IRS1 ve IRS2'deki yüksek düzeydeki fosforilasyon, jukstamembran bölgedeki tirozin fosforilasyonunu sekteye uğratarak bu substratların insülin reseptöründe yer alan jukstamembran bölgeye bağlanmalarını inhibe eder (Paz ve ark 1997).

- Serin/treonin fosforilasyonu, hem IRS1 hem de IRS2'nin proteozomal yıkımını gerçekleştirir (Mothe ve Van Obberghen 1996).

- YXXM, SH2 domain-bağlayan motife bitişik serin ve treonin rezidülerinin fosforilasyonu diğer sinyal iletim proteinlerinin fosfotirozine bağlanma afinitesini azaltır (Sun ve ark 1999).

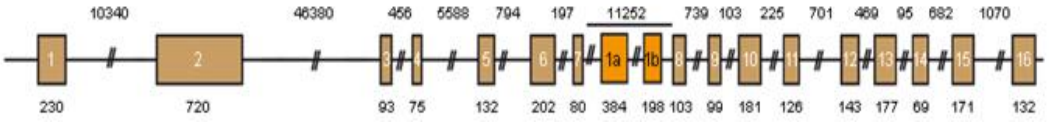
1.5. PIK3R1 Geni ve Proteini

PIK3R1 (Phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 1 (alpha)) geni, 5 nolu kromozomun q kolunun 13.1 pozisyonunda, 68.215.755 ile 68.301.820 baz çifti aralığında, yer almaktadır (Şekil 1.19). On altı ekzondan oluşan PIK3R1 geni 86102 baz çifti uzunluğundadır (Şekil 1.20).

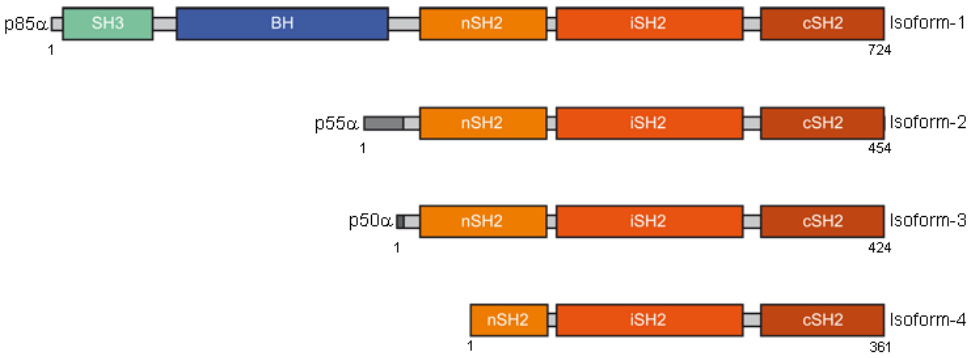


Şekil.1.19. PIK3R1 geninin 5g13.1 bölgesindeki lokalizasyonu (http://ghr.nlm.nih.gov/gene/PIK3R1).

PIK3R1 geni (GenID: 5295, GenBank No: KR711187) p85, AGM7, GRB1, IMD36 ve p85-ALPHA sembolleri ile de gösterilmektedir. PIK3R1 geni, PI3K'nın 85 kD düzenleyici alt ünitesini (p85α) kodlar. Alternatif kesip-ekleme ile 4 izoformu oluşur (Şekil 1.20 ve Şekil 1.21).

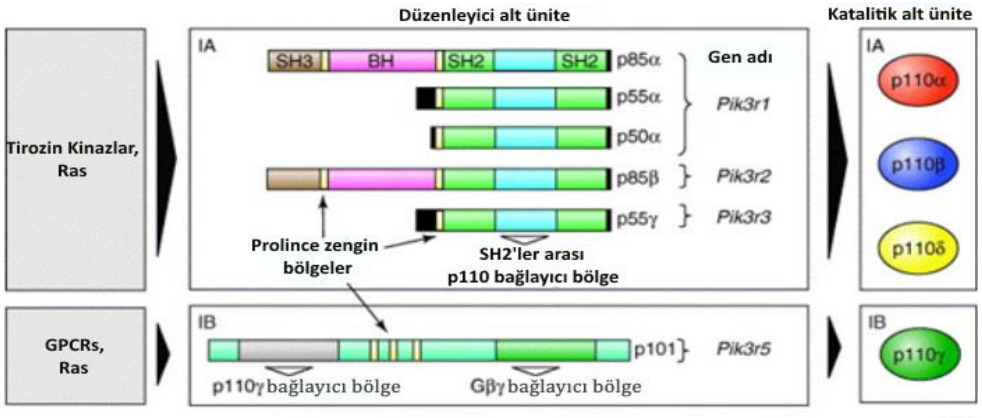


Şekil 1.20. PIK3R1 geninin genomik organizasyonu. Kutucukların içerisindeki rakamlar ekzon mumaralarını, üstteki ve alttaki rakamlar sırasıyla intron ve ekzonların baz çifti olarak uzunluğunu göstermektedir (http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/PIK3R1ID41717ch5q13.html)



Şekil 1.21. PIK3R1 geninin alternatif kesip eklenmesi sonucu oluşan dört proteinin ve bulundurdukları bölgelerin şematik gösterimi (http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/PIK3R1ID41717ch5q13.html).

Sınıf 1A üyesi olan PI3K, bir katalitik alt ünite (p110) ve ona bağlı olarak bulunan bir düzenleyici alt üniteden (p85) oluşur (Yu ve ark 1998). Katalitik alt ünitenin, p110α, p110β ve p110δ izoformları, düzenleyici alt ünitenin ise p85α, p85β, p55γ, p55α, p50α gibi izoformları bulunmaktadır. p85β ve p55γ farklı genler tarafından kodlanırken (Şekil 1.22), p55α ve p50α ise p85α geninin (PIK3R1) alternatif kesip eklenmesi ile oluşur (Şekil 1.20). PI3K'nin katalitik alt ünitesi ise PIK3CA geni tarafından kodlanmaktadır (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5290). Her bir düzenleyici alt ünitede iki adet bulunan SH2 (Src Homology 2) bölgeleri ise, reseptör ya da adaptör moleküllerde bulunan YXXM dizilerinin fosfotirozin rezidüleri ile bağlanmaya aracılık eder (Frumanve Cantley 2002).



Şekil 1.22. Sınıf 1 A tirozin kinazların düzenleyici ve katalitik alt ünitelerinin birlikte gösterimi. Düzenleyici alt ünitelerdeki benzerliklerin yanı sıra ifade edildikleri genler farklılık göstermektedir. SH2'ler arası bölge, tamamen farklı genden ifade edilen p110 katalitik alt ünite ile bağlantı noktasını oluşturur. SH2 bölgesi ise reseptör ile bağlantı için gereklidir. BH bölgesi GTPaz aktive edici protein (GAP) ile homoloji göstermektedir (Vanhaesebroeck ve ark 2005).

p85α proteini, 724 amino asidlik bir polipeptiddir. 4-77 amino asidlik bir N-terminal Src homoloji domaini (SH3), iki ya da üç adet prolinden zengin segment, GTPaz aktive edici protein (GAP) ile homoloji gösteren 124-295 amino asidlik bir bölge (şekilde BH domain olarak gösterilmiş), 332-428 aminoasidlik N terminal Src-homoloji bölgesi (N-SH2) ve 624-718 amino asidlik terminal Src homoloji domaini (C-SH2) bulundurur (Şekil 1.22) (Chen ve ark 2005).

PI3K'nın aktivitesinden iki alt ünitesi olan p85α ve p110'un oluşturduğu heterodimerik kompleks sorumludur. PI3K kompleksi, yüksek katalitik aktiviteye sahiptir, fosfotidil inositolün 3' pozisyonunu fosforilleyerek sitoplazmadan hücre zarına iletimi uyarır (Klippel ve ark 1996). p85α alt ünitesi, p110 katalitik alt ünitenin kararlığını sağlar ve aktivite düzeyini belirler (Yu ve ark 1998). p85 monomeri ise IRS'ye bağlanma konusunda p85α ve p110 kompleksi ile yarış halindedir. p85α düzenleyici alt ünitenin, p110 katalitik alt ünitenin düzenlenmesinde ikili etkiye sahip olduğu düşünülmektedir. Birincisi, p85α alt üniteile p110 arasında gerçekleşen allosterik etkileşimlere bağlı olarak p110 alt ünitenin katalitik aktivitesi zayıflar ve PI3K'nın etkinliği azalır. İkincisi, p85α alt ünitenin, p110 ile kompleks oluşturmadan, tirozinleri fosforile olmuş IRS'ye doğrudan bağlanması PI3K'nın aktivitesini azaltır. Nitekim p85α alt ünitenin ifadesinde ortaya çıkan artış ya da azalmanın da PI3K aktivitesinde artış ya da azalma ile sonuçlandığı gösterilmiştir (Ueki ve ark 2002). Dolayısıyla, p85α alt ünitenin yüksek miktarda ifadesi hem p85α monomerik formunun artmasına hem de katalitik alt ünite ile aralarında gerçekleşen allosterik etki ile, insülin sinyal sisteminin inhibe olmasına yol açmaktadır (Ueki ve ark 2000). İskelet kaslarında insülin direncini tetiklediğine dair bulgular da (Barbour ve ark 2004), p85α alt ünitenin PI3K üzerinde negatif düzenleyici etkisinin olduğunu desteklemektedir.

İnsülin dışındaki diğer büyüme faktörlerinin de farklı reseptör tirozin kinazlar aracılığı ile, PI3K'yı aktive edebildiği gösterilmiştir, ancak sadece insülinin etkisi ile ortaya çıkan PI3K aktivasyonunun metabolik homeostazın düzenlenmesinde etkin olduğu da gösterilmiştir (Dhe-Paganon ve ark 1999). Adiposit hücre kültürlerinde hem insülin hem de platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)'nün PI3K'yı aktive ettiği, insülinin glukoz transportunu uyarırken PDGF'nin böyle bir etkisinin olmadığı ortaya konulmuştur (Isakoff ve ark 1995). Yuasa ve ark (2004) iskelet kaslarında PDGF

reseptörü ifade eden transgenik fareler üreterek in vivo ve in vitro olarak PDGF'ün iskelet kası içerisine glukoz transportunu gerçekleştirmesine rağmen bu durumun kan glukoz düzeyinin hızlı şekilde düşürülmesinde etkili olmadığını göstermişlerdir. Isakoff ve ark (1995) da PI3K'yı aktive eden PDGF gibi diğer reseptörlerin; yağ hücresine glukoz alımı ve GLUT4 translokasyonu konusunda insülinin ortaya koyduğu yeterliliği gösteremediğini bildirmişlerdir.

2.MATERYAL VE METOD

2.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması

Çalışmaya Amerikan Diyabet Derneği (ADA) kriterlerine göre 427 diyabetik (206 obez ve 221 non-obez) ve 413 diyabetik olmayan birey (138 obez ve 275 nonobez) olmak üzere toplam 840 birey alındı. Çalışmaya dahil edilen bireyler, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji Bilim Dalına başvuran bireylerden seçildi. T2DM'li bireyler için ADA kriterlerine göre tanı konmuş olması, insülin kullanmaması, 30 yaşın üzerinde olması ve birinci derece yakınının bu çalışmaya alınmamış olması şartları arandı. Diyabetin diğer tipleri (tip 1 diyabet, MODY, LADA, ilaca bağlı ve diğer tipler) dışlandı. Obezite vücut kitle indekslerine (VKİ) göre belirlendi, VKİ≥30 olanlar obez, VKİ<30 olanlar ise obez olmayan gruba dahil edildi. Kontrol grubuna ise birinci derece yakınında diyabet hikayesi olmayan 30 yaş üzeri bireyler alındı.

Prediyabet olabileceği düşünülen bireylere Oral Glukoz Tolerans Testi (OGTT) uygulandı. OGTT uygulaması, 8-12 saatlik açlıktan sonra sabah saat 8:00 da yapıldı. 300 ml suda 75 gr glukoz çözülerek bir limon sıkıldı ve limonata şeklinde içirildi. Glukoz içirilmeden önce ve içirildikten 2 saat sonra alınan kan örneklerinde glukoz ve insülin değerlerine bakıldı. Bozulmuş glukoz toleransı olan ya da insülin direnci belirlenen bireyler çalışmaya alınmadı.

Bireylerin antropometrik bilgileri alındı, biyokimyasal analizlerde ise açlık kan glukoz, insülin, c-peptid, HbA1c, kolesterol, HDL, LDL, trigliserid düzeylerine bakıldı. Bireylerin insülin direncini belirlemek için HOMA-IR (Homeostasis Model Assesment of Insulin Resistance) hesaplaması yapıldı. Bunun için, açlık insülin (µIU/ml) x açlık glukoz (mmol/ml) / 22,5 formülü kullanılarak HOMA-IR değerleri hesaplandı ve 2,5 üzerinde değerlere sahip bireyler insüline dirençli kabul edildi.

DNA eldesi için her bir bireyden EDTA'lı tüplere 5-6 cc periferik kan alındı. Çalışmaya katılmadan önce bireyler bilgilendirildi ve onamları alındı.

2.2. DNA Eldesi ve Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real-time PCR) Analizi İçin Gerekli Olan Gereçler

Santrifüj (NF 100R, İstanbul, Türkiye), derin dondurucu (-20ºC) (Arçelik, İstanbul, Türkiye), buzdolabı (Arçelik, İstanbul, Türkiye), su banyosu (Nüve, İstanbul, Türkiye), pH-metre (İnolab), manyetik karıştırıcı (Elektro-mag), vorteks (Nüve, İstanbul, Türkiye), mikropipet (Eppendorf, Hamburg, Almanya), hassas terazi (Sartorius, Almanya), biyolojik emniyet kabini (Metisafe, Ankara, Türkiye), Real-time PCR cihazı (Roche, İsviçre).

2.3. DNA eldesinde, PZR ve Real-time PCR için gerekli olan kimyasal maddeler

EDTA (Merck, Darmstadt, Almanya), Tris-Hcl, NaCl (Merck, Darmstadt, Almanya), KCL (Merck, Darmstadt, Almanya), Üre (Merck, Darmstadt, Almanya), SDS, Proteinaz-K (Sigma, St Louis, Amerika), Kloroform (Merck, Darmstadt, Almanya), Etil alkol, (Merck, Darmstadt, Almanya).

2.4. DNA eldesi

2.4.1. DNA eldesi için gerekli solüsyonların hazırlanması

0.5 M EDTA (pH 8)

$EDTAH_2$.....018,6 gr

dH_2O.....80 ml

1N NaOH ile pH 8'e ayarlanarak toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı ve otoklavlandı.

4M NaCl

NaCl .....23,97 gr

dH_2O.....100ml'ye tamamlandı.

5M NaCl

NaCl .....29,22 gr

dH_2O .....100ml'ye tamamlandı.

1 M Tris HCl (pH8)

TrisHCL .....1576 gr

dH2O .....83 ml

1 N NaOH ile pH 8'e ayarlanarak toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı ve otoklavlandı.

Parçalama Çözeltisi (5X)

NaCl 4M

EDTA .....0,5 M

TrisHCl 1M

100 ml'ye tamamlanıp pH 7,5'e ayarlandı ve otoklavlandı.

Üreli Parçalama Çözeltisi

Üre .....4,2 gr

dH_2O.....1 ml

Parçalama çözeltisi .....2 ml

%20 SDS

SDS .....20 gr

dH_2O.....80 ml

SDS iyice çözününceye kadar karıştırıcıda tutuldu. Toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı.

%70 Etanol

%96 etanol..... 72 ml

dH_2O .....100ml'ye tamamlandı.

2.4.2. DNA Eldesi

* EDTA'lı tüpler oda ısısına alınarak üzerine hacmi kadar soğuk saf su eklendi.
* Tüpler nazikçe altüst edildikten sonra 20 dk 4000 devir/dk santrifüj edildi.
* Üstteki sıvı kısım atılarak yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı.
* Tüplere 3 ml üreli parçalama çözeltisi ilave edildi, tüpler altüst edildi.
* Üzerine 400 µl %20 SDS ve 100 µl 10 mg/ml proteinaz K ilave edildi.
* Tüpler 37ºC de 1 gece inkübasyona bırakıldı.
* İkinci gün inkübasyondan çıkarılan tüplere 2 ml 5M NaCl eklendi ve 10-15 dk altüst edildi.
* Üzerine 8 ml kloroform konularak 15 dk 4000 devir/dk santrifüj edildi.
* Santrifüj sonunda oluşan 3 fazlık kısımdan üstteki beyaz faz temiz bir tüpe alındı ve üzerine hacmi kadar soğuk %96'lık etilalkol eklendi.
* Alkol ilavesiyle yumak şeklini alan DNA'lar pipet yardımıyla 1.5 ml'lik ependorf tüplere alındı ve üzerlerine 1000 µl %70'lik alkol eklendi.
* Tüpler 13000 devir/dk 10 dk santrifüj edildi.

* Santrifüj sonrasında dibe yapışan DNA pelletinin üstündeki alkol dikkatlice döküldü. Alkol presipitasyon basamakları 3 kez tekrarlandı.

* DNA pelleti içeren tüpler oda sıcaklığında ağzı açık bir şekilde kurmaya bırakıldı.

* Alkolün tamamen uçtuğundan emin olunduktan sonra pelletin üzerine uygun miktarda deiyonize steril su eklendi.

* +4°C de çözünmesi için bir gün bekletilen DNA'lar -20°C de saklandı.

2. 5. Hedef Gen Bölgelerinin Belirlenmesi

PIK3R1 geninin nükleotid dizisi Gen Bankasından NCBI (National Center for Biotechnology Information) (Gen ID: 5295) temin edildi. PIK3R1 geninin literatürde özellikle hastalıkla ilişkili olduğu rapor edilen 6 tek nükleotid polimorfizmi (single nucleotide polymorphism; SNP) çalışmamızda hedef SNP'ler olarak belirlendi. Bu SNP'lere ait bilgiler Çizelge 2.1.'de görülmektedir.

Çizelge 2.1. Hedef SNP'lerin genomik özellikleri

	SNP	Lokalizasyon	Değişiklik (Nükleotid)	Değişimin özelliği
1	rs3756668	3′UTR	A→G	kodlanmayan
2	rs706713	ekzon 1	C→T	sessiz (Tyr73Tyr)
3	rs7713645	intron 1	A→C	kodlanmayan
4	rs77092243	intron 1	C→T	kodlanmayan
5	rs3730089	ekzon 6	A→G	yanlış anlamlı (Met326Ile)
6	rs1550805	intron 6	C→T	kodlanmayan

2. 6. Hedef Gen Bölgelerinin Genotiplenmesi

Hedef SNP'lerin genotipleme analizleri Gerçek-zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real-time PCR) yöntemi ile gerçekleştirildi. Real-time PCR yöntemi, floresan primer ve prob kullanılarak hedef bölgelerin amplifikasyonu ile eş zamanlı olarak SNP'lerin belirlenmesini temeline dayanan, güvenirliği yüksek bir yöntemdir. Çalışmada TIB MolBiol LightSNiP kit (Roche) kullanıldı.

2.6.1. Reaksiyon karışımının hazırlanması

Genotipleme analizleri için öncelikle reaksiyon karışımı hazırlandı (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Real-time PCR karışımının hazırlanması.

Reaktif	Miktar
dH_2O	4 µl
1X master karışımı*	10 µl
Primer – prob	1 µl

*Master karışımı: FastStart Taq DNA polimeraz, reaksiyon tamponu, $MgCl_2$ ve dNTP karışımı ve oluşmaktadır. Her bir hedef SNP için 2 adet prob kullanılmaktadır. Problardan biri yaygın allele diğeri ise nadir allele özgün tasarlanmıştır.

2.6.2. Real-time PCR analizi

Doksan altılık plate'lerin her bir kuyucuğuna hazırlanan reaksiyon karışımından (Çizelge 2.2) 15 µl koyuldu. Üzerine 4.0 µl 50 ng/µl DNA eklenip nazikçe pipetaj yapıldı. Kuyucuklara yükleme işlemi tamamlandıktan sonra plate'in üzeri folyo (Sealing Foil) ile kapatıldı ve cihaza yerleştirildi. Negatif kontrol örneğinde DNA yerine 2µl dH_20 kullanıldı. Plate, cihaza (LightCycler96, Roche) yerleştirildi ve Çizelge 2.3'deki koşullarda protokol uygulandı. Gerçek-zamanlı PCR protokolü; enzim aktivasyonu ve kalıp DNA'nın denatürasyonunun gerçekleştiği preinkübasyon, hedef bölgenin primerler yardımıyla çoğaltıldığı amplifikasyon, amplikona ait genotipin belirlenmesinin gerçekleştiği (SNP analizi) erime eğrisi ve cihazın rotorunun ve termal haznesinin soğutulması basamaklarını içermektedir.

Çizelge 2.3. Real-time PCR reaksiyon koşulları

Reaksiyon		Sıcaklık (ºC)	Süre	Döngü
Preinkübasyon		95	10 dk	1
Amplifikasyon	**Denatürasyon** **Bağlanma** **Uzama**	95 * 72	10 sn 10 sn 15 sn	40
Erime Eğrisi		95 40 75	30 sn 2 dk 1 sn	1
Soğutma		40	30 sn	1

*Her bir primer-prob için uygun sıcaklıkta

2.7. İstatistik Analizler

İstatistiki analizlerde SPSS versiyon 20 programı kullanıldı. Tüm analizler için, P değeri<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

2.7.1. Tanımlayıcı istatistik analizleri

Klinik ve biyokimyasal analizler için gerçekleştirilen tanımlayıcı istatistik analizlerinde, normal dağılan parametreler ortalama ± standart sapma, normal dağılmayanlar ortanca (en düşük değer – en yüksek değer) olarak gösterildi. Normal dağılan parametrelerin karşılaştırılmasında tek yönlü ANOVA testi, normal dağılmayan parametrelerin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanıldı, anlamlı fark çıkan parametreler için Bonferroni düzeltmesi ve post-hoc testler yapıldı.

2.7.2. İlişki analizleri

Genotiplerin hastalıkla ilişkileri lojiktik regresyon analizleri ile gerçekleştirildi. Hasta ve kontrol gruplarında SNP'lerin allel frekansları Odds oranları hesaplanarak belirlendi. İlişki analizleri dominant, additif (kodominant) ve resesif

modeller kurularak yapıldı. Modeller kurulurken allel 2 (nadir allel) dikkate alındı. Dominant modelde; allel 2 taşıyan genotipler ile (homozigot allel 2 ve heterozigot), homozigot allel 1 genotipi karşılaştırılırken, resesif modelde; homozigot allel 2 genotipi, allel 1 taşıyan genotiplerle (homozigot allel 1 ve heterozigot) karşılaştırıldı. Hasta ve kontrol gruplarının genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg (HW) dengesinde olup olmadıkları Ki-kare testi ile değerlendirildi.

2.7.3. Genotip-fenotip ilişki analizleri

Çalışmamızda fenotipik özellikler olan açlık glukoz, insülin, c-peptid, hemoglobin A1C, vücut kitle indeksi, lipid parametreleri (trigliserid, LDL, HDL, kolesterol) ve insülin direnci (HOMA-IR) ile genotipler arasındaki ilişki araştırıldı. Genotipler 11, 12 ve 22 olarak kodlandı. Genotiplerin insülin ve trigliserid üzerine etkileri log dönüşümü, kolesterol üzerine etkisiise karekök dönüşümü sonrası ANOVA testi ile analiz edildi. Açlık glukoz, c-peptid, hemoglobin A1C, LDL, HDL, HOMA-IR ve VKİ üzerine etkileri ise normallik varsayımı sağlanamadığı için Kruskal Wallis testi ile analiz edildi.

2.7.4. LD analizleri

SNP'ler arası bağlantı dengesizliğini (Linkage Disequilibrium) belirlemek için MIDAS programı kullanıldı. Bağlantının olup olmadığı ise D' ve r^2 değerleri dikkate alınarak belirlendi.

3. BULGULAR

3.1. Çalışma Gruplarının Klinik Özellikleri

Çalışmaya, S.Ü. İç Hastalıkları AD Endokrinoloji Bilim Dalında, ADA kriterlerine göre tip 2 diyabet tanısı konmuş 427 hasta birey (206 obez ve 221 non-obez) hasta birey ve kontrol grubu olarak 413 diyabetik olmayan birey (138 obez ve 275 nonobez) olmak üzere toplam 840 birey alındı. Hastaların ve kontrol grubu bireylerin antropometrik ve biyokimyasal verileri Çizelge 3.1'de özetlenmiştir.

OGTT sonuçlarına göre yapılan değerlendirmede, 2. saat açlık plazma glukoz düzeyi >200 olan bireyler diyabetik olarak düşünüldü, 140-200 aralığında açlık glukozu olan diğerleri ise bozulmuş glukoz toleransına sahip oldukları düşünülerek kontrol grubuna alınmadı.

3.2. PIK3R1 Genindeki SNP'lerin belirlenmesi

Hasta ve kontrol bireylerinde PIK3R1 geninde yer alan 6 SNP'in genotiplendirilmesi Real-time PCR yöntemi gerçekleştirildi. Çizelge 3.2-4'de bu SNP'lere ait genotiplerin hasta ve kontrol grubu bireylerde görülme sıklıkları verilmiştir.

Çizelge 3.1. Hasta ve kontrol gruplarının antropometrik ve biyokimyasal özellikleri.

	OBEZ		**NON-OBEZ**		***P***			
	DM (1)	**Kontrol (2)**	**DM (3)**	**Kontrol (4)**	***p (1-2)***	***p (1-3)***	***p (2-4)***	***p (3-4)***
Sayı (840)	206	138	221	275	NA	NA	NA	NA
Yaş (yıl)	55,6±8,8	48,9±11,3	56,5±9,3	43,9±10,4	<0,001*	0,792	<0,001*	<0,001*
Cinsiyet (K/E)	154/52	120/18	86/135	182/93	NA	NA	NA	NA
VKİ (kg/m^2)	35,14±4,23	34,57±3,92	26,74±2,74	26,08±3,01	0,445	NA	NA	0,162
İnsülin[1] (µIU/ml)	11,89 (2,04-40,79)	10,85 (4,31-39,98)	7,90 (1,00-37,30)	7,33 (2,00-39,91)	0,270	**<0,001***	**<0,001***	0,297
c-peptid[1] (ng/ml)	3.07 (0,74-9,40)	2,51 (1,49-6,30)	2,00 (0,50-16,10)	2,13 (0,70-15,70)	0,292	**<0,001***	0,013	0,067
AKG[1] (mg/dl)	140 (64-377)	94 (76-113)	134 (59-363)	92 (58-114)	**<0,001***	0,548	**0,001***	**<0,001***
A1c[1] (%)	7,1 (5,2-12,5)	5,6 (5,3-6,4)	7,1 (5,1-19,5)	5,5 (5,0-6,4)	**<0,001***	0,915	0,212	**<0,001***
TG[1] (mg/dl)	171 (59-674)	126 (52-380)	128 (41-457)	116 (40-478)	**<0,001***	**0,002***	0,029	0,055
Kol (mg/dl)	203±45	211±39	197±47	202±42	0,415	0,632	0,332	0,817
LDL[1] (mg/dl)	122 (52-276)	130 (78-239)	124 (35-271)	125 (39-294)	**0,006***	0,929	0,169	0,257
HDL (mg/dl)	43±10	47±11	44±13	47±12	**0,003***	0,786	0,991	0,055
HOMA-IR[1]	4,42 (0,79-18,00)	2,61 (0,83-9,90)	2,80 (0,42-17,00)	1,67 (0,40-12,00)	**<0,001***	**<0,001***	**<0,001***	**<0,001***

[1]: normal dağılmayan parametreler, ortanca (min-maks) şeklinde gösterildi.

*: İstatistiki olarak anlamlı farklılık saptandı.

NA: Bu veriler klinik olarak anlamsız bulunduğu için istatistiki anlamlılık değerlendirilmedi.
4 grup karşılaştırıldığı için post-hoc testlerde *p* anlamlılık sınırı 0.008 olarak alındı.
AKG; açlık kan glukoz, TG; trigliserid, Kol; kolesterol, LDL; low density lipoprotein, HDL; high density lipoprotein, HOMA-IR; homeostasis model assesment of insulin resistance.

Çizelge 3.2. PIK3R1 genindeki SNP'lerin genotiplerinin hasta ile kontrollerdeki görülme sıklıkları ve ilişki analizi sonuçları.

SNP	Genotip	Hasta	Kontrol	Dominant OR [CI%] *P*	Additif OR [CI%] *P*	Resesif OR [CI%] *P*
rs3756668	G/G	162	187	1,3 [0,94-1,88] P= 0,108	0,8 [0,52-1,10] P= 0,149	1,2 [0,73-1,96] P= 0,472
	G/A	196	160			
	A/A	69	66			
rs706713	C/C	219	254	1,5 [1,05-2,23] **P= 0,025***	1,7 [1,09- 2,40] **P= 0,016***	0,9 [0,43-1,98] P= 0,825
	C/T	176	135			
	T/T	32	24			
rs7713645	A/A	137	135	1,08 [0,77-1,53] P= 0,648	0,9 [0,59-1,45] 0,727	1 [0,70-1,53] P= 0,872
	A/C	202	192			
	C/C	74	86			
rs77092243	C/C	131	138	1 [0,70-1,45] P= 0,959	0,9 [0,62-1,34] P= 0,629	0,7 [0,46-1,09] P= 0,114
	C/T	226	190			
	T/T	70	85			
rs3730089	G/G	316	318	0,9 [0,63-1,40] P= 0,752	0,8 [0,54-1,25] P= 0,363	3,5 [1,02-11,76] **P= 0,047***
	G/A	103	80			
	A/A	8	15			
rs1550805	C/C	320	309	1 [0,72-1,55] P= 0,770	1 [0,68-1,49] P= 0,968	0,5 [0,12-1,92] P= 0,303
	C/T	102	89			
	T/T	5	11			

*İstatistiki olarak anlamlı farklılık saptandı.

Çizelge 3.3. PIK3R1 genindeki SNP'lerin genotiplerinin obez hasta ile kontrol grubundaki görülme sıklıklarıveilişki analizi sonuçları.

SNP	GENOTİP	OBEZ		Dominant OR [CI%] *P*	Additif OR [CI%] *P*	Resesif OR [CI%] *P*
		DM n	Kontrol n			
rs3756668	G/G	82	57	0,9 [0,54-1,40]	1 [0,58-1,60]	1,6 [0,80-3,35]
	G/A	91	60	P= 0,540	P= 0,876	P= 0,179
	A/A	33	21			
rs706713	C/C	113	86	1,4 [0,58-1,60]	0,7 [0,38-1,14]	1,4 [0,53-3,58]
	C/T	74	39	P= 0,244	P= 0,139	P= 0,513
	T/T	19	13			
rs7713645	A/A	74	44	1,2 [0,72-1,93]	2 [1,08-3,77]	2 [1,10-3,51]
	A/C	95	57	P= 0,527	**P= 0,028***	**P= 0,022***
	C/C	37	37			
rs77092243	C/C	75	43	1,3 [0,80-2,24]	2,5 [1,24-4,89]	2,4 [1,31-4,42]
	C/T	99	58	P= 0,257	**P= 0,01***	**P= 0,005***
	T/T	32	37			
rs3730089	G/G	153	108	0,7 [0,50-1,58]	2 [0,49-8,83]	2,2 [0,52-9,25]
	G/A	47	24	P= 0,892	P= 0,320	P= 0,288
	A/A	6	6			
rs1550805	C/C	151	108	1,4 [0,79-2,43]	0,7 [0,42-1,29]	0
	C/T	53	30	P= 0,261	P= 0,280	P= 1
	T/T	2	-			

*İstatistiki olarak anlamlı farklılık saptandı.

Çizelge 3.4. PIK3R1 genindeki SNP'lerin genotiplerinin nonobez hasta ile kontrol grubundaki görülme sıklıkları ve ilişki analizi sonuçları.

SNP	Genotip	NON-OBEZ		Dominant OR [CI%] *P*	Additif OR [CI%] *P*	Resesif OR [CI%] *P*
		DM n	Kontrol n			
rs3756668	G/G G/A A/A	80 105 36	130 100 45	1,5 [0,87-2,45] P= 0,157	0,9 [0,44-2,03] P= 0,875	0,8 [0,41-1,74] P= 0,649
rs706713	C/C C/T T/T	106 102 13	168 96 11	1,8 [1,01-3,13] **P= 0,047***	0,6 [0,16-2,09] P= 0,398	1,4 [0,38-4,90] P= 0,627
rs7713645	A/A A/C C/C	63 107 51	91 135 49	1,4 [0,85-2,31] P= 0,191	2 [1,081-3,906] **P=0,03***	1,9 [1,079-3,235] **P=0,03***
rs77092243	C/C C/T T/T	56 127 38	95 132 48	0,8[0,44-1,31] P= 0,320	0,8 [0,44-1,38] P= 0,395	1,22 [0,64-2,35] P= 0,537
rs3730089	G/G G/A A/A	163 56 2	210 56 9	0,9 [0,52-1,64] P= 0,798	0,8 [0,44-1,46] P= 0,476	0,1 [0,12-1,38] P= 0,90
rs1550805	C/C C/T T/T	169 49 3	201 59 11	1,6 [0,92- 2,74] P= 0,097	1,5 [0,87-2,73] P= 0,138	1,9 [0,38-9,64] P= 0,433

*İstatistiki olarak anlamlı farklılık saptandı.

3.2. İlişki çalışması

Gruplar hasta ve kontrol grubu olarak değerlendirildiğinde, ekzon 1'de yer alan sessiz değişim olan SNP rs706713 tip 2 diyabet ile önemli düzeyde ilişkili bulundu (OR 1,7 [95% CI: 1,09- 2,40], p=0,016 ve OR 1,5 [95% CI:1,054-2,233] p=0,025, sırasıyla additif ve dominant modelde). Obez ve non-obez gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde de non-obezlerde SNP rs706713 ile hastalık arasında güçlü ilişkinin varlığı ortaya kondu (OR 1,8 [95% CI:1,006-3,128], p=0,05, dominant modelde) (Çizelge 3.2, 3.3, 3.4). Hasta ve kontrol gruplarında, SNP rs706713 genotip dağılımının, genel olarak ve non-obezler kendi içinde değerlendirildiğinde, Hardy-Weinberg dengesinde oldukları da tespit edildi (p>0,05).

Ekzon 6'da yer alan ve proteinde aminoasit değişimine yol açan bir diğer ekzonik SNP rs3730089 de tip 2 diyabet gelişimiyle önemli düzeyde ilişkili bulundu (OR 3,5 [95% CI: 1,015-11,762], p=0,047, resesif modelde). Gruplar SNP rs3730089 bakımından genel olarak ele alındığında ve obez ile non-obez olarak değerlendirildiğinde tip 2 diyabetik bireylerin HWE'de oldukları belirlenirken kontrol gruplarının Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği tespit edildi (p<0,05).

Çalışmamızda intron 1'de yer alan SNP rs7713645 ve rs7709243 değişimlerinin tip 2 diyabet gelişimiyle ilişkileri araştırıldı ve bu intronik SNP'lerden rs7709243 obez grupta tip 2 diyabet ile ilişkili bulunurken (OR 2,5 [95% CI:1,239-4,891], p=0,01 ve OR 2,4 [95%CI:1,309-4,418], p=0,005, additif ve resesif modelde), SNP rs7713645 hem obez grupta (OR 2 [95%CI:1,081-3,773], p=0,03 ve OR 2 [95%CI: 1,101-3,514], p=0,022, sırasıyla additif ve resesif modellerde), hem de non-obezlerde (OR 2 [95%CI:1,081-3,906], p=0,03 ve OR 1,9 [95%CI:1,079-3,235], p=0,03, sırasıyla additif ve resesif modellerde) tip 2 diyabet ile ilişkili bulundu (Çizelge 3.2, 3.4). İntron 1'yer alan bu SNP'lere ait genotip dağılımları genel olarak ve gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde, SNP rs7709243 genotip dağılımının non-obez hasta grubu hariç, tüm gruplarda Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmektedir (p>0,05).

İntron 6'da yer alan bir diğer intronik SNP rs1550805 değişimi ile tip 2 diyabet arasında ilişkinin araştırıldığı analiz sonuçlarında ise herhangi bir ilişki tespit edilmedi (p>0,05). Bu SNP'e ait genotip dağılımlarının HW dengesinde olup olmadığı

araştırıldığında non-obez kontrol grubu hariç diğer tüm grupların dengede olduğu belirlendi ($p>0,05$).

Çalışmamızda PIK3R1 geninin 3'UTR bölgesinde yer alan SNP rs3756668 değişiminin genel olarak ya da obez ve non-obez gruplar kendi içinde analiz edildiğinde herhangi bir ilişki göstermediği ortaya kondu (Çizelge 3.2, 3.4). Bu SNP'e ait genotip dağılımının ise hasta ve kontrol grubu olarak genel değerlendirmede ve non-obezlerde kontrol gruplarında HW dengesinden saptığı belirlendi ($p<0.05$).

3.3. Genotip-fenotip ilişkisi

Çalışmamızda açlık kan glukoz, insülin, c-peptid, hemoglobin A1C düzeyleri ile lipid parametreleri olan trigliserid, kolesterol, LDL ve HDL düzeyleri ve insülin direnci belirteci olan HOMA-IR değeri ve vücut kitle indeksi fenotipik özellikler olarak ele alındı.

Açlık glukoz, c-peptid, hemoglobin A1C, LDL, HDL, HOMA-IR ve VKİ üzerine genotiplerin etkisinin araştırıldığı Kruskal Wallis analizi sonuçlarına göre ekzon 1'de yer alan SNP rs706713 değişiminin insülin direnci (HOMA-IR) üzerine etki gösterdiği ($p=0,018$), intronik SNP rs7709243 polimorfizminin LDL düzeyi üzerine ($p=0,028$) ve intron 6'da yer alan bir diğer intronik SNP rs1550805'in ise c-peptid ($p=0,023$) ve VKİ ($p=0,007$) düzeyleri üzerine etkili olduğu bulundu. ANOVA analizi sonuçlarına göre ise intron 1'de yer alan rs7709243 polimorfizminin kolesterol ($p=0,008$) ile ilişkili bulunduğu, insülin ve trigliserid düzeyleri ile herhangi bir ilişkiye rastlanılmadığı belirlendi

3.4. LD analizi sonuçları

Çalışmamızdaki hedef SNP'ler arasındaki bağlantı dengesizli analizi sonuçları Çizelge 3.5 te gösterildiği gibidir. Çalışmalarımızın sonucunda intron 1 de yer alan SNP rs7713645 ve 7709243 arasında güçlü bağlantı ($p<1x10^{20}$) tespit edildi (Çizelge 3.5). Diğer SNP'ler arasındaki bağlantının ise zayıf olduğu belirlendi.

Çizelge 3.5. Çalışmamızda yer alan SNP'lerin LD analizi sonuçları.

		D' →				
	SNP	rs706713	rs3730089	rs7713645	rs7709243	rs1550805
r^2 ↓	rs706713	*	0,05617	0,6621	0,6482	0,0615
	rs3730089	0,0014	*	0,3547	0,5033	1,0
	rs7713645	0,1784	0,0233	*	0,8467	0,4
	rs7709243	0,18	0,0507	**0,6723**	*	0,463
	rs1550805	0,0002	0,0207	0,0184	0,0226	*

D' değerleri diagonal çizginin üzerinde,
r^2 değerleri diagonal çizginin altında gösterilmiştir.

SNP rs3756668 non-obez gruptaki kontrol bireylerinde HWE'den sapma gösterdiği için değerlendirilmeye alınmadı.

4. TARTIŞMA

Yağ dokusu, iskelet kası ve karaciğer hücreleri gibi başlıca hedef dokularda insülinin azalmış etkisine bağlı olarak, glukozun hücre içine alımının azalması olarak tanımlanan insülin direnci (Mather ve ark 2013); obezite ve T2DM'nin karakteristik özelliğidir (Olefsky ve Kolterman 1981). İnsülin direncinde altta yatan etken olarak tek bir bozukluktan bahsedilememektedir. İnsülin direnci, obezite ile birlikte pek çok genetik bozukluğun; stres, enfeksiyon gibi çevresel faktörler ile kombine olarak bulunabileceği karmaşık bir olgudur. Bunun yanı sıra; herhangi bir sinyal ya da efektör sistemde moleküler bir defektin olmayabileceği ve bu anahtar moleküllerin düşük aralıktaki işlevlerinin normal olarak kabul edilebileceği ihtimali hep vardır. Bu yüzden, normal olarak işlev gören zayıf etkili pek çok faktörün çeşitli kombinasyonlarla bir araya gelmesi, sinyal iletiminde zayıflama ile sonuçlanabilir ve glukozun hücre içine alımında yetersizlik oluşabilir (Pessin ve Saltiel 2000).

İnsülin sinyalizasyonunun temel yolağı olan PI3K/Akt sinyal yolunda; insülin reseptörünün kinaz aktivitesinde azalma olduğu gibi, IRS1 proteininin tirozin fosforilasyonunda azalma ve dolayısıyla PI3K bağlantısında ve aktivasyonundaki azalma olduğu tip 2 diyabetli hastalardan elde edilen önemli kanıtlardır. Bununla birlikte insülin sinyal akışındaki bu bozulmaların insülin direncine yol açan primer bozukluk mu olduğu yoksa bu değişikliklerin hiperinsülinemi ve hiperglisemiye sekonder olarak mı ortaya çıktığının tam olarak bilinemediğini ifade eden bazı araştırmacılar, bu sorunun tam olarak çözülebilmesini daha geniş katılımlı popülasyonlar üzerindeki çalışmalarla, biyolojik cevapta önemli bir basamak olan glukoz alımınına sinyal yolaklarındaki bozuklukların katkısını daha kesin olarak ortaya koyan araştırmaların yapılması gerekliliğini ifade etmişlerdir (Pessin ve Saltiel 2000). Daha sonraki yıllarda yapılan araştırmalarda, insülin direncinde görülen karaciğerde glukoz üretimi ve diğer dokularda glukozun taşınması gibi metabolik olaylarda ortaya çıkan bozukluklar, insülin düzeylerindeki azalmayla değil (Knights ve ark 2014), insülin reseptörü ve aşağı yolaklarda yer alan aracı proteinlerin azalmış aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir (Perry ve Shulman 2013).

Metabolik ve büyümeyi teşvik edici olmak üzere iki yönde etki gösteren insülin, metabolik etkilerini PI3K/Akt yolu üzerinden gerçekleştirir (Kahn 1985). PDGF gibi diğer büyüme faktörlerinin de PI3K'yı aktive etmesine rağmen, glukozun

iskelet kası yağ dokusu gibi hücrelere transportunda ve kan glukozunun düşürülmesinde insülin kadar etkili olamaması (Isakoff ve ark 1995, Dhe-Paganon ve ark 1999, Yuasa ve ark 2004) ve diğer büyüme faktörlerinden farklı olarak sadece insülinin metabolizma düzenleyici etkisinin ortaya çıkmasının nedenleri arasında PI3K'nın; PDGF'ye direkt olarak muhtemelen plazma zarı üzerinde bağlanırken, PI3K'nın IRS proteinlerine bağlanmasının hücre içinde plazma zarı yakınlarında gerçekleşiyor olması gösterilmiştir (Heller-Harrison ve ark 1996). Plazma zarına gömülü reseptörlerin hareketleri, plazma zarı ve endozom kompartmanı ile sınırlı (Dhe-Paganon ve ark 1999) iken insülin reseptör substratları hücre içinde yer almakta, daha geniş hareket ve farklı alternatif proteinlere bağlanabilme imkanına sahip olabilmektedir. Bu öngörülere rağmen insülin dışındaki diğer büyüme faktörlerinin de PI3K aktivasyonunu kullanırken, neden GLUT4 translokasyonu gibi işlemleri sadece insülinin stimüle ettiği tartışmaları son on yılda gerçekleşen araştırmalarda birçok farklı şekilde ele alınmış olmasına rağmen hala tam olarak çözüme kavuşmamıştır (Kido ve ark 2001).

PI3K'nın; fosfotidil inositol fosfat (PIP) 2'nin PIP3'e dönüşümünü katalizlemesi ve oluşan PIP3'ün Akt aktivasyonunu tetiklemesi temeline dayalı olan PI3K/Akt üzerinden gerçekleşen insülin sinyalizasyonu, obez hastalarda lipid fazlalıklarının depolandığı yağ dokusu hücrelerindeki rolü nedeniyle de önem kazanmaktadır. İnsülin direnci gösteren obezlerde reseptör ve postreseptör düzeyde bozuklukların araştırıldığı pek çok çalışmadan yola çıkarak (Kolterman ve ark 1980, Ciaraldi ve ark 1981, Olefsky ve Kolterman 1981), obez hastalarda insülin reseptörünün aşağı yönündeki PI3K insülin sinyal sisteminin baskılanmış olduğunu söylemek mümkündür (Zick 2003). Ciddi insülin direnci olan hastalarda insülin reseptör sayısında azalma ve postreseptör defektler bir arada bulunmakta (Olefsky ve Kolterman 1981) fakat insülin direnci gelişmesi için pek çok obezde görülen baskın bozukluğun, T2DM'li hastalarda olduğu gibi, postreseptör defektler olduğu kabul edilmektedir (Kolterman ve ark 1980).

Enerji homestazı ile ilişkili olduğu bilinen leptin, POMC, TNF alfa, adiponektin gibi pekçok hormon ve sitokinin etkili oldukları yolaklarda da insülin sinyal iletim yolunun en önemli noktasını oluşturan PI3K işin içine karışmaktadır (Hotamisligil ve ark 1996, Bogan 1999, Chagnon 2003, Bokarewa 2005, Stutzmann

ve ark 2008). Obezitede leptin reseptörünün aşağı yönde PI3K sinyal yolununun inhibisyonu ile hem periferal dokularda hem de beyinde inflamasyonu tetiklediği bilinmektedir (Mc Curdy ve Klemm 2013).

Fosfotidilinositol 3 kinaz (PI3K), bir katalitik alt ünite (p110) ve ona bağlı olarak bulunan bir düzenleyici alt üniteden (p85α) oluşur (Yu ve ark 1998). PI3K'nın p85 alfa alt ünitesi, p85α/p110 kompleksinin kararlılığını ve aktivitesinin sürmesini sağlar (Klippel ve ark 1996, Yu ve ark 1998). Bunun yanısıra monomer p85α'nın, IRS1'e bağlanma konusunda p85α/p110 kompleksi ile yarış halinde olması veya p110 ile aralarındaki allosterik etkileşimi p85α/p110 kompleksinin aktivitesinin negatif düzenlenmesini sağlar (Ueki ve ark 2002). p85α'nın hormonal (Barbour ve ark 2004) ya da deneysel olarak (Giorgino ve ark 1997) aşırı ifade edilmesi, p85α/p110 kompleksinin aktivitesini ve buna bağlı olarak PI3K'nın IRS1'e bağlanmasını bozarak sinyal iletimini zayıflatmasına ve insülin direncine neden olur. Nitekim p85α'nın heterozigot delesyonu gerçekleştirilen farelerde, insülin duyarlılığının arttığı bildirilmiştir (Mauvais-Jarvis ve ark 2002). Homozigot kayıplarda ise hipoglisemi ve hipoinsülinemi ile birlikte hayatın erken dönemlerinde yaşamın son bulduğu gösterilmiş (Fruman ve ark 1999), insülin duyarlılığı artışına bağlı olarak gelişen hipoglisemi ise p55α ve p50α izoformlarının varlığına bağlanmıştır. Bu izoformlar glukozun hücre içine alımının artışını beraberinde getiren GLUT4 işlevlerinde artışa ve sonuçta hipoglisemiye yol açmaktadır (Terauchi ve ark 1999). p85α'nın aşırı miktarda ifade edilmesi PI3K'nın fosfotirozin bağlantılı aktivitesinibaskılarken, p50α ve p55α'nın böyle bir etkisine rastlanmamıştır (Ueki ve ark 2000). Bu yüzden insülinin etkilerinin gerçekleşmesi açısından p85α kadar onun izoformlarının ifadesi de önemlidir ve bu düzenleyici alt ünitelerin denge içinde olması sinyal iletiminin uygun şekilde çalışması için gereklidir. Bu dengede ortaya çıkabilecek herhangi bir değişiklik aşağı yönde insülin işlevlerini etkileyerek insülin duyarlılığında değişikliklere neden olabilecektir**.** Bu yüzden PIK3R1 genindeki düzenleyici alt ünite izoformlarına ait SNP'lerin potansiyel işlevlerini ortaya çıkaracak çalışmalar oldukça önemlidir (Jamshidi ve ark 2006).

Diğer taraftan; T2DM tedavisinde kullanılan TZD (Thiazolidinedione)'un insülin duyarlılığını PPAR (peroxisome proliferator–activated receptor) üzerinden artırıyor olması (Kim ve ark 2002), PIK3R1'in önemini daha da artırmaktadır.

Dokularda insülin kullanımını artıran, lipolizi inhibe eden ve nükleer bir reseptör olan PPAR; Akt ve PI3K'yı direkt ya da indirekt olarak uyararak (Miyazaki ve ark 2003) adipogenez, lipid metabolizması ve inflamasyon üzerine olan etkileri ile metabolik homeostazı sağlamaktadır (Wang ve ark 2014). Bu yüzden PIKR1 genindeki polimorfizmlerin tanımlanması T2DM tedavisinde yeni yaklaşımların geliştirilmesine katkı sağlayacağı söylenebilir.

DNA'da ortaya çıkan ve genellikle tek nükleotid polimorfizmi (single nucleotide polymorphism; SNP) şeklinde rastlanan polimorfizmlerin çoğu işlevsel olmamakla birlikte bu polimorfizmlerin bazıları, genin biyolojik işlevini değiştirerek protein yapısında değişikliğe neden olabilmekte bazıları da genlerin düzenleyici kısımlarında yer alarak gen ifadesinin değişimine yol açabilmektedir. Ayrıca genlerin intronik bölgelerinde yer alan SNP'ler de intron kesip-ekleme noktalarında kaymalara yol açabilmektedir. Bugüne kadar çok sayıda gen ve SNP, aday gen çalışmaları ve genom boyu ilişki çalışmaları ile, T2DM, obezite ve ilişkili oldukları fenotipik özellikler ile ilişkilendirilmiştir (Lyon ve Hirschhorn 2005, Glamočlija ve Čaušević 2010).

İnsülin sinyal akışında kritik role sahip olan PI3K'ın p85α düzenleyici alt ünitesini kodlayan PIK3R1 geni bu aday genlerden birisidir. Bu gende yer alan SNP'ler T2DM, obezite ve insülin direnci, VKİ, açlık ve tokluk kan glukoz düzeyleri gibi değişkenler ile ilişkili olduğu farklı çalışmalarda gösterilmiştir.

PIK3R1 geninin ekzon 1 ve ekzon 6 bölgelerinde yer alan sırasıyla SNP rs706713C>T (Tyr73Tyr) ve rs3730089 (Met326Ile) değişikliklerinin protein düzeyinde amino asit değişikliğine yol açarak protein işlevini azalttığı yönünde raporlar bulunmaktadır (Rai ve ark 2012, Jamshidi ve ark 2006). Çalışmamızda ekzon 1'de yer alan SNP rs706713, tip 2 diyabet ile önemli düzeyde ilişkili bulunmuştur (OR 1,7 [95% CI: 1,09- 2,40], p=0,016 ve OR 1,5 [95% CI:1,054-2,233] p=0,025, sırasıyla additif ve dominant modelde). Ayrıca obez ve non-obez gruplar kendi içlerinde değerlendirildiğinde de non-obezlerde SNP rs706713 ile hastalık arasında güçlü ilişkinin varlığı ortaya konmuştur (OR 1,8 [95% CI:1,006-3,128], p=0,05 dominant modelde). Hasta ve kontrol grupları, genel olarak ve non-obezler kendi içinde değerlendirildiğinde Hardy-Weinberg dengesinde (HWE) oldukları tespit edilmiştir (p>0,05). Literatürde SNP rs706713 değişiminin santral ve genel obezite yanı sıra

glukoz ve insülin değişkenleri açısından belirgin bir etkisinin olmadığını rapor eden çalışmalar yer almaktadır (Jamshidi ve ark 2006). Çalışmamızda obezite, glukoz ve insülin düzeyleri üzerine herhangi bir ilişkisini tespit etmemekle beraber bu değişimin HOMA-IR (p=0,018) ve düzeyleriyle ilişkili olduğu belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarımız toplumumuzda PIK3R1 geninde yer alan SNP rs706713C>T değişiminin tip 2 diyabetle ve onun önemli bir fenotipik özelliği olan insülin direnciyle ilişkisini ortaya koymaktadır. Ekzon 1'de bulunan bu SNP'in proteinde herhangi bir amino asid değişikliğine yol açmayan sessiz bir değişim olmasına rağmen tip 2 diyabetle ve insülin direnciyle önemli düzeyde ilişki göstermesi bu SNP'in bu gendeki bilinen ya da bilinmeyen bir SNP ile haplotip olarak taşınma ihtimalini düşündürmektedir.

rs3730089 (ekzon 6) ile yapılan çalışmalar incelendiğinde, insülin direnci ve T2DM gelişme riski ile ilişkisi açısından birbiri ile çelişkili bir çok yayının varlığı dikkat çekmektedir: Danimarkalı diyabetik hastalar üzerindeki yapılan ve Met326Ile değişikliğinin (rs3730089) glukoz metabolizması üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalarda, bu aminoasit değişikliğinin, diyabet açısından artmış bir risk oluşturmadığı bildirilmiştir (Hansen ve ark 1997, Hansen ve ark 2001). Tam tersi olarak PIK3R1 genindeki Met326Ile değişikliğinin (rs3730089) Çinlilerde T2DM riskini artırdığını bildiren yayınlar da vardır (OR 2,085 (95% CI, 1,043-4,168, P = 0,0377) (Chen ve ark 2005). Bu çelişkili sonuçları, yapılan çalışmalarda örnek sayılarının farklı olması ve çalışılan popülasyonların farklı ırklarda gerçekleştirilmesi gibi faktörlere bağlamak mümkündür.

Çalışmamızda SNP rs3730089 (Met326Ile) değişiminin hastalıkla kuvvetli ilişki gösterdiği tespit edilmiştir (OR 3,5 [95%CI:1,015-11,762] p=0,047 resesif modelde). Proteinde amino asid değişimine yol açan bu yanlış anlamlı varyasyon, proteinin GTPaz aktive edici protein (GAP) ile homoloji gösteren BH bölgesi ve N-terminal-Src homoloji bölgesi (N-SH2)'nin arasında yer almaktadır. SH2 bölgeleri tirozin rezidüleri içerir ve reseptör ya da adaptör moleküllerde bulunan YXXM dizilerinin fosfotirozin rezidüleri ile bağlanmaya aracılık eder. O yüzden bu değişim proteinin aktivitesini ya da reseptör ile adaptör moleküllere bağlanmasını etkileyebilir. Çalışmamızda, gruplar genel olarak ele alındığında ve obez ile non-obez olarak değerlendirildiğinde kontrol gruplarının Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle belirlenen ilişki değerlendirilirken bu durum

göz önüne alınmalıdır. İleriki çalışmalarda örnek büyüklüğü artırılarak dengeye ulaşılması ve sonuçların tekrar analiz edilmesine ihtiyaç vardır.

PIK3R1 geninde yer alan intronik SNP'lerin tip 2 diyabet, obezite, insülin direnci ve diğer fenotipik özelliklerle ilişkileri araştırılmış ve özellikle intron 1'de yer alan rs7713645 ve rs7709243 ile intron 6'da yer alan rs1550805 değişimlerinin ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (Jamshidi ve ark 2006). SNP rs7713645 ve rs7709243 intronik SNP'lerin tip 2 diyabet, obezite, insülin direnci ve diğer fenotipik özelliklerle ilişkileri araştırılmış ve özellikle intron 1'de yer alan rs7713645 ve rs7709243 ile intron 6'da yer alan rs1550805 değişimlerinin ilişkili olabileceği rapor edilmiştir (Jamshidi ve ark 2006). SNP rs1550805 ile yapılan çalışmalarda vücut kitle indeksi, ağırlık ve santral yağlanmanın yanı sıra, serum leptin düzeyi ile bu SNP arasında belirgin bir ilişki tespit edilmiştir (Jamshidi ve ark 2006). Bu sonuçlar intron 1 ve 6'da lokalize bu SNP'lerin obezite ile güçlü bağlantısının varlığına işaret etmektedir. SNP rs1550805 değişiminin serum leptin düzeyi ile olan güçlü ilişkisi ise, PI3K sinyal yolunun leptine verdiği cevaptaki azalmayı yansıtıyor olması mümkündür.

Aynı çalışmada intronik SNP'ler rs7713645, rs7709243 ve rs1550805 değişimlerinin haplotip analizleri yapılmış ve bu çalışmada 2-2-2 haplotipinin, 1-1-1 haplotipine göre serum leptin düzeyleri ile daha yüksek ilişki olduğu, haplotip 2-2-1 de ise, açlık ve OGGT 2.saat kan glukoz değerlerinin daha yüksek ilişki gösterdiği tespit edilmiştir (Jamshidi ve ark 2006). Haplotip analizleri göz önüne alındığında, obezite ile güçlü bağlantıya, serum leptin düzeyi ile yüksek ilişkisi yüzünden rs1550805'in neden olduğu, glukoz üzerine olan etkilerin ise rs7713645-rs7709243 ile bağlantılı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda obez bireyler kendi içinde değerlendirildiğinde; SNP rs7709243 (OR 2,5 [95% CI:1,239-4,891], p=0,01 ve OR 2,4 [95%CI:1,309-4,418], p=0,005, sırasıyla additif ve resesif modellerde) ve SNP rs7713645 (OR 2 [95%CI:1,081-3,773], p=0,03 ve OR 2 [95%CI: 1,101-3,514], p=0,022, sırasıyla additif ve resesif modellerde) tip 2 diyabet ile ilişkili bulunmuştur. Non-obezler kendi içinde değerlendirildiğinde ise; intronik 3 SNP'den sadece rs7713645 hastalıkla ilişkili (OR 2 [95%CI:1,081-3,906], p=0,03 ve OR 1,9 [95%CI:1,079-3,235], p=0,03, sırasıyla additif ve resesif modellerde) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca SNP rs7709243'ün kolesterol (p=0,008) ve LDL (p=0,028) düzeyleri üzerine etki gösterdiği

belirlenmiştir. İntronik SNP rs1550805'in ise genel olarak ve gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde hastalıkla herhangi bir ilişki göstermediği ancak c-peptid düzeyi (p=0,023) ve vücut kitle indeksi (p=0,007) üzerine etki gösterdiği görülmüştür. Bu sonuçlar literatürde de rapor edildiği gibi PIK3R1 genindeki intronik SNP'lerin obezite, vücut kitle indeksi ve lipid parametreleri üzerine önemli etkisini desteklemektedir. SNP rs7709243ve rs7713645 değişimlerinin özellikle obez gruplarda tip 2 diyabet gelişimiyle ilişkili çıkması obezite gelişimi yoluyla hastalığın ortaya çıkmasında rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca LD analiz sonuçlarına göre intron 1 de yeralan rs7709243 ve rs7713645 SNP'leri arasında güçlü LD tespit edilmiştir (D'=0,8467 r^2=0,6723 $p<1x10^{-20}$). Diğer SNP'ler arasında zayıf bağlantı bulunurken aralarında güçlü bağlantı bulunan bu iki varyantın her ikisinin de intron 1'de lokalize olması, bu SNP'lerin allel lokasyonları ile obezite ve tip 2 diyabetin fenotipik yansımaları üzerine olan etkileri arasındaki bağlantıyı açıklamaktadır.

İntronik SNP'lerin çalışmamızda, genel olarak ve gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde, genotip dağılımlarının Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmektedir. Bu durum da çalışma sonuçlarımızın güvenirliliğini artırmaktadır. Sadece SNP rs1550805 non-obez grupta kontrol bireylerde HWE'den sapma göstermektedir ki bu SNP bu bireylerde ilişkili çıkmamıştır. Ancak gruptaki birey sayısının artırılması ile HWE dengesine ulaşılması durumunda sonuçlar değişebileceğinden bu durum dikkate alınmalıdır.

2007 yılından itibaren çok sayıda popülasyonda ve büyük örnek gruplarıyla gerçekleştirilen genom boyu ilişki analizlerinde 60'dan fazla varyant tip 2 diyabetle ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Barrett ve ark 2009, Yamauchi ve ark 2010). Bu varyantların çok büyük bir kısmının intronik varyantlar olması dikkat çekicidir. Bu SNP'lerin protein yapısında değişikliğe neden olmamakla birlikte hastalık gelişimi ile ilişki göstermesi intronik enhancer'lar olabileceğini düşündürmektedir (Pang ve ark 2013, Xia ve ark 2014). Ayrıca bu varyantların fonksiyonel başka varyantlarla birlikte haplotip olarak taşındığı fikri de savunulmaktadır **(**Hossain ve ark 2014). Çalışmamızda PIK3R1 genindeki intronik varyantların tip 2 diyabetle ilişkili çıkması genom boyu ilişki çalışma sonuçlarını desteklemekte ve her iki önerinin de mümkün olabileceğini düşündürmektedir.

PIK3R1 geninin proteine çevrilmeyen UTR dizilerini kodlayan bölgelerindeki bazı tek nükleotid değişikliklerinin, özellikle 3'UTR bölgesindeki SNP rs3756668 değişiminin, insülin direnci riskini artırmasının yanı sıra VKİ ile de ilişkili olduğu (p=0,05) ve diyabetin ortaya çıkması açısından yüksek risk oluşturduğu bildirilmiştir (OR 2,27 (0,13–0,69), P=0,005) (Malodobra 2011). Ayrıca bu çalışmada aynı SNP, açlık glukoz (P=0,002) ve açlık insülin (P=0,005) değerleri üzerine de etkili bulunmuştur (Malodobra 2011). Bu çalışmada gen ifadesi düzenlenmesinde önemli bir bölge olan 3'UTR bölgesinde yer alan bu SNP'in gen ifadesi düzeyinde azalmaya yol açabileceği ve bu yolla hastalık ve onun ilişkili olduğu fenotipleri etkileyebileceği öne sürülmüştür. Ancak çalışmamızda Türk popülasyonunda obez ve non-obez bireylerde SNP rs3756668 değişiminin tip 2 diyabet ve fenotipleri arasında herhangi bir ilişki tespit edilmemiştir. Hasta ve kontrol grubu olarak değerlendirdiğimizde kontrol grubunun Hardy-Weingerg dengesinden sapma göstermesinin, yine ayrı ayrı obez ve non-obez olarak değerlendirdiğimizde de non-obez grupta kontrol bireylerin HWE'den sapma göstermesinin sonuçlarımızı etkilemiş olabileceğini düşünmekteyiz. Örnek büyüklüğünün genişletilmesi ile popülasyonumuzun dengeye ulaşması durumunda yeniden değerlendirilmesi, bu sonucun güvenirliğini artıracaktır.

PIK3R1 üzerindeki 8 adet tSNP (tagging SNP)'i (rs706713, rs7713645, rs7709243, rs251406, rs40318, rs1550805, rs831125 ve rs3730089) kapsayan ikiz kadın deneklerden oluşan geniş popülasyon üzerinde yapılan çalışmalarda PIK3R1 genindeki bu tSNP'ler ile serum leptin düzeyi, vücut yağ kütlesi ve glukoz/insülin homeostazı arasındaki ilişki araştırılmıştır(Jamshidi ve ark 2006). Araştırmaların sonucuna göre; bu tSNP'lerden özellikle rs1550805'in, serum leptin düzeyi, VKİ ve vücut ağırlığı ile belirgin olarak ilişkili olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. Çalışmamızda leptin düzeyine bakılmamış olmakla birlikte araştırılan 6 SNP'ten sadece rs1550805 vücut kitle indeksi ile ilişkili çıkmış olması literatürdeki bu çalışmayı desteklemektedir.

Bunun yanı sıra çalışmaya dahil edilen bireylerde p85 alt ünitenin heterozigot kayıplarının olma olasılığı ve buna bağlı oluşacak izomerlerin rol oynadığı PI3K ilişkili insülin sinyal ileti sisteminin farklı işleyişlerinin varlığı ihtimali göz önünde bulundurulmalıdır.

Ayrıca tanımlayıcı istatistik analiz sonuçları ele alındığında, obez diyabetiklerde non-obez diyabetiklere göre insülinin yüksek çıkması, obezitenin varlığının insülin direncini artırdığı, hiperglisemi ile mücadele için insülin yapımının artmış olduğu şeklinde yorumlanabilir. Nitekim obez olup diyabet olmayan kontrol grubunun açlık kan glukoz düzeyi non-obez kontrol grubunun açlık kan glukoz düzeyinden yüksek çıkmıştır. İnsülin direnci belirteci olan HOMA-IR açısından ele alınacak olursa, bu değer bütün gruplarda artmış olsa da obez diyabetiklerle non-obez diyabetikler arasındaki farkın belirgin olması, obezitenin insülin direncine katkıda bulunduğunu teyid etmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Ülkemizde ve dünyada giderek artan sıklıkla görülen obezite ve tip 2 diyabetin, yaşam kalitesini bozması, ciddi komplikasyonları ve bunların tedavi süreçlerinde artan ekonomik yük nedeniyle her iki hastalığın da çağın halk sağlığı sorunu haline geldiği bilinen bir gerçektir. Her iki bozuklukta da genetik faktörlerin etkili olduğu bilinmekle beraber bugüne kadar yapılan yoğun çalışmalarla elde edilen bilgiler, genetik temellerini hala tam olarak açıklayamamaktadır.

İnsülinin hedef dokularda aktivasyonunda başlıca rol oynayan PI3K/Akt sinyal yolunda ortaya çıkan bozulmalar/zayıflamalar tip 2 diyabet ve obezitenin patogenezinde yer alan insülin direnci gelişimine yol açabilmektedir. İnsülin direnci, tip 2 diyabet ve obezite üçlüsünün merkezinde yer alan PI3K proteininin işlevini etkileyebilecek gen polimorfizmlerinin etkisini ortaya koymayı amaçladığımız çalışmamızda ilk kez Türk popülasyonunda 800 bireyde PI3K proteininin alfa düzenleyici alt ünitesini kodlayan PIK3R1 geninde yer alan toplam 6 SNP incelenmiştir. İkisi ekzon, üçü intron ve biri 3'UTR bölgesinde yer alan bu SNP'ler ilişkili oldukları fenotipik özellikler göz önüne alındığınında biri dışında tip 2 diyabet gelişimi obezite ve ilgili fenotiplerle ilişkili oldukları görülmüştür.

Ekzonik SNP'ler rs706713 (Tyr73Tyr) ve rs3730089 (Met326Ile), intronik SNP'ler rs7713645, rs7709243 ve rs1550805 değişimleri, farklı düzeylerde olmakla birlikte, tip 2 diyabet, obezite, insülin direnci ve lipid parametreleri ile anlamlı ilişki gösterirken sadece 3'UTR bölgesinde lokalize SNP rs3756668'in hastalık gelişimi ve fenotipler üzerine herhangi bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak araştırma bulgularımız, PIK3R1 geninde lokalize tek nükleotid polimorfizmlerinin gen ifadesini değiştirerek insülin sinyal akışını etkileyebileceği ve böylece insülin direnci gelişimi yoluyla tip 2 diyabetin ortaya çıkışında rol oynayabileceği görüşünü desteklemektedir.

Diğer taraftan; dokularda insülin kullanımını artıran, lipolizi inhibe eden ve nükleer bir reseptör olan PPAR'nin; Akt ve PI3K'yı direkt ya da indirekt olarak uyararak adipogenez, lipid metabolizması ve inflamasyon üzerine olan etkileri ile metabolik homeostazı sağlıyor olması, PIK3R1 geninin önemini daha da artırmaktadır.

Nitekim T2DM tedavisinde kullanılan bazı farmasötikler, insülin duyarlılığını bu PPAR üzerinden artırmaktadır. Bu yüzden bu gendeki polimorfizmlerin varlığının T2DM tedavisinin seyrini de etkileyebileceğini söylemek mümkündür.

Ayrıca; PI3K'nın, hücre sağ kalımı büyümesi ve farklılaşmasını düzenleyen Akt sinyalizasyonunu aktive etmesi nedeniyle bu sinyal yolu kanser gelişiminde de oldukça yoğun araştırmaların hedefi olmuş ve PIK3R1 genindeki varyantlar kanser gelişimiyle de kuvvetle ilişkilendirilmiştir. Bu durum diyabetli hastalarda özellikle pankreas kanseri olmak üzere kanser gelişim riskinin daha yüksek olmasında PIK3R1 gen polimorfizmlerinin etkisinin de olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle PIK3R1 genindeki polimorfizmlerin obezite ve diyabet hikayesi olan pankreas kanserli hastalarda araştırılması önerilmektedir.

Yapmış olduğumuz çalışmanın; her iki hastalığın da genetik arka planlarının ortaya konulması, hastalığın moleküler mekanizmasının aydınlatılması ve buna dayanarak erken tanı için genetik risk panelleri geliştirilmesi ve tedavi yönetiminde bu bilgilerin kullanılır hale getirilmesini amaçlayan diğer çalışmalar için referans olması umulmaktadır.

6. KAYNAKLAR

Abdul-Ghani MA and DeFronzo RA,2010. Pathogenesis of insulin resistance in skeletalmuscle. Journal of Biomedicine and Biotechnology.1-19.

Adam CL, Findlay PA, Aitken RP, Milne JS, Wallace JM, 2012. In vivo changes in central and peripheral insulin sensitivity in a large animal model of obesity. Endocrinology,153(7), 3147–57.

Adiels M, Taskinen MR, Packard C, Caslake MJ, Soro-Paavonen A, Westerbacka J, Vehkavaara S, Häkkinen A, Olofsson SO, Yki-Järvinen H, Borén J,2006. Overproduction of large VLDL particles is driven by increased liver fat content in man. Diabetologia, 49(4), 755-65.

Alberti KG, Zimmet PZ,1998. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. provisional report of a WHO consultation. Diabet. Med. 15(7), 539–53.

Allison DB, Kaprio J, Korkeila M, Koskenvuo M, Neale MC, Hayakawa K,1996. The heritability of body mass index among an international sample of monozygotic twins reared apart. Int J Obes Relat Metab Disord, 20(6),501-6.

American Diabetes Association (ADA), 2014. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care, 37(1), 581-90.

American Diabetes Association (ADA), 2015. Diabetes Care, 38(1), S8–S16.

Araki E, Wilden PA, Cahill DA, Goldstein BJ, and White MF, 1991. Structure of the insulin receptor substrate IRS-l defines a unique signal transduction protein. Nature Lond, 352,73-7.

Atkinson RL, 2004. Etiologies of Obesity, In: The Management of Eating Disorders and Obesity. Ed: Goldstein DJ, 2nd edition, New Jersey, Humana Press Inc, 105-118.

Backer JM, Myers Jr MG, Shoelson SE et al.,1992. Phosphatidylinositol 3’-kinase is activated by association with IRS-1 during insulin stimulation. EMBO Journal, 11(9), 3469–79.

Backer JM, Myers MG, Sun Jr.XJ, Chin DJ, Shoelson SE, Miralpeix M, and White MF,1993. Association of IRS-l with the insulin receptor and the phosphatidylinositol 3’-kinase. Formation of binary and ternary signaling complexes in intact cells. J. Biol. Chem. 268, 8204-12.

Barbour LA, Shao J, Qiao L, Leitner W, Anderson M, Friedman JE, Draznin B,2004. Human Placental Growth Hormone Increases Expression of the P85 Regulatory Unit of Phosphatidylinositol 3-Kinase and Triggers Severe İnsulin Resistance in Skeletal Muscle. Endocrinology, 145(3), 1144-50.

Barness LA, Opitz JM and Barness EG, 2007. Obesity: Genetic, Molecular, and Environmental Aspects. American Journal of Medical Genetics Part A 143A, 3016-34.

Barrett JC, Clayton DG, Concannon P, Akolkar B, Cooper JD, Erlich HA, Julier C, Morahan G, Nerup J, Nierras C, Plagnol V, Pociot P, Schuilenburg H, Smyth DJ, Stevens H, Todd JA, Walker NM, Rich SS and The Type 1 Diabetes Genetics Consortium, 2009. Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes. Nat Genet., 41(6),703-7.

Barroso I, Luan J, Middelberg RP, Harding AH, Franks PW, Jakes RW, Clayton D, Schafer AJ, O'Rahilly S, Wareham NJ, 2003. Candidate gene association study in type 2 diabetes indicates a role for genes involved in beta-cell function as well as insulin action. PLoS Biol. 1(1),E20

Barroso I, Luan J, Sandhu MS, Franks PW, Crowley V, Schafer AJ, O'Rahilly S, Wareham NJ,2006. Meta-analysis of the Gly482Ser variant in PPARGC1A in type 2 diabetes and related phenotypes. Diabetologia, 49(3),501-5.

Bastard JP, Maachi M, Van Nhieu JT, Jardel C, Bruckert E, Grimaldi A, Robert JJ, Capeau J, Hainque B,2002 Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro. Clin Endocrinol Metab, 87(5), 2084-89.

Beale EG, 2013. İnsulin signaling and insulin resistance. J Investig Med.,61(1), 11–14.

Bogan JS, Lodish HF,1999. Two Compartments for İnsulin-stimulated exocytosis in 3T3-L1 adipocytes defined by endogenous ACRP30 and GLUT4. The Journal of Cell Biology, 146(3), 609-20.

Bokarewa M, Nagaev I, Dahlberg L, Smith U, Tarkowski A, 2005. Resistin, an adipokine with potent proinflammatory properties. The Journal of Immunology, 174, 5789–95.

Bouchard C, Tremblay A, Despres JP, et al. 1990. The response to long-term overfeeding in identical twins. N Engl J Med, 322, 1477–82.

Bouchard C,1997.Genetic determinants of regional fat distribution. Hum Reprod,12 (1),1-5.

Bratanova-Tochkova TK, Cheng H, Daniel S, et al, 2002. Triggering and augmentation mechanisms, granule pools, and biphasic insulin secretion. Diabetes.51(1),83-90.

Burks DJ, White MF, 2001. IRS proteins and beta-cell function. Diabetes,50 (1),140-5.

Burton PR, Clayton DG, Cardon LR, et al. 2007. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. Nature, 447(7145), 661–78

Cali AM, Man CD, Cobelli C, Dziura J, Seyal A, Shaw M, Allen K, Chen S, Caprio S, 2009. Primary defects in beta-cell function further exacerbated by worsening of insulin resistance mark the development of impaired glucose tolerance in obese adolescents. Diabetes Care, 32(3), 456-61.

Cantley LC, Auger KR, Carpenter C, Duckworth B, Graziani A, Kapeller R, Soltoff S, 1991. Oncogenes and signal transduction. Cell, 64 (2), 281-302.

Chagnon YC, Rankinen T,Snyder EE, Weisnagel SJ, Pe'russe L,Bouchard C 2003. The human obesity gene map: The 2002 Update, 11(3), 313-67.

Chen JM, Fe´rec C, Cooper DN, 2006. A systematic analysis of disease-associated variants in the 30 regulatory regions of human protein-coding genes II: the importance of mRNA secondary structure in assessing the functionality of 30 UTR variants. Hum Genet., 120, 301–33

Chen M, Gu J, Delclos GL, Killary AM, Fan Z, Hildebrandt MAT, Chamberlain RM, Grossman HB, Dinney CP, Wu X, 2010. Genetic variations of the PI3K–AKT–mTOR pathway and clinical outcome in muscle invasive and metastatic bladder cancer patients. Carcinogenesis, 31 (8), 1387–91.

Chen S, Yan W, Huang J, Ge D, Yao Z , 2005. Association analysis of the variant in the regulatory subunit of phosphoinositide 3-kinase (p85a) with Type 2 diabetes mellitus and hypertension in the Chinese Han population. Diabetic Medicine, 22(6), 737-43.

Ciaraldi TP, Kolterman OG, Olefsky JM,1981. Mechanism of the postreceptor defectin ınsulin action in human obesity. Decrease in glucose transport system activity. J Clin Invest. 68(4), 875-80.

Claus TH and Pilkis SJ, 1976. Regulation by insulin of gluconeogenesis in isolated rat hepatocytes. Biochimica et Biophysica Acta, 421, 246-62.

Cline GW, Petersen KF, Krssak M, Shen J, Hundal RS, Trajanoski Z, Inzucchi S, Dresner A, Rothman DL, Shulman GI,1999. Impaired glucose transport as a cause of decreased insulin-stimulated muscle glycogen synthesis in type 2 diabetes. N Engl J Med. 341(4), 240-6.

Cnop M, 2008. Fatty acids and glucolipotoxicity in the pathogenesis of Type 2 diabetes. Biochem Soc Trans, 36(Pt 3), 348-52.

Conne B, Stutz A, Vassalli FD, 2000. The 30 untranslated region of messenger RNA: a molecular ‘‘hotspot’’ for pathology? Nat Med., 6, 637–41.

Cox NJ, Hayes MG, Roe CA, Tsuchiya T, Bell GI,2004. Linkage of calpain 10 to type 2 diabetes: the biological rationale. Diabetes. 53 (1),19-25

Cross DA, Alessi DR, Cohen P, Andjelkovich M, Hemmings BA,1995. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase. Nature, 378(6559), 785-9.

Crystal structure of the activated insulin receptor tyrosine kinase in complex with peptide substrate and ATP analog. EMBO J., 16,5572–81.

Cushmans SW, and Wardzala LJ, 1980. Potential mechanism of insulin action on glucose transport in the isolated rat adipose cell. The Journal Of Biological Chemistry, 255 (10), 4758-62.

Cusi K, Maezono K, Osman A, Pendergrass M, Patti ME, Pratipanawatr T, DeFronzo RA, Kahn CR, Mandarino LJ,2000. İnsulin resistance differentially affects the PI 3-kinase and MAP kinase mediated signaling in human muscle. J Clin Invest, 105(3), 311–20.

Czech MP, and Corvera S, 1999. Signaling mechanisms that regulate glucose transport. J. Biol. Chem, 274, 1865–1868.

Damcott CM, Pollin TI, Reinhart LJ, Ott SH, Shen H, Silver KD, Mitchell BD, Shuldiner AR, 2006. Polymorphisms in the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene are associated with type 2 diabetes in the Amish: replication and evidence for a role in both insulin secretion and insulin resistance. Diabetes, 55(9), 2654-9.

DeFronzo RA, 1979.Glucose intolerance and aging. Evidence for tissue insensitivity to insulin. Diabetes, 28 (12),1095–101.

DeFronzo RA, 2009. From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Diabetes, 58(4) 773–95.

DeFronzo RA, 2010. İnsulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. Diabetologia. 53,1270-87.

DeFronzo RA, Tripathy D, 2009. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2. Diabetes Care, 32(2), 157-63.

Dhe-Paganon S, Ottinger EA, Nolte RT, Eck MJ, Shoelson SE, 1999. Crystal structure of the pleckstrin homology-phosphotyrosinebinding (PH-PTB) targeting region of insulin receptor substrate 1. Proc. Natl. Acad. Sci. ,96 (15), 8378–83.

Dimitriadis G, Parry-Billings M, Bevan S, Dunger D, Piva T,Krause U, et al., 1992. Effects of İnsulin-like growth factor 1 on the rates of glucose transport and utilization in rat skeletal muscle in vitro. Biochem J, 285,269–84.

Dimitriadisa G, Mitrou P, Lambadiari V, Maratou E, Raptis SA, 2011. İnsulin effects in muscle and adipose tissue. Diabetes research and clinical practice,52–8

Dinççağ N, 2011. Diabetes mellitus tanı ve tedavisinde güncel durum. İç Hast. Derg. 18: 181-223.

Dodson G, Steiner D, 1998. The role of assembly in insulin'sbiosynthesis. Curr Opin Struct Biol, 8,189-94.

Drake PG, Posner BI, 1998. İnsulin receptor-associated protein tyrosine phosphatase(s): role in insulin action. Mol Cell Biochem, 82(1-2),79-89.

Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, Cromlish W, Collins S, Loy AL, Normandin D, Cheng A, Himms-Hagen J, Chan CC, Ramachandran C, Gresser MJ,Tremblay ML, Kennedy BP, 1999. Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. Science, 283(5407),1544-8.

Elia M, Folmer P, Schlatmann A, Goren A, and Austin S, 1988. Carbohydrate, fat, and protein metabolism in muscle and in the whole body after mixed meal ingestion. Mefabolism, 37 (69), 542-51.

Ellis L, Clouser E, Morgan DO, Edery M, Roth RA and Rutter WJ, 1986. Replacement of insulin receptor tyrosine residues 1162 and 1163 compromises insulin-stimulated kinase activity and uptake of 2-deoxyglucose. Cell, 45(5), 721-32.

Erem C,2015. Prevalence of overweight and obesity in Turkey. IJC Metabolic & Endocrine 8, 38–41.

Fernández-Real JM, Ricart W, 2003. İnsulin resistance and chronic cardiovascular ınflammatory syndrome. Endocrine Reviews, 24(3), 278-301.

Ferrannini E, Muscelli E, Natali A, Gabriel R, Mitrakou A, Flyvbjerg A, Golay A, Hojlund K, 2007. Association of fasting glucagon and proinsulin concentrations with insulin resistance. Diabetologia, 50(11), 2342–7.

Fisher SJ and Kahn CR, 2003. İnsulin signaling is required for insulin's direct and indirect action on hepatic glucose production. The Journal of Clinical Investigation 111(4) 463-68.

Fisher SJ, Kahn CR, 2003. İnsulin signaling is required for insulin's direct and indirect action on hepatic glucose production. J Clin Invest, 111(4),463– 8.

Flegal KM, Graubard BI, Williamson DF, Gail MH,2007. Cause-specific excess deaths associated with underweight, overweight, and obesity. JAMA,298(17),2028-37.

Florez JC, Jablonski KA, Kahn SE, Franks PW, Dabelea D, Hamman RF, Knowler WC, Nathan DM, Altshuler D,2007. Type 2 diabetes–associated missense polymorphisms kcnj11 e23k and abcc8 a1369s influence progression to diabetes and response to interventions in the diabetes prevention program. Diabetes, 56(2), 531–36.

Forouhi NG, Wareham NJ, 2014. Epidemiology of diabetes. Medicine, 42 (12), 698-702.

Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JR, Elliott KS, Lango H, Rayner NW, Shields B, Harries LW, Barrett JC,Ellard S, Groves CJ, Knight B, Patch AM, Ness AR, Ebrahim S, Lawlor DA, Ring SM, Ben-Shlomo Y, Jarvelin MR, Sovio U, Bennett AJ, Melzer D, Ferrucci L,Loos RJ, Barroso I, Wareham NJ, Karpe F, Owen KR, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Palmer CN, Doney AS, Morris AD, Smith GD, Hattersley AT, McCarthy MI, 2007. A common variant in the fto gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. Science, 316(5826), 889–94.

Freeman H, Cox RD, 2006. Type 2 diabetes: a cocktail of genetic discovery. Hum Mol Genet,15 (2), 202-9.

Freidenberg GR, Klein HH, Cordera R, Olefsky JM, 1985. İnsulin receptor kinase activity in rat liver. Regulation by fasting and high carbohydrate feeding. J Biol Chem. 260 (23), 12444-53.

Fruman DA, Cantley LC,2002. Phosphoinositide 3-kinase in immunological systems. Semin Immunol, 14(1),7-18.

Fruman DA, Snapper SB, Yballe CM, Davidson L, Yu JY, Alt FW, Cantley LC, 1999. Impaired B cell development and proliferation in absence of phosphoinositide 3-kinase p85alpha. Science, 283(5400), 393-7.

Fujii N, Jessen N, Goodyear LJ,2006. AMP-activated protein kinase and the regulation of glucose transport. Am J Physiol Endocrinol Metab, 291(5),867-77.

Hubbard SR, 1997. Crystal structure of the activated insulin receptor tyrosine kinase in complex with peptide substrate and ATP analog. EMBO J. 16,5572–81.

Garaulet M, Ordova´s JM and Madrid JA, 2010. International Journal of Obesity, 34, 1667–83.

Gastaldelli A, Ferrannini E, Miyazaki Y, Matsuda M, DeFronzo RA, 2004. Beta-cell dysfunction and glucose intolerance: results from the San Antonio metabolism (SAM) study. Diabetologia, 47(1),31-9.

Gautron L, Elmquist JK,2011. Sixteen years and counting: an update on leptin in energy balance.J Clin Invest, 121(6), 2087-93.

Geller F, Reichwald K, Dempfle A, Illig T, Vollmert C, Herpertz S, Siffert W, Platzer M, Hess C, Gudermann T, Biebermann H, Wichmann HE, Schäfer H, Hinney A, Hebebrand J, 2004. Melanocortin-4 receptor gene variant ı103 is negatively associated with obesity. Am. J. Hum. Genet. 74,572–81.

Gerich JE,1998. The genetic basis of type 2 diabetes mellitus: impaired insulin secretion versus impaired insulin sensitivity. Endocr Rev. 19(4),491-503.

Giovannone B, Scaldaferri ML, Federici M. et al, 2000. İnsulin receptor substrate (IRS) transduction system: distinct and overlapping signaling potential. Diabetes Metab Res Rev, 16,434-41

Giorgino F, Pedrini MT, Matera L, Smith RJ, 1997. Specific increase in p85alpha expression in response to dexamethasone is associated with inhibition of insulin-like growth factor-I stimulated phosphatidylinositol 3-kinase activity in cultured muscle cells. J. Biol Chem, 272(11), 7455-63.

Girard J, 2006. The inhibitory effects of insulin on hepatic glucose production are both direct and indirect. Diabetes, 55(2), 65- 9.

Giraud J, Leshan R, Lee YH, White MF, 2004. Nutrient-dependent and İnsulin-stimulated phosphorylation of İnsulin receptor substrate-1 on serine 302 correlates with İncreased İnsulin signaling. J Biol Chem, 279(5), 3447-54.

Glamočlija U, Jevrić-Čaušević A, 2010. Genetic polymorphisms in diabetes: influence on therapy with oral antidiabetics. Acta Pharm, 60(4), 387-406.

Goldstein BJ, Ahmad F, Ding W, Li PM, Zhang WR, 1998. Regulation of the insulin signalling pathway by cellular protein-tyrosine phosphatases. Mol Cell Biochem. 182(1-2), 91-9.

Gottlob K, Majewski N, Kennedy S, Kandel E, Robey RB and Hay N, 2001. Inhibition of early apoptotic events by Akt/PKB is dependent on the first committed step of glycolysis and mitochondrial hexokinase. Genes Dev. 15(11), 1406 -18.

Granberry MC, Fonseca VA,1999. İnsulin resistance syndrome: options for treatment. South Med J. 92(1), 2-15.

Greene MW and Garofalo RS, 2002. Positive and negative regulatory role of insulin receptor substrate 1 and 2 (irs-1 and irs-2) serine/threonine phosphorylation. Biochemistry, 41(22),7082-92.

Grigorescu F, Flier JS, Kahn CR,1984. Defect in insulin receptor phosphorylation in erythrocytes and fibroblasts associated with severe insulin resistance. J Biol Chem, 259(24), 15003-6.

Groop L, Forsblom C, Lehtovirta M, Tuomi T, Karanko S, Nissén M, Ehrnström BO, Forsén B, Isomaa B, Snickars B, Taskinen MR, 1996. Metabolic consequences of a family history of NIDDM (the Botnia study): evidence for sex-specific parental effects. Diabetes. 45(11),1585-93.

Grunnet LG, Nilsson E, Ling C, Hansen T, Pedersen O, Groop L, Vaag A, and Poulsen P, 2009. Regulation and Function of FTO mRNA Expression in Human Skeletal Muscle and Subcutaneous Adipose Tissue. Diabetes, 58(10), 2402–8.

Gual P, Grémeaux T, Gonzalez T, Le Marchand-Brustel Y, Tanti JF,2003. MAP kinases and mTOR mediate insulin-induced phosphorylation of İnsulin Receptor Substrate-1 on serine residues 307, 612 and 632. Diabetologia, 46 (11),1532–42.

Gual P, Le Marchand-Brustel Y, Tanti JF, 2005.Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. Biochimie, 87(1), 99–109.

Hansen T, Andersen CB, Echwald SM, Urhammer SA, Clausen JO, Vestergaard H, Owens D, Hansen L and Pedersen O, 1997. Identification of a common amino acid polymorphism in the p85α regulatory subunit of phosphatidylinositol 3-kinase: effects on glucose disappearance constant, glucose effectiveness, and the insulin sensitivity index. Diabetes, 46, 494-501.

Hansen L, Zethelius B, Berglund L, Reneland R, Hansen T, Berne C, Lithell H, Hemmings BA, and Pedersen O, 2001. In vitro and in vivo studies of a naturally occurring variant of the human p85a regulatory subunit of the phosphoinositide 3-kinase. Inhibition of protein kinase b and relationships with type 2 diabetes, insulin secretion, glucose disappearance constant, and insulin sensitivity. Diabetes, 50,691-3.

Heller-Harrison RA, Morin M, Guilherme A, Czech MP, 1996. İnsulin-mediated targeting of phosphatidylinositol 3-Kinase to GLUT4-containing vesicles. J Biol Chem. 271(17), 10200-4.

Hers I, Vincent EE, and Tavar´e JM,2011. Akt signalling in health and disease. Cell Signaling Technology, 23(10), 1515–27.

Himsworth, H.P. 1936. Diabetes mellitus: its differentiation into insulinsensitive and insulin insensitive types. Lancet, 1, 117–121.

Hinney A, Vogel CI, Hebebrand J, 2010. From monogenic to polygenic obesity: recent advances. Eur Child Adolesc Psychiatry 19(3),297–310.

Hirosumi J, Tuncman G, Chang L, Görgün CZ, Uysal KT, Maeda K, Karin M, Hotamisligil GS, 2002. A central role for JNK in obesityand insulin resistance. Nature, 420(6913), 353-6.

Holloszy JO,2005. Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. Journal of Applied Physiology, 99 (1), 338-43.

Home PD, 1997. Insulin therapy. In: Alberti KGMM. International Textbook of Diabetes Mellitus Eds: Zimmet P, Defronzo RA and Keen H, 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, p. 899-928.

Hossain S, Islam S, Khatun T, Sapon A. 2014. Type 2 Diabetes Mellitus: Impact of genetics and environment. INT J CURR SCI, 12, 110-27.

Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM, 1996. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-alpha- and obesity-induced insulin resistance. Science, 271,665–8.

https://en.wikipedia.org/wiki/Akt/PKB_signaling_pathway erişim tarihi 07. 08, 2015.

http://ghr.nlm.nih.gov/gene/PIK3R1 erişim tarihi 15.11.2015.

http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/PIK3R1ID41717ch5q13.html erişim tarihi 06.09.2015.

Huang S and Czech MP, 2007. The GLUT4 glucose transporter. Cell Metabolism, 5(4), 237-52.

Hubbard SR, Wei L, Ellis L, Hendrickson WA, 1994. Crystal structure of the tyrosine kinase domain of the human insulin receptor. Nature. 372, 746 –54.

Hull RL, Westermark GT, Westermark P, Kahn SE,2004. Islet amyloid: a critical entity in the pathogenesis of type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab. 89(8),3629-43.

International Diabetes Federation. Fifth Diabetes Atlas,2011. IDF Publ., Brussels. Erişim tarihi, 26. 11. 2015. Erişim adresi, http://www.idf.org/media-events/press-releases/2011/diabetes-atlas-5th-edition.

Isakoff SJ , Taha C, Rose E, Marcusohn J, Klip A, and Skolnik EY, 1995. The inability of phosphatidylinositol 3-kinase activation to stimulate GLUT4 translocation indicates additional signaling pathways are required for insulin-stimulated glucose uptake. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92 (22), 10247-51.

Iynedjian PB, Roth RA, Fleischmann M, Gjinovci A, 2000. Activation of protein kinase B/cAkt in hepatocytes is sufficient for the induction of expression of the gene encoding glucokinase. Biochem J, 351(Pt 3), 621–7.

Jamshidi Y, Gooljar SB, Snieder H, Wang X, Ge D, Swaminathan R, Spector TD, O'Dell SD, 2007. SHP-2 and PI3-kinase genes PTPN11 and PIK3R1 may influence serum apoB and LDL cholesterol levels in normal women. Atherosclerosis, 194 (2), e26–e33.

Jamshidi Y, Snieder H, Wang X, Pavitt MJ, Spector TD, Carter ND, and O'Dell SD, 2006. Phosphatidylinositol 3-kinase p85 alpha regulatory subunit gene PIK3R1 haplotype is associated with body fat and serum leptin in a female twin population. Diabetologia. 49(11), 2659–67.

Jannetta PJ, Fletcher LH, Grondziowski PM, Casey KF and Jr Sekula RF, 2010. Type 2 diabetes mellitus: A central nervous system etiology. Surg Neurol Int, 1(31),1-16

Johnston AM, Pirola L, Van Obberghen E, 2003. Molecular mechanisms of insulin receptor substrate protein-mediated modulation of insulin signalling. FEBS Lett, 546(1) 32-6.

Jongsoon L, and Pilch PF, 1994. The insulin receptor: structure, function, and signaling. Am. J. Physiol. 266 (35), 319-34.

Kahn BB and Flier JS, 2000. Obesity and insulin resistance. J Clin Invest , 106 (4), 473-81.

Kahn CR, 1978.İnsulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: a necessary distinction. Metabolism. 12(2),1893-902.

Kahn CR. 1985. The molecular mechanism of insulin action. Annu Rev Med., 36, 429-51.

Karlsson HK, Zierath JR, Kane S, Krook A, Lienhard GE, Wallberg-Henriksson H, 2005. Insulin-stimulated phosphorylation of the Akt substrate AS160 is impaired in skeletal muscle of type 2 diabetic subjects. Diabetes, 54(6), 1692-7.

Kawamori D, Kurpad AJ, Hu J, Liew CW, Shih JL, Ford EL, Herrera PL, Polonsky KS, McGuinness OP, Kulkarni RN,2009. İnsulin signaling in α-cells modulates glucagon secretion in vivo. Cell Metab. 9(4), 350–61.

Kelly KL and Ruderman NB, 1993. İnsulin stimulated phosphatidylinositol 3-kinase. Association with a 185-kDa tyrosine phosshorylated protein (IRS-1) and localization in a low density membrane vesicle. J. Biol. Chem, 268(6), 4391-8.

Kershaw EE, Flier JS,2004. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. J Clin Endocrinol Metab, 89(6), 2548–56.

Kido Y, Nakae J, Accili D, 2001. The insulin receptor and its cellular targets. J Clin Endocrinol Metab. 86(3), 972-9.

Kim SP, Ellmerer M, Van Citters GW, Bergman RN, 2003.Primacy of hepatic insulin resistance in the development of the metabolic syndrome induced by an isocaloric moderate-fat diet in the dog. Diabetes, 52(10), 2453–60.

Kim YB, Ciaraldi TP, Kong A, Kim D, Chu N, Mohideen P, Mudaliar S, Henry RR, Kahn BB, 2002. Troglitazone but not metformin restores insulin-stimulated phosphoinositide 3-kinase activity and increases p110beta protein levels in skeletal muscle of type 2 diabetic subjects. Diabetes, 51(2),443-8.

Kim YI, Lee FN, Choi WS, Lee S, Youn JH,2006. İnsulin Regulation of Skeletal Muscle PDK4 mRNA Expression is impaired in acute insulin-resistant states. Diabetes, 55(8), 2311-7.

Klippel A, Reinhard C, Kavanaugh WM, Apell G, Escobedo MA, Williams LT, 1996. Membrane localization of phosphatidylinositol 3-kinase is sufficient to activate multiple signal-transducing kinase pathways. Mol Cell Biol. 16(8), 4117-27.

Knights AJ, Funnell AP, Pearson RC, Crossley M, Bell-Anderson KS, 2014. Adipokines and insulin action: A sensitive issue. Adipocyte. 3(2),88-96.

Koch CA, Anderson D, Moran MF, Ellis C, and Pawson T,1991. SH2 and SH3 domains: elements that control interactions of cytoplasmic signaling proteins. Science Wash. 252, 668-74.

Kohn AD, Summers SA, Birnbaum MJ, Roth RA, 1996. Expression of a constitutively active Akt Ser/Thr kinase in 3T3-L1 adipocytes stimulates glucose uptake and glucose transporter 4 translocation. J Biol Chem. 271(49),31372-8.

Kolterman OG, Insel J, Saekow M, and Olefsky JM, 1980. Mechanisms of insulin resistance in human obesity: evidence for receptor and postreceptor defects. J. Clin. Invest. 65, 1272–84.

Kristensen C, Wiberg FC, Schaffer L, Andersen AS, 1998.Expression and characterization of a 70-kDa fragment of the insulin receptor that binds insulin. J Biol Chem, 273,17780–86.

Krook A, Bjornholm M, Galuska D, Jiang XJ, Fahlman R, Myers MG Jr, Wallberg-Henriksson H, Zierath JR,2000. Characterization of signal transduction and glucose transport in skeletal muscle from type 2 diabetic patients. Diabetes, 49(2), 284–92.

Kwon EM, Salinas CA, Kolb S, Fu R, Feng Z, Stanford JL, Ostrander EA, 2011. Genetic polymorphisms in Inflammation Pathway Genes and Prostate Cancer Risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 20(5), 923–33.

Leitner JW, Kline T, Carel K et al, 1997. Hyperinsulinemia potentiates activation of p21Ras by growth factors. Endocrinology, 138, 2211-4.

Lelliott C, Vidal-Puig AJ,2004. Lipotoxicity, an imbalance between lipogenesis de novo and fatty acid oxidation. Int J Obes Relat Metab Disord, 28(4), 22-8.

Lyon HN and Hirschhorn JN, 2005. Genetics of common forms of obesity: a brief overview. Am J Clin Nutr, 82(1), 215–7.

Lyssenko V, Almgren P, Anevski D, Perfekt R, Lahti K, Nissén M, Isomaa B, Forsen B, Homström N, Saloranta C, Taskinen MR, Groop L, Tuomi T; Botnia study group, 2005. Predictors of and longitudinal changes in insulin sensitivity and secretion preceding onset of type 2 diabetes. Diabetes. 54(1),166-74.

Maier VH, Melvin DR, Lister CA, Chapman H, Gould GW, and Murphy GJ,2000. V - and t-SNARE protein expression in models of insulin resistance. normalization of glycemia by rosiglitazone treatment corrects overexpression of cellubrevin, vesicle associated membrane protein-2, and syntaxin 4 in skeletal muscle of zucker diabetic fatty rats. Diabetes, 49,618-22.

Małodobra M, 2011. The Role of Single Nucleotide Polymorphisms of Untranslated Regions (Utrs) in Insulin Resistance Pathogenesis in Patients with Type 2 Diabetes, In: Medical Complications of Type 2 Diabetes, Eds: Croniger C, ISBN: 978-953-307-363-7, InTech, DOI: 10.5772/23348.

Małodobra M, Dobosz T, 2008. Genetic basics of insulin resistance and its role in type 2 diabetes pathogenesis. Diabet Dośw i Klin, 8(3), 95–103.

Malodobra M, Pilecka A, Gworys B, Adamiec R, 2011. Single nucleotide polymorphisms within functional regions of genes implicated in insulin action and association with the insulin resistant phenotype. Mol Cell Biochem, 349 (1-2), 187-93.

Mandarino L, Printz R, Cusi K, Kinchington P, O'Doherty RM, Osawa H, et al, 1995. Regulation of hexokinase II and glycogen synthasemRNA protein, and activity in human muscle. Am J Physiol, 269, 701–8.

Mandarino LJ, Madar Z, Kolterman OG, Bell JM, Olefsky JM,1986. Adipocyte glycogen synthase and pyruvate dehydrogenase in obese and type II diabetic subjects. Am J Physiol. 251(4 Pt 1), 489-96.

Marks JS and Botelho LHP, 1986. Synergistic Inhibition of Glucagon-induced Effects on Hepatic Glucose Metabolism in the Presence of Insulin and a cAMP Antagonist. The Journal of Biological Chemistry, 261(34), 15895-99.

Marqués M, Kumar A, Cortés I, Gonzalez-García A, Hernández C, Moreno-Ortiz MC, and Carrera AC, 2008. Phosphoinositide 3-kinases p110α and p110β regulate cell cycle entry, exhibiting distinct activation kinetics in G1 phase. Mol. Cell. Biol., 28 (8), 2803-14.

Marshall MJ, Goldberg DM, Neal FE, Millar DR, 1978. Enzymes of glucose metabolism in carcinoma of the cervix and endometrium of the human uterus. Br. J.Cancer, 37(6), 990-1001.

Martin TL, Alquier T, Asakura K, Furukawa N, Preitner F, Kahn BB, 2006. Diet-induced Obesity Alters AMP Kinase activity in hypothalamus and skeletal muscle. J Biol Chem,281(28), 18933-41.

Massagué J, Czech MP, 1982. Role of disulfides in the subunit structure of the insulin receptor: reduction of class I disulfides does not impair transmembrane signaling. J. Biol. Chem. 257(12), 6729-38.

Mather KJ, Steinberg HO, Baron AD, 2013.İnsulin resistance in the vasculature. Invest JC, 123(3),1003-4.

Matsuda S, Kobayashi M and Kitagishi Y, 2013. Roles for PI3K/AKT/PTEN pathway in cell signaling of nonalcoholic fatty liver disease. ISRN Endocrinology. 1-7.

Matthews DR, Hosker JP, and Rudenski AS, 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia, 28(7), 412–19.

Mauvais-Jarvis F, Ueki K, Fruman DA, Hirshman MF, Sakamoto K, Goodyear LJ et al, 2002. Reduced expression of the murine p85a subunit of phosphoinositide 3-kinase improves insulin signaling and ameliorates diabetes. J Clin Invest, 109, 141-149.

Mayer BJ and Baltimore D, 1993. Signalling through SH2 and SH3 domains. Trends CelZ Biol, 3, 8-13.

McArdle MA, Finucane OM, Connaughton RM, McMorrow AM, Roche HM ,2013. Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. Front Endocrinol, 4, 52.

McClain DA, Maegawa H, Lee J, Dull TJ, Ulrich A, Olefsky JM, 1987. A mutant insulin receptor with defective tyrosine kinase displays no biologic activity and does not undergo endocytosis. J Biol Chem, 262(30),14663-71.

McCurdy CE, Klemm DJ,2013. Adipose tissue insulin sensitivity and macrophage recruitment. Adipocyte, 2(3),135-42.

Meigs JB, Cupples LA, Wilson PW, 2000. Parental transmission of type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. Diabetes. 49(12),2201-7.

Meng F, Yamagiwa Y, Taffetani S, Han J, and Patel T, 2005. IL-6 activates serum and glucocorticoid kinase via p38α mitogenactivatedprotein kinase pathway. Am J Physiol Cell Physiol. 289(4), 971–81.

Mitrakou A, Kelley D, Mokan M, Veneman T, Pangburn T, Reilly J, Gerich J, 1992. Role of reduced suppression of glucose production and diminished early insulin release in impaired glucose tolerance. N Engl J Med. 326(1),22-9.

Mittelman SD and Bergman RN, 2000. Inhibition of lipolysis causes suppression of endogenous glucose production independent of changes in insulin. Am J Physiol Endocrinol Metab, 279, 630–37.

Miyazaki Y, He H, Mandarino LJ, and DeFronzo RA, 2003. Rosiglitazone improves downstream insulin receptor signaling in type 2 diabetic patients. Diabetes, 52, 1943–50.

Moon HS, Dalamaga M, Kim SY, Polyzos SA, Hamnvik OP, Magkos F, Paruthi J, Mantzoros CS, 2013. Leptin's role in lipodystrophic and nonlipodystrophicinsulin-resistant and diabetic ındividuals. Endocrine Reviews, 34(3), 377–412.

Mora A, Komander D, Van Aalten DM, Alessi DR, 2004. PDK1, the master regulator of AGC kinase signal transduction. Semin Cell Dev. Biol. 15,161-70.

Morgan DO, Ho L, Korn LJ, Roth RA 1986. İnsulin action is blocked by a monoclonal antibody that inhibits the insulin receptor kinase. Proc Natl Acad Sci U S A. 83(2),328-32.

Mothe I, Van Obberghen E, 1996. Phosphorylation of insulin receptor substrate-1 on multiple serine residues, 612, 632, 662, and 731, modulates insulin action. J Biol Chem, 271(19),11222-7.

Munzberg H, Myers Jr MG,2005. Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance. Nat Neurosci,8,566-70.

Muoio DM, Dohn GL, Fiedorek FT.Jr, Tapscott EB and Coleman RA,1997. Leptiit directly alters lipid partitioning in skeletal muscle. Diabetes, 46,1360-3.

Must A, Spadano J, Coakley EH, et al, 1999. The disease burden associated with overweight and obesity. JAMA, 282, 1523–9.

Myers Jr MG, Wang LM, Sun XJ et al., 1994. Role of IRS-1-GRB-2 complexes in insulin signaling. Molecular and Cellular Biology, 14(6), 3577–87.

Myers Jr MG, Backer JM, Sun XJ, Shoelson S, Hu P, Schlessinger J, Yoakim M, Schaffhausen B, and White MF, 1992. IRS-l activates phosphatidylinositol3'-kinase by associating with src homology 2 domains of p85. Proc. Natl. Acad. Sci, 10350-4.

Myers Jr MG, Grammer TC, Brooks J, Glasheen EM, Wang L-M, Sun XJ, BlenisJ, Pierce JH, and White MF,1995. The pleckstrin homology domain in insulin receptor substrate-1 sensitizes to insulin signaling. J. Biol. Chem. 270(20), 11715–8.

Nelsoe RL, Hamid YH, Pociot F, Paulsen S, Andersen KM, Borch-Johnsen K, Drivsholm T, Hansen T, Pedersen O, Mandrup-Poulsen T, 2006. Association of a microsatellite in FASL to type 2 diabetes and of the FAS-670G>A genotype in insulin resistance. Genes Immun, 7,316–21.

Newman B, Selby JV, King MC, Slemenda C, Fabsitz R, Friedman GD,1987. Concordance for type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in male twins. Diabetologia, 30(10),763-8.

Newsholme EA, Dimitriadis G,2001. Integration of biocehmical and physiologic effects of insulin on glukoz metaboliszm. Exp. Clin. Endocrinol Diabetes,109(2), 122-34.

Niswender KD, Morrison CD, Clegg DJ, Olson R, Baskin DG, Myers MG Jr, Seeley RJ, Schwartz MW,2003. İnsulin activation of phosphatidylinositol 3-kinase in the hypothalamic arcuate nucleus: a key mediator of insulin-induced anorexia. Diabetes, 52(2), 227-31.

Okada T, Kawano Y, Sakakibara T, Hazeki O, Ui M,1994. Essential role of phosphatidylinositol 3-kinase in insulin-induced glucose transport and antilipolysis in rat adipocytes. Studies with a selective inhibitor wortmannin. J Biol Chem, 269(5), 3568-73.

Okamoto M, Hayashi T, Kono S, Inoue G, Kubota M,Kuzuya H, and Imura H, 1993. Specific activity of phosphatidylinositol 3-kinase is increased by insulin stimulation. Biochem. J., 290, 327-33.

Olefsky J, Farquhar JW, and Reaven G, 1973. Relationship between fasting plasma insulin level and resistance to insulin-mediated glucose uptake in normal and diabetic subjects. Diabetes. 22, 507–13.

Olefsky JM, Arvey WT, Henry RR, Rillon DB, Matthaei S, Freidenberg GR, 1988. Cellular mechanisms of insulin resistance in non-insulin-dependent (TYPE II) diabetes. The American Journal of Medicine, 85 (5A), 86-105.

Olefsky JM, Kolterman OG, 1981. Mechanisms of insulin resistance in obesity and noninsulin-dependent (Type II) diabetes. The American Journal of Medicine,79,151-4.

Olson AL, 2012. Regulation of GLUT4 and insulin-dependent glucose flux. International Scholarly Research Network. Molecular Biology, 1-12.

O'Meara NM, Sturis J, Van Cauter E, Polonsky KS, 1993. Lack of control by glucose of ultradian insulin secretory oscillations in impaired glucose tolerance and in non-insulin-dependent diabetes mellitus. J ClinInvest, 92(1),262-71.

Pang DX, Smith AJP, and Humphries SE, 2013. Functional analysis of TCF7L2 genetic variants associated with type 2 diabetes. Nutr Metab Cardiovasc Dis., 23(6), 550–6.

Park S, Hong SM, Ahn IS,2009. Long-term intracerebroventricular infusion of insulin, but not glucose, modulates body weight and hepatic insulin sensitivity by modifying the hypothalamic insulin signaling pathway in type 2 diabetic rats. Neuroendocrinology, 89(4),387-99.

Paz K, Hemi R, LeRoith D, Karasik A, Elhanany E, Kanety H, Zick Y, 1997. A molecular basis for insulin resistance. Elevated serine/threonine phosphorylation of IRS-1 and IRS-2 inhibits their binding to the juxtamembrane region of the insulin receptor and impairs their ability to undergo insulin-induced tyrosine phosphorylation. J Biol Chem. 272(47),29911-8.

Paz K, Liu YF, Shorer H, Hemi R, LeRoith D, Quan M, Kanety H, Seger R, Zick Y,1999. Phosphorylation of İnsulin receptor substrate-1 (IRS-1) by protein kinase b positively regulates IRS-1 function. J Biol Chem, 274(40), 28816-22.

Pérez-García V, Redondo-Muñoz J, Kumar A, Carrera AC , 2014.Cell Activation-Induced Phosphoinositide 3-Kinase Alpha/Beta Dimerization Regulates PTEN Activity. Mol Cell Biol, 34 (18), 3359 –73.

Perley MJ, Kipnis DM, 1967. Plasma insulin responsesto oral and intravenous glucose: studies in normal and diabetic subjects. J ClinInvest, 46(12),1954-62.

Perry RJ and Shulman GI, 2013. Treating fatty liver and insulin resistance. Aging, 5(11), 791–2.

Pessin JE and Saltiel AR, 2000. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. J Clin Invest, 106(2), 165–69.

Petersen KF, Dufour S, Morino K, Yoo PS, Cline GW, Shulman GI, 2012. Reversal of muscle insulin resistance by weight reduction in young, lean, insulin-resistant offspring of parents with type 2 diabetes. Proc Natl Acad Sci, 109(21), 8236-40.

Petersen KF, Shulman GI, 2002. Pathogenesis of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. Am.J. Cardiol, 90 (5A), 11G-18G.

Plengvidhya N, Boonyasrisawat W, Jungtrakoon P, Sujjitjoon J, Yenchitsomanus P-T, 2008. Molecular Genetics of Diabetes Mellitus. Siriraj Med J, 60(5), 273-8.

Pocai A, Lam TK, Gutierrez-Juarez R, Obici S, Schwartz GJ, Bryan J, Aguilar-Bryan L, Rossetti L,2005. Hypothalamic K(ATP) channels control hepatic glucose production. Nature,434(7036), 1026-31.

Postic C, Leturque A, Rencurel F, et al.,1993. The effect of hyperinsulinemia and hyperglycemia on GLUT4 and hexokinase II mRNA and protein in rat skeletal muscle and adipose tissue. Diabetes, 42(6), 922–9.

Printz RL, Koch S, Potter L, et al., 1993. Hexokinase II mRNA and gene structure: regulation by insulin and evolution. J Biol Chem. 268(7), 5209 –19.

Rai E, Sharma S, Kaul S, Jain K, Matharoo K, Bhanwer AS, Bamezai RN, 2012. The interactive effect of SIRT1 promoter region polymorphism on type 2 diabetes susceptibility in the North Indian Population. PLoS One. 7(11), e48621.

Racette SB, Deusinger SS, Deusinger RH, 2003. Obesity: Overview of Prevalence, Etiology, and Treatment. PhysTher,83,276 –88.

Randle PJ, 1964. The interrelationships of hormones, fatty acid and glucose in the provision of energy. Postgrad. Med J ,40,457-63.

Randle PJ, Newsholme EA and Garland PB, 1964. Regulation of glucose uptake by muscle. 8 effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate, and of alloxandiabetes and starvation, on the uptake and metabolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscles. Biochem. J,93(3), 652-65.

Reaven GM, 1988. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes, 37, 1595–607.

Rebrin K, Steil GM, Mittelman SD, Bergman RN, 1996. Causal linkage between insulin suppression of lipolysis and suppression of liver glucose output in dogs. J Clin Invest, 98, 741–9.

Reilly JJ, Armstrong J, Dorosty AR, Emmett PM, Ness A, Rogers I, Steer C, Sherriff A, 2005. Early life risk factors for obesity in childhood: cohort study. BMJ, 330 (7504), 1357-59.

Rhee SG and Choi KD, 1992. Regulation of inositol phospholipidspecific phospholipase C isozymes. J. Biol. Chem. 267, 12393- 6.

Rojek A, Niedziela M,2010. İnsulin receptor and its relationship with different forms of insulin resistance. Advances In Cell Biology, 2(2) , 59–90.

Roma LP, Pascal SM, Duprez J, Jonas JC, 2012. Mitochondrial oxidative stress contributes differently to rat pancreatic islet cell apoptosis and insulin secretory defects after prolonged culture in a low non-stimulating glucose concentration. Diabetologia, 55(8),2226-37.

Rothman DL, Magnusson I, Cline G, Gerard D, Kahn CR, Shulman RG, Shulman GI, 1995. Decreased muscle glucose transport/phosphorylation is an early defect in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus. Proc Natl Acad Sci, 92(4), 983-7.

Rui L, Aguirre V, Kim JK, Shulman GI, Lee A, Corbould A, Dunaif A, White MF,2001. İnsulin/IGF-1 and TNF-α stimulate phosphorylation of IRS-1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways. J Clin Invest, 107 (2), 181-9.

Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, Sherry S, Mullikin JC, Mortimore BJ, Willey DL, Hunt SE, Cole CG, Coggill PC,Rice CM, Ning Z, Rogers J, Bentley DR, Kwok PY, Mardis ER, Yeh RT, Schultz B, Cook L, Davenport R, Dante M, Fulton L, Hillier L, Waterston RH, McPherson JD, Gilman B, Schaffner S, Van Etten WJ, Reich D, Higgins J, Daly MJ, Blumenstiel B, Baldwin J, Stange-Thomann N, Zody MC, Linton L, Lander ES, Altshuler D; International SNP Map Working Group, 2001.A map of humangenome sequence variation containing 1.42 million single nucleotidepolymorphisms. Nature, 409(6822),928 –33.

Sanger F, and Thompson EOP, 1953. The amino-acid sequence in the glycyl chain of insulin. 1. The investigation of lower peptides from partial hydrolysates. Biochem. J. 53, 353–66.

Sanghera DK, Blackett PR, 2012. Type 2 diabetes genetics: beyond GWAS. J Diabetes Metab, 233(198), 6948.

Sano H, Kane S, Sano E, Mîinea CP, Asara JM, Lane WS, Garner CW, Lienhard GE,2003. İnsulin-stimulated phosphorylation of a Rab GTPase-activating protein regulates GLUT4 translocation. J Biol Chem. 278(17), 14599-602.

Satman I, Yilmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S, et al, 2002. Population based study of diabetes and risk characteristics in Turkey: results of the Turkish diabetes epidemiology study (TURDEP). Diabetes Care, 25(9), 1551-6.

Satman İ ve TURDEP-II Çalışma Grubu. Türkiye Diyabet Prevalans Çalışmaları: TURDEP-I ve TURDEP-II 47. ULUSAL DİYABET KONGRESİ, s35, 11-15 Mayıs 2011, Rixos Sungate Hotel, Antalya.

Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, Karsidag K, Genc S, Telci A, Canbaz B, Turker F, Yilmaz T, Cakir B, Tuomilehto J; TURDEP-II Study Group,2013. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. Eur J Epidemiol, 28(2), 169-80.

Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, et al. 2007. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. Science, 316,1331-6.

Scheen AJ, 2003. Pathophysiology of type 2 diabetes. Acta Clin Belg, 58(6),335-41.

Scheepers A, Joost HG, and Schürmann A,2004. The glucose transporter families SGLT and GLUT: molecular basis of normal and aberrant function. American Society for Parenteral and Enteral Nutrition, 28 (5), 364- 71.

Schwartz GJ, 2009.Your brain on fat: dietary-induced obesity impairs central nutrient sensing. Am J Physiol Endocrinol Metab. 296(5),967-8.

Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ, Baskin DG,2000. Central nervous system control of food intake. Nature. 404(6778),661-71.

Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, et al. 2007.A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. Science, 316(5829), 1341-5.

Seino S, Seino M, Nishi S, Bell GI.1989. Structure of the human insulin receptor gene and of its promoter. PNAS, 86,114-8.

Semerci CN,2004. Obezite ve genetik. Gülhane Tıp Dergisi 46 (4), 353-9.

Sethi JK, Vidal-Puig AJ, 2007 Thematic review series: adipocyte biology. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. J Lipid Res, 48(6),1253-62.

Shoelson SE, Chatterjee S, Chaudhuri M, and White MF, 1992. YMXM motifs of IRS-l define substrate specificity of the insulin receptor kinase. Proc. Natl. Acad. Sci., 2027-31.

Shulman GI,2000. Cellular mechanisms of insulin resistance. J. Clin. Invest, 106(2) 171-6

Silander K, Mohlke KL, Scott LJ, Peck EC, Hollstein P, Skol AD, Jackson AU, Deloukas P, Hunt S, Stavrides G, Chines PS, Erdos MR, Narisu N, Conneely KN, Li C, Fingerlin TE, Dhanjal SK, Valle TT, Bergman RN, Tuomilehto J, Watanabe RM, Boehnke M, Collins FS, 2004. Genetic variation near the hepatocyte nuclear factor-4 alpha gene predicts susceptibility to type 2 diabetes. Diabetes,53(4),1141-9.

Sindelar DK, Chu CA, Rohlie M, Neal DW, Swift LL, Cherrington AD, 1997. The role of fatty acids in mediating the effects of peripheral insulin on hepatic glucose production in the conscious dog. Diabetes , 46,187–96.

Sladek R, Rocheleau G, Rung J, et al. 2007. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. Nature, 445(7130),881-5.

Smith U, 2002. Impaired ('diabetic') insulin signaling and action occur in fat cells long before glucose intolerance. is insulin resistance initiated in the adipose tissue? Int J Obes Relat Metab Disord, 26 (7), 897-904.

Songyang Z, Shoelson SE, Chaudhuri M, Gish G, Pawson T, Haser WG, King F, Roberts T, Ratnofsky S, Lechleider RJ, et al, 1993. SH2 Domains Recognize Specific Phosphopeptide Sequences. Cell,72(5),767-78.

Spiegel A, Carter-SC, Taylor SI, et al. 2011.Mechanism of action of hormones that act at the cell surface. In. Williams Textbook of Endocrinology. Eds: Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, et al, 12th ed.Philadelphia, Saunders, p62-83.

Steinthorsdottir V, Thorleifsson G, Reynisdottir I, et al. 2007. A variant in CDKAL1 influences insulin response and risk of type 2 diabetes. Nat Genet, 39,770-5.

Stumvoll M, Goldstein BJ, Van Haeften TW, 2005. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. The Lancet, 365(9467),1333-46.

Stunkard AJ, Harris JR, Pedersen NL, McClearn GE, 1990, The body-mass index of twins who have been reared apart. N Engl J Med. 322 (21),1483-87.

Stutzmann F, Tan K, Vatin V, Dina C, Jouret B, Tichet J, Balkau B, Potoczna N, Horber F, O'Rahilly S, Farooqi IS, Froguel P and Meyre D, 2008. Prevalence of melanocortin-4 receptor deficiency in europeans and their age-dependent penetrance in multigenerational pedigrees. Diabetes,57, 2511-18.

Stutzmann F, Vatin V, Cauchi S, Morandi A, Jouret B, Landt O, Tounian P, Marchal CL, Buzzetti R, Pinelli L, Balkau B, Horber F, Bougne`res P, Froguel P and Meyre D, 2007. Non-synonymous polymorphisms in melanocortin-4 receptor protect against obesity: the two facets of a Janus obesity gene. Hum Mol Genet. 16(15), 1837–44.

Sun XJ, Goldberg JL, Qiao LY, Mitchell JJ,1999. İnsulin-induced insulin receptor substrate-1 degradation is mediated by the proteasome degradation pathway. Diabetes, 48(7),1359-64.

Sun XJ, Rothenberg P, Kahn CR, Backer JM, Araki E, Wilden PA, Cahill DA, Goldstein BJ, and White MF, 1991. The structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein. Nature, 352(6330), 73–7.

Sun XJ, Crimmins DL, Myers MG Jr, Miralpeix M, White MF,1993. Pleiotropic insulin signals are engaged by multisite phosphorylation of IRS-1. Mol. Cell. Biol. 13(12), 7418–28.

Suzuki K and Kono T, 1980. Evidence that insulin causes translocation of glucose transport activity to the plasma membrane from an intracellular storage site. Biochemistry, 77(5), 2542-45.

Tavare JM, Siddle K. 1993. Mutational analysis of insulin receptor function:consensus and controversy. Biochim Biophys Acta. 1178,21–39.

Taylor R, 2013. Type 2 Diabetes; Etiology and reversibility. FRCP. Diabetes Care, 36(4), 1047-55

Terauchi Y, Tsuji Y, Satoh S, Minoura H, Murakami K, Okuno A, Inukai K, Asano T, Kaburagi Y, Ueki K, Nakajima H, Hanafusa T, Matsuzawa Y, Sekihara H, Yin Y, Barrett JC, Oda H, Ishikawa T, Akanuma Y, Komuro I, Suzuki M, Yamamura K, Kodama T, Suzuki H, Yamamura K, Kodama T, Suzuki H, Koyasu S, Aizawa S, Tobe K, Fukui Y, Yazaki Y, Kadowaki T, 1999. Increased insulin sensitivity and hypoglycaemia in mice lacking the p85 alpha subunit of phosphoinositide 3-kinase. Nat Genet. 21(2), 230-5.

Thiebaud D, Jacot E, DeFronzo RA, Maeder E, Jequier E,and Felber JP, 1982. The effect of graded doses of insulin on total glucose uptake, glucose oxidation, and glucose storage in man. Diabetes, 31(11), 957–63.

Thong FSL, Dugani CB, and Klip A, 2005. Turning signals on and Off: GLUT4 traffic in the insulin-signaling highway. Physiology, 20, 271-84.

Tomas E, Tsao TS, Saha AK, Murrey HE, Zhang Cc Cc, Itani SI, Lodish HF, Ruderman NB, 2002. Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: Acetyl–CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. PNAS,99(25),16309-13.

Trayhurn P, Bing C and Wood IS, 2006. Adipose Tissue and Adipokines-Energy Regulation from the Human Perspective. J. Nutr. 136(7), 1935–9.

Ueki K, Algenstaedt P, Mauvais-Jarvis F and Kahn CR, 2000. Positive and negative regulation of phosphoinositide 3-kinase-dependent signaling pathways by three different gene products of the p85a regulatory subunit. Mol Cell Biol, 20(21), 8035-46.

Ueki K, Yballe CM,. Brachmann SM, Vicent D, Watt JM, Kahn CR, and Cantley LC, 2002. Increased insulin sensitivity in mice lacking p85 beta subunit of phosphoinositide 3-kinase. PNAS, 99(1), 419–24.

Ullrich A, Bell JR, Chen EY, et al, 1985.Human insulin receptor and its relationship to the tyrosine kinase family of oncogenes. Nature, 313, 756–61.

Unger RH, Aguilar-Parada E, Muller WA, and Eisentraut AM,1970. Studies of pancreatic alpha cell function in normal and diabetic subjects. J. Clin. Invest,49(4), 837-48.

Vanhaesebroeck B, Ali K, Bilancio A, Geering B, Foukas LC,2005. Signalling by PI3K isoforms: insights from gene-targeted mice. Trends Biochem Sci, 30(4),194-204.

Vogt C, Yki-Jarvinen H, Iozzo P, Pipek R, Pendergrass M, Koval J, Ardehali H, Printz R, Granner D, Defronzo R, Mandarino L, 1998.Effects of insulin on subcellular localization of hexokinase II in human skeletal muscle in vivo.J Clin Endocrinol Metab, 83(1), 230-4.

Wåhlén K, Sjölin E and Hoffstedt, 2008. The common rs9939609 gene variant of the fat massand obesity-associated gene FTO is related to fat cell lipolysis. Journal of Lipid Research, 49, 607-11.

Wallberg-Henriksson H, Zierath JR, 2001. GLUT4: a key player regulating glucose homeostasis? Insights from transgenic and knockout mice (review). Mol Membr Biol. 18(3),205-11.

Wang L, Waltenberger B, Pferschy-Wenzig EM, Blunder M, Liu X, Malainer C, Blazevic T, Schwaiger S, Rollinger JM, Heiss EH, Schuster D, Kopp B, Bauer R, Stuppner H, Dirsch VM, Atanasov AG, 2014. Natural product agonists of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ): a review. Biochem Pharmacol, 92(1), 73-89.

Wang LE 2012. Roles of genetic variants in the PI3K and RAS/RAF pathways in susceptibility to endometrial cancer and clinical outcomes. J Cancer Res Clin Oncol 138(3), 377–385.

Warram JH, Martin BC, Krolewski AS, Soeldner JS, Kahn CR, 1990. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents. Ann Intern Med. 113(12),909-15.

Weber G, 1977. Enzymology of cancer cells (second of two parts). N. Engl. J. Med. 296 (10), 541–51.

Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr,2003.Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. J Clin Invest, 112(12), 1796-808.

Werner ED, Lee J, Hansen L, Yuan M, Shoelson SE,2004. İnsulin resistance due to phosphorylation of insulin receptor. Substrate-1 at serine 302. J Biol Chem, 279 (34), 35298-305

White MF, 1998. The IRS signalling system: a network of docking proteins that mediate insulin and interleukin signalling. Mol Cell Biochem, 182, 3–11.

White MF, 1997. The insulin signaling system and the IRS proteins. Diabetologia, 40, 2-17.

White MF, and Kahn CR, 1994. The insulin signaling system. J.Biol. Chem. 269(1), 1-4.

White MF, Livingston JN, Backer JM, Lauris V, Dull TJ, Ullrich A, Kahn CR ,1988. Mutation of the insulin receptor at tyrosine 960 inhibits signal transmission but does not affect tyrosine kinase activity. Cell, 54(5), 641–649.

White MF, Shoelson SE, Keutmann H, and Kahn CR, (1988). A cascade of tyrosine autophosphorylation in the beta subunit activates the phosphotransferase of the insulin receptor. J. Biol. Chem. 263(6), 2969–80.

Wijsman CA, Rozing MP, Streefland TC, le Cessie S, Mooijaart SP, Slagboom PE, Westendorp RG, Pijl H, van Heemst D; Leiden Longevity Study group, 2011. Familial longevity is marked by enhanced insulin sensitivity. Aging Cell, 10(1), 114–121.

Wilcox G, 2005. İnsulin and insulin resistance. Clin Biochem Re., 26,19-25.

Withers DJ, White M, 2000. Perspective: the insulin signaling system a common link in the pathogenesis of type 2 diabetes. Endocrinology,141, 1917-21.

Wolfe RR, and Volpi E, 2001. İnsulin and protein metabolism. In Handbook of physiology: the endocrine pancreas and regulation of metabolism. In: Comprehensive Physiology, Eds: David M. Pollock, The American Physiological Society,21, 735-757.

Wong JT, Kim PT, Peacock JW, Yau TY, Mui AL, Chung SW, Sossi V, Doudet D, Green D, Ruth TJ, Parsons R, Verchere CB, Ong CJ,2007. Pten (phosphatase and tensin homologue gene) haploinsufficiency promotes insulin hypersensitivity. Diabetologia, 50(2), 395–403.

World Health Organization (WHO), 2000. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva, Switzerland,1-268.

World Healt Organization (WHO), 2015. Obezity and overweight. Fact sheet N°311,Erişim tarihi 30 11 2015. Erişim adresi, http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/

Wullschleger S, Loewith R, Hall MN, 2006. Tor signaling in growth and metabolism. Cell, 124(3), 471-84.

www.pharmacorama.com/en/Sections/Insulin_1.php Erişim tarihi: 13.08.2015.

www.trinity.edu/lespey/biol3449/lectures/lect10/Fig.11.15.jpg Erişim tarihi 17.08.2015.

www.ijbs.com/v06p0716.htm Erişim tarihi 19.10.2015.

www.nature.com/nrm/journal/v12/n1/fig_tab/nrm3025_F3.html Erişim tarihi 13.12.2015.

www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5290 Erişim tarihi 18. 12.2015.

Xia Z, Yang T, Wang Z, Dong J, Liang C, 2014. GRK5 Intronic (CA)n polymorphisms associated with type 2 diabetes in Chinese Hainan Island. PLoS ONE, 9(3), e90597.

Yalow RS, and Berson SA, 1960. Plasma insulin concentrations in nondiabetic and early diabetic subjects. Diabetes, 4,254–60.

Yamauchi T, Hara K, Maeda S, et al. 2010. A genome-wide association study in the Japanese population identifies susceptibility loci for type 2 diabetes at UBE2E2 and C2CD4A-C2CD4B. Nat Genet, 42(10),864-8.

Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, Kotani K, Quadro L, Kahn BB, 2005. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. Nature. 436(7049), 356-62.

Yu J, Zhang Y, McIlroy J, Rordorf-Nikolic T, Orr GA, Backer JM, 1998. Regulation of the p85/p110 Phosphatidylinositol 3-Kinase: Stabilization and Inhibition of the p110a Catalytic Subunit by the p85 Regulatory Subunit. Mol Cell Biol, 18(3), 1379-87.

Yuasa T, Kakuhata R, Kishi K, Obata T, Shinohara Y, Bando Y, Izumi K, Kajiura F, Matsumoto M, Ebina Y, 2004. Platelet-derived growth factor stimulates glucose transport in skeletal muscles of transgenic mice specifically expressing platelet-derived growth factor receptor in the muscle, but it does not affect blood glucose levels. Diabetes, 53(11), 776-86.

Zeggini E, Scott LJ, Saxena R, Voight BF, 2008. Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes. Nat Genet, 40(5), 638-45.

Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, et al. 2007. Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. Science, 316(5829), 1336-41.

Zhuo F, Gilbert ER and Dongmin L, 2013. Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic beta-cell dysfunction in diabetes. Curr Diabetes Rev, 9(1), 25–53.

Zhuo X, Zhang P, Barker L, Albright A,Thompson TJ and Gregg E, 2014. The Lifetime Cost of Diabetes and Its Implications for Diabetes Prevention. Diabetes Care, 37 (9), 2557-64.

Zick Y,2001. Insulin resistance: a phosphorylation-based uncoupling of insulin signaling. Trends Cell Biol, 11(11),437-41.

Zick Y,2003. Role of Ser/Thr kinases in the uncoupling of insulin signaling. International Journal of Obesity, 27, 56–60.

Zierath JR, He L, Gumà A, Odegoard WE, Klip A, Wallberg-Henriksson H. 1996. İnsulin action on glucose transport and plasma membrane GLUT4 content in skeletal muscle from patients with NIDDM. Diabetologia, 39(10), 1180-9.

7. EK

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Sayısı: 2013/05 Toplantı Tarihi : 24.04.2013

Karar Sayısı 2013/136 S.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd.Doç.Dr. Hilal ARIKOĞLU'nun, "Obezite ve Tip 2 Diyabet Hastalıklarının Patogenezinde Yer Alan İnsülin Direncinin Gelişiminde PIK3R1 (Fosfotidilinositol 3 Kinaz p85 Alfa Düzenleyici Alt Ünite 1) Gen Polimorfizmlerinin Rolü" başlıklı araştırmasının değerlendirilme talebi ile ilgili 15.04.2013 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü.

Yapılan inceleme ve görüşmelerden sonra; Yrd.Doç.Dr. Hilal ARIKOĞLU'nun, "Obezite ve Tip 2 Diyabet Hastalıklarının Patogenezinde Yer Alan İnsülin Direncinin Gelişiminde PIK3R1 (Fosfotidilinositol 3 Kinaz p85 Alfa Düzenleyici Alt Ünite 1) Gen Polimorfizmlerinin Rolü" adlı araştırmanın kabulüne, BAP desteği alındıktan sonra protokolün dosyaya ilave edilmek üzere Etik Kurul sekretaryasına teslim edilmesine oy birliği ile karar verildi.

ASLI GİBİDİR
24/04/2013

Mahmut KESİK
Sekreterya

8. ÖZGEÇMİŞ

1965 yılında Doğanhisar'da doğdu.

İlköğretimini 1975-1976 yıllarında Konya Devrim İlkokulu'nda, Ortaöğrenimini ise 1976-1979 yıllarında Konya Karma Ortaokulu'nda, Lise eğitimini ise 1979-1982 yıllarında Konya Gazi Lisesi'nde tamamladı.

1982 yılında girdiği Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni 1988 yılında bitirdi. Aynı yıl zorunlu hizmetini gerçekleştirmek üzere Konya Türkiye Elektirik Kurumu'nda Kurum Hekimi olarak göreve başladı.

1996-1997 öğrenim döneminde Selçuk Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda başladığı doktora eğitimine 1999 yılında çeşitli nedenlerle son verdi.

2008 yılında tayininin gerçekleştiği İzmir Gediz EDAŞ'ta kurum hekimi olarak görev yapmakta iken getirilen öğrenim affından yararlanarak 2011 yılında doktora eğitimine tekrar başladı.

Halen İzmir Kültür ve Turizm İl Müd. bünyesinde Kurum Hekimi olarak çalışmaktadır.