

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI  
BİLİM DALI

**OBEZ İNSÜLİN DİRENCİ OLAN HASTALARDA IGF-1 GEN  
POLİMORFİZMİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ  
UZM. DR.GÜZİN FİDAN YAYLALI**

**YAN DAL TEZ DANIŞMANI  
DOÇ. DR. FULYA AKIN**

**DENİZLİ-2009**

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ENDOKRİNOLOJİ VE METABOLİZMA HASTALIKLARI  
BİLİM DALI

**OBEZ İNSÜLİN DİRENCİ OLAN HASTALARDA IGF-1 GEN  
POLİMORFİZMİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ  
UZM. DR.GÜZİN FİDAN YAYLALI**

**YAN DAL TEZ DANIŞMANI  
DOÇ. DR. FULYA AKIN**

**DENİZLİ-2009**

Doç.Dr. H.Fulya AKIN danışmanlığında Dr. Güzin FİDAN YAYLALI tarafından yapılan “Obez İnsülin Direnci Olan Hastalarda IGF-1 Gen Polimorfizmi” başlıklı çalışma jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalında YANDAL UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN Prof.Dr.Vedia GEDİK

ÜYE Doç.Dr.H.Fulya AKIN

ÜYE Prof.Dr. Ertuğrul TAŞAN

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

...../...../.....

T.C.  
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANI

Prof.Dr.Zafer AYBEK

Dekan

## TEŐEKKÜR

Araştırma görevlisi olarak Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Dalı'nda sürdürmekte olduğum görevimi tamamlamak üzereyim. Bizlere bu uzmanlık eğitimi imkânını sağlayan Pamukkale Üniversitesi Rektörü Sayın Prof. Dr. Nejdet Ardıç'a ve Tıp Fakóltesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Zafer Aybek'e saygılarımı arz ederim.

Bu araştırmanın hazırlanması sırasında ve ihtisasım boyunca her aşamada desteklerini grdğum hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr Fulya Akın'a, hocam Sayın Prof. Dr. Ali Keskin'e, teőekkür ve saygılarımı sunarım. Ayrıca tezimin hazırlanma aşamasında desteklerini grdğum Sayın Doç Dr. Sebahat Turgut'a, Raziye Kurşunluoğlu'na, Hemşire Mine Yanık ve Hemşire şenay Ceviz' e ihtisasım boyunca beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma teőekkür ederim. Tüm bu süreçte bana her zaman destek olan eşim Yalın Tolga Yaylalı'ya, aileme ve olası zamanlarımızdan çaldığım oğlum Eren ' e teőekkür ederim.

Tezimin değerlendirmesinde emeği geçecek hocalarıma saygılar sunarım.

## İÇİNDEKİLER

|  | Sayfa No: |
|--|-----------|
| GİRİŞ  | 1         |
| GENEL BİLGİLER   | 2         |
| İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRLERİ<br>(INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR, IGF)                                     | 2         |
| Tarihçesi  | 2         |
| IGF nedir?   | 2         |
| IGF-1 sentezi  | 3         |
| IGF genleri ve yapısı  | 3         |
| IGF gen ekspresyonunun regülasyonu   | 4         |
| IGF reseptörleri   | 4         |
| İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler<br>(insulin-like growth factor binding protein, IGFBP) | 6         |
| Dolaşımdaki IGF-1'in regülasyonu   | 6         |
| Büyüme hormonu   | 7         |
| Beslenme durumu  | 8         |
| Diğer hormonlar  | 8         |
| Doku IGF-1'nin düzenlenmesi  | 8         |
| IGF-1'in metabolik etkileri  | 9         |
| IGF-1 'in hayvan modellerinde saptanan metabolik etkileri  | 9         |
| IGF-1 'in insanlarda karbonhidrat metabolizması üzerine etkileri   | 10        |
| IGF-1'in lipid metabolizması üzerin etkileri   | 10        |
| IGF-1'in protein metabolizması üzerine etkileri  | 11        |

|  |    |
|--|----|
| IGF-1 (CA) <sub>19</sub> gen polimorfizmi  | 11 |
| <b>İNSÜLİN VE İNSÜLİN DİRENCİ</b>  |    |
| İnsülinin etkileri   | 13 |
| İnsülin sinyalizasyonu   | 13 |
| İnsülin direnci nedir?   | 15 |
| İnsülin direncinin mekanizmaları   | 15 |
| Prereseptör mekanizmalar   | 15 |
| Glukoz metabolizması için hız sınırlayıcı basamak  | 16 |
| Hücrel mekanizmalar  | 16 |
| İnsülinin reseptörüne bağlanması ve ligand-<br>reseptör proseslerindeki anormalliklerin glukoz homeostazi-<br>sindeki rolü | 16 |
| İnsülin sinyal transdüksiyonundaki anormallik-<br>lerin glukoz homeostazisindeki rolü                                      | 17 |
| Efektör sistem defektlerinin glukoz<br>homeostazisindeki rolü  | 18 |
| Obezitede insülin salgılanması   | 18 |
| Obezitede büyüme hormonu salgılanması  | 20 |
| IGF1 ve insülin rezistansı   | 20 |
| <b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>   | 22 |
| Örneklem seçimi  | 22 |
| Antropometrik incelemeler  | 22 |
| Biyokimyasal incelemeler   | 22 |
| Hormonal incelemeler   | 23 |
| DNA İzolasyonu   | 23 |
| IGF-I (CA) <sub>19</sub> polimorfik bölgenin analizi   | 24 |
| İstatiksel analiz  | 25 |
| <b>BULGULAR</b>  | 28 |

|                   |    |
|-------------------|----|
| TARTIŞMA          | 37 |
| SONUÇLAR          | 49 |
| ÖZET              | 50 |
| YABANCI DİL ÖZETİ | 52 |
| KAYNAKLAR         | 54 |

## ŞEKİLLER ÇİZELGESİ

|   | Sayfa No |
|---|----------|
| <b>Şekil -1:</b> Hasta grubunda farklı genotiplerde vücut ağırlığı      | 29       |
| <b>Şekil- 2:</b> Hasta grubunda farklı genotiplerde BMI                 | 29       |
| <b>Şekil -3:</b> Hasta grubunda farklı genotiplerde bel çevresi         | 29       |
| <b>Şekil -4:</b> Hasta ve kontrol olgularında grup3' ün IGF-1 düzeyleri | 31       |
| <b>Şekil -5:</b> Hasta olguların farklı yaş gruplarında IGF-1 düzeyleri | 32       |
| <b>Şekil -6:</b> Grup B' de farklı genotip gruplarının IGF-1 düzeyleri  | 33       |
| <b>Şekil -7:</b> Grup C'de farklı genotip gruplarının bel çevreleri     | 33       |
| <b>Şekil -8:</b> Grup C'de farklı genotip gruplarının IGF-1 düzeyleri   | 34       |



## TABLolar ÇİZELGESİ

|  | Sayfa No |
|--|----------|
| <b>Tablo-1:</b> Vücut kitle indeksi sınıflaması                                  | 22       |
| <b>Tablo- 2:</b> Hastaların ve kontrollerin antropometrik ölçümleri              | 26       |
| <b>Tablo -3:</b> Hastaların ve kontrollerin biyokimyasal ölçümleri               | 27       |
| <b>Tablo -4:</b> Hastaların ve kontrollerin hormonal değerlendirmeleri           | 27       |
| <b>Tablo 5:</b> Hastaların ve kontrollerin genotip özelliklerine göre ayrımları  | 28       |
| <b>Tablo 6:</b> Hasta grup 3 ve kontrol grup 3 olguların antropometrik ölçümleri | 30       |
| <b>Tablo 7:</b> Hasta grup 3 ve kontrol grup 3 olguların biyokimyasal ölçümleri  | 31       |

## KISALTMALAR:

**IGF:** İnsülin benzeri büyüme faktörleri

**GH:** Büyüme hormonu

**PDGF:** *Platelet derived growth factor*

**IRS:** İnsülin reseptör substrat

**MAP kinase:** *Mitogen Activated Protein Kinase*

**IGFBP:** *Insulin-like growth factor binding protein*

**PTH:** Paratiroid hormon

**FSH:** Folikül stimüle edici hormon

**IR:** İnsülin rezistansı

**rhIGF-1:** Rekombinan IGF-1

**PI3K:** Fosfatidilinositol-3 kinaz

**PKC:** Protein kinaz C

**ISPK:** Serin-treonin protein kinaz

**GLUT:** Glukoz transporter

**DM:** Diyabetes mellitus

**PTP:** Protein tirozin fosfotaz

**SYA:** Serbest yağ asitleri

**BMI:** *Body mass indeks*

**AKŞ:** Açlık kan şekeri

**TKŞ:** Tokluk kan şekeri

**T.kol:** Total kolesterol

**TG :** Trigliserid

**LDL:** Düşük dansiteli lipoprotein

**HDL:** Yüksek dansiteli lipoprotein

**ALT :** Alanin aminotransferaz

**AST :** Aspartat aminotransferaz

**ÜA:** Ürik asit

**HOMA-IR:** Homeostasis model assessment

**OGTT:** Oral glukoz toerans testi

**BGT:** Bozulmuş glukoz toleransı

**ISI:** İnsülin sensitivite indeksi

**DI:** *Disposition indeks*

**Mi:** Myokard enfarktüsü

**LVH:** Sol ventrikül hipertrofisi

**LID fare:** Karaciğer spesifik IGF-1 eksik fare

## GİRİŞ

İnsülin benzeri büyüme faktörü oldukça korunmuş 70 aminoasit uzunluğunda bir polipeptid olup hücre büyümesi farklılaşması ve matabolizmasında etkilidir (1,2). İnsülin ile yapısal ve fonksiyonel benzerlikleri ve rekombinant insülin benzeri büyüme faktörü-1'in insülin benzeri hipoglisemik etkileri bu peptidin glukoz hemeostazında oynadığı önemli rolü göstermektedir (3). Ayrıca insüline bağımlı glukoz hemeostazı insülin reseptör sinyal yolu üstünde benzer yollar izleyen insülin benzeri büyüme faktörlerinden etkilenebilmektedir (4). İnsülin benzeri büyüme faktörü / insülin sinyal yollarındaki herhangi bir bozukluk tip 2 diabetes mellitus ve metabolik sendrom için risk faktörü olarak bilinen fetal büyüme ve doğum ağırlığını etkileyebilir (5). Bununla birlikte hayvan deneylerinde insülin benzeri büyüme faktörü -1 reseptörünün ablasyonu glukoz sonrası birinci faz insülin salınımının kaybolmasında, ikinci faz insülin salınımının ciddi kaybına yol açmaktadır (6,7). Bu bulgular, insülin benzeri büyüme faktörü -1 veya insülin benzeri büyüme faktörü -2 düzeyindeki bir hasarın glukozla bağılı insülin salınımında değişiklik dolayısı ile glukoz intoleransı ile sonlanabileceğini düşündürmektedir.

İnsülin benzeri büyüme faktörü -1 veya insülin benzeri büyüme faktörü -2 gen polimorfizmlerinin metabolik sendromun özellikleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (8-11). İnsülin benzeri büyüme faktörü -1 gen polimorfizmi tip 2 diabetes mellitus, kardiovasküler hastalık ve düşük doğum ağırlığı ile ilişkilidir (8,12). Ancak bu konuda çelişkili veriler mevcuttur.

Tüm bu bilgilerin ışığında, obez insülin direnci olan hastalarımızda İnsülin benzeri büyüme faktörü -1 polimorfizm sıklığını belirlemeyi ve bunun vücut yağ dağılımı ve dolayısıyla sebep olabileceği hastalıklarla ilişkisini ortaya koymayı amaçladık.

## GENEL BİLGİLER

### İNSÜLİN BENZERİ BÜYÜME FAKTÖRLERİ (INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR, IGF)

#### Tarihçesi

İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF)'ler kısmen büyüme hormonu (GH) bağımlı ve GH 'nun anabolik ve mitojenik etkilerinden birçoğuna aracılık eden bir peptid grubunun üyesidir. 1957 yılında GH 'nın in vivo şartlarda kartilaj hücrelerine sülfat bağlanmasını aktive ettiği, ancak in vitro bunu gösteremediği tespit edilmiş ve in vitro şartlarda GH' nın etkisi altında olan ve sülfat bağlanmayı aktive eden " sülfatlanmayan faktör " adı verilen bir faktörün olduğu bildirilmiştir (13). Sonraki yıllarda anti-insülin antikoru eklemekle bu etkinin kaybolduğu gösterilmiş ve aktivitenin etkilenmeyen bölümüne non-suppressible insulin like activity-NSILA denmiş, 1972 yılında ise somatomedin olarak tanımlanmıştır (14). Daha sonraları NSILA 'nın insülin ile aynı etkiyi gösterdiği, yapısal olarak aynı madde olduğu ortaya konulmuş. İnsan serumundan iki protein purifiye edilerek aminoasid dizilimleri ortaya konmuştur. Literatürde yenilenmeye gidilerek insülin-like growth factor -1 ve -2 isimleri verilmiştir (15).

#### IGF nedir?

IGF genellikle lokal olarak etki gösteren ve spesifik hücrelerde büyümeyi uyaran, primer aminoasid dizilimleri birbirine ve insan proinsüline benzeyen küçük peptidlerdir. Yapısal ve fonksiyonel olarak growth faktörler ailesi içerisinde yer alır. IGF-1, GH'nın büyümeyi hızlandırmada majör mediatörü olarak görev alan ve 7647 dalton ağırlığında küçük bir peptidtir. Postnatal yaşam boyunca dolaşımda anlamlı seviyelerde bulunur ve insüline benzer dozlarda glukoregulator ve mitojenik özellik gösterir. IGF-2 yapısal olarak

IGF-1 'e benzer fakat başka bir gen tarafından kodlanmıştır. IGF-2 'nin fetal büyüme üzerinde önemli etkilerinin olduğu ve doğumdan sonra da birçok dokuda büyümeyi ve diferansiyasyonu arttırdığı düşünülmektedir.

Proinsülin gibi IGF-1 ve 2 üç disülfid bağı içeren tek bir polipeptid zinciri içerir. IGF-1 ve 2 sırasıyla 70 ve 62 aminoasit dizisi içerir ve birbirleri ile % 62 oranında benzerlik gösterir. IGF-1 ile proinsülin arasında 26, IGF-2 ile proinsülin arasında ise 25 aminoasit dizisi benzerdir. Üç disülfid bağı da her üç peptid de aynı pozisyonadadır. IGF zincirleri A, B, C bölgeleri içerir. C bölgesi IGF-1 de 12, IGF-2 'de 8 ve proinsülin de ise 35 aminoasid içerir ve IGF'ler ile proinsülin arasında bu bölgede benzerlik bulunmaz. IGF'lerin proinsülinde bulunmayan, karboksi terminal uzantısından oluşmuş bir "D bölgesi" bulunmaktadır. Bu bölge, IGF-1' de 8, IGF-2 de 6 aminoasid içerir. Matur IGF-1 70 aminoasid içerir ve IGF-2 ise 67 aminoasitten ibaret hafif asidik bir peptiddir. Proinsülinin daha uzun bir c peptididi vardır. İnsülinle yaklaşık % 50 yapısal benzerliğe sahiptir. Bu yapısal benzerlikten dolayı IGF'ler insülin reseptörlerine, insülin de IGF reseptörlerine bağlanabilmektedir (16,17).

### **IGF-1 sentezi**

IGF-1 GH 'nın kontrolü altında karaciğerde sentez edilir ve kana salınır. Karaciğer dolaşıma katılan IGF-1 konsantrasyonunda önemli bir role sahiptir (18). IGF-1 kemik, akciğer, böbrek, iskelet kası, kalp, dalak, gastrointestinal alan, ovaryum, testis gibi periferel dokularda da otokrin/parakrin sentez edilebilmektedir. IGF-1'in bu sentezi GH ve bu dokuların etrafındaki hücre tiplerince lokal olarak sentez edilen faktörlerce kontrol edilir (19).

### **IGF genleri ve yapısı**

IGF-1, IGF-2 ve insülin genleri aynı ailenin parçalarıdır (20). IGF genleri embriyo, fetus, çocukluk ve yetişkinde farklıdır (20,21). IGF-1 ve IGF-2 'nin her ikisini de tek bir gen kodlar. IGF-1 gen kompleks bir gendir. İnsanlarda IGF-1 geni 12. kromozomun kısa kolunda lokalizedir. En az altı tane ekson içerir. Olgun peptid 3 ve 4. eksonlarda kodlanır. IGF-1 mRNA

'nın birkaç form kopyası çıkarılmıştır. IGF-2 geni 11. kromozomun kısa kolunda lokalizedir. Dokuz ekson içerir ( 22,23).

### **IGF gen ekspresyonunun regulasyonu**

IGF-1 gen ekspresyonunun esas düzenleyicisi GH'dur. GH enjeksiyonundan sonra IGF-1 mRNA'da dokular arasında farklılıklar olmakla birlikte 20 katlık bir artış olmaktadır. IGF-1 gen ekspresyonunu etkileyen bir diğer faktör olan estrojen; uterusu IGF-1 mRNA'sını stimüle ederken karaciğerde inhibe etmektedir (24,25).

IGF-2 ekspresyonunun regulasyonunu etkileyen faktörler tam olarak bilinmemektedir. İnsanlarda ve sıçanlarda IGF-2 ekspresyonu fetal hayatta yüksektir (26). Fetal doku, hamilelik sonrası düşen, yüksek IGF-2 mRNA seviyelerine sahiptir (27). Wilms tümörü, nöroblastoma, feokromositoma, hepatoblastoma ve kolon kanseri gibi mezanjimal ve embriyonik tümörlerde IGF-2 mRNA'sı fazla olarak bulunmaktadır. Bu tümörler tarafından fazla olarak yapılan büyük IGF-2 hipoglisemiye neden olabilmektedir. Doğumdan sonraki ilk on yıldaki büyüme ve gelişme büyük ölçüde GH ve tiroid hormonlarının kontrolü altındadır (16,17,28).

### **IGF reseptörleri**

IGF-1 reseptörleri IGF-1 ' in fizyolojik etkilerinin primer düzenleyicisidir ve pek çok doku ve organda bulunurlar. Simetrik büyüme dengesinin sağlanmasında IGF-1 'in etkisi muhtemelen buna bağlıdır (29). Reseptör sayısı GH, tiroksin tarafından düzenlenir ve her hücre için 20 ila 35000 arasında sıkıca kontrol edilir. Platelet derived growth factor (PDGF) ve fibroblast growth factor gibi diğer growth faktörler de ayrıca IGF-1 reseptörlerinin sayısını artırır. IGF'lere ait tip 1 ve tip 2 olmak üzere iki tip reseptör vardır. Tip 1 reseptörleri insülin reseptörlerine çok benzerlik gösterir. Ancak daha yüksek konsantrasyonlara sahiptir ve insülin reseptörü karaciğerde, yağ ve kas dokusunda baskındır. Tip 2 IGF-1 reseptörleri ise

genellikle fibroblastlar, kondrositler ve osteoblastlarda çok yaygın bulunmaktadır (30,31).

IGF-1 reseptörlerinin biyokimyasal yapısı insülin reseptörleri ve diğer growth faktör reseptörlerine benzerdir. IGF-1 reseptörleri iki alfa subuniti ve iki beta subuniti olan heterodimerik glikoprotein yapısındadır. Reseptörün alfa subunitine ligantın bağlanması ile reseptörün dimerizasyon ve şekil değişiklikleri tetiklenir (29). Reseptörlerin aktivasyonu ile insülin reseptör substrate 1 ve 2 (IRS-1 ve IRS-2) fosforilize olur. Bunlar ayrıca insülin reseptörlerince de fosforilize edilir. Fosforilasyonu takiben IRS-1 tirozine 950 de reseptöre bağlanır. Bu Grb-2 ve PI3 kinaz gibi diğer adaptör proteinleri bağlar. Reseptör ayrıca Shc, Crk ve Grb-10 gibi diğer sinyal proteinlerini direk fosforilize edebilir. Kimerik reseptörler IGF-1 ve insülin reseptörünün alfa-beta dimerlerini içerdikleri tanımlanmıştır. Bu reseptörler subtiplerinin fizyolojik önemi iyi bilinmemektedir. Fakat IGF-1'in insülin benzeri etkisine aracılık edebilirler (32).

Reseptörün fosforilasyonunu takiben, IRS-1 diğer sinyal proteinlerini bağlar. Grb-2 SOS (guanilnukleotid değişim kaktörü) proteinin ve RAS bir kompleks oluşturur. Bu kompleks p21 Ras aktivasyonuna yol açar. Bu da Mitogen Activated Protein Kinase (MAP kinase) yolunu aktive eder. Bu yolun aktivasyonu IGF-1'ce hücre büyümesinin stimülasyonu için önemlidir (33) .

IRS-1 aktivasyonu PI3 kinazın aktivasyonuna yol açar. Bu P 3 ve protein tirozin kinaz-B aktivasyonunu uyarır. Bu kinazlar p 70/S6 kinaz ve GSK-3 aktive edebilir, bu da protein sentezinin ve glukoz transportunun stimülasyonu için önemlidir. Bu yolak bir de apoptozisin inhibisyonu ve hücre hareketlerinin IGF-1 stimülasyonu için önemlidir. Reseptörün aşırı uyarılması hücrede transformasyonla sonuçlanabilir (34).



## **İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler (İnsulin-like growth factor binding protein, IGFBP)**

İnsülininden farklı olarak IGF'ler plazma proteinlerine bağlanarak dolaşmaktadırlar ve bu proteinlere insulin-like growth factor binding protein, (IGFBP) adı verilmektedir (35).

IGFBP'ler çeşitli dokularda üretilirler ve birçok biyolojik sıvıda bulunmaktadırlar. Altı IGFBP aynı gen ailesine dahil olmalarına rağmen bazı özellikleri ile birbirinden ayrılmaktadırlar (30,35–38). IGFBP–1 30 kDa ağırlığında non-glikolize protein olup, ilk kez mid-term amniyon sıvısından izole edilmiştir. Amniyon sıvısındaki konsantrasyonu plazmadakinden 100–500 kat daha fazladır. IGFBP–1 endometrium ve desidüadan sentezlenen plental protein 12 ile benzer yapıdadır. IGFBP–2 31-36kDa ağırlığında olup önemli oranda serumda ve beyin omurilik sıvısında tanımlanmaktadır. Dolaşımda bulunan en önemli bağlayıcı protein IGFBP–3 olup 38–43 kDa ağırlığındadır. Dolaşımda IGF ile bağlanır ve 150–200 kDa ağırlığında majör molekül oluşur. Bu sayede IGFBP–3 'ün büyük bölümü dolaşımda satüre olmuş durumdadır. IGFBP–4 ilk kez osteosarkom TE–89 hücrelerinde ve yetişkin sıçanlarda serumda tespit edilmiş olup sonra insan serumunda da tanımlanmıştır. IGFBP–5 ilk sıçanlarda ve insan kemik hücrelerinde tanımlanmış olup, osteosarkom hücre kültürlerinde, glioblastom hücrelerinde ve BOS' ta farklı moleküler ağırlıkta tanımlanmıştır. IGFBP–6 ise fibroblast hücre kültürlerinde tanımlanmıştır (30,35,38). IGF' lerin bu proteinlere bağlanması için yüksek afiniteleri vardır ve insülin ile yarışmaya girmezler. IGFBP'ler IGF' lerin plazmadaki yarı ömürlerini uzatır, hedef hücrelere transportunu ve IGF ile yüzey membran ilişkisini sağlar (35).

### **Dolaşımdaki IGF-1'in regülasyonu**

IGF'lerin asıl sentez yeri karaciğerdir. Sentezden sonra IGF' ler depolanmaz ve en iyi rezaruarı olan seruma salınırlar. IGF-1'nin karaciğerden sentez ve salınımı başlıca GH ve IGF–1'in plazma

konsantrasyonları gibi değişkenler tarafından düzenlenmektedir. Bu değişkenler IGFBP-3 'ü de düzenlemektedirler (18).

Yaş, normal serum IGF-1 konsantrasyonlarının önemli bir belirleyicisidir. Plazma IGF-1 seviyeleri doğumda çok düşükken, pubertede pik yapmaktadır (doğumda 20-60 ng/ml, pubertede 600-1100 ng/ ml). İkinci dekatta konsantrasyonları hızlıca düşmektedir. 20 yaşına kadar maksimal pubertal seviyesinin % 40-50 sine ulaşır. 60 yaşında % 50' sinden fazlası azalır. Bu değişikliğin bir parçası yaşa bağlı meydana gelen GH'daki değişikliğe bağlıdır (16,39). Bazı çalışmalarda erkeklerle karşılaştırılan kadınlarda IGF-1 düşük bulunurken, bazı çalışmalarda özellikle 25-34 yaşlarındaki kadınlarda IGF-1 seviyelerinin yüksek olduğu bulunmuştur. Bu yüzden IGF-1 seks steroid seviyeleri arasındaki ilişkide serum IGF-1 seviyesi üzerinde cinsiyetin etkili olmadığı görülmüştür (40).

Plazma IGF-1'in genetik tespiti ayrıca önemlidir. İkiz çalışmalarında her bir birey için yaklaşık % 40 değişkenlik görülmüş; IGF-1 geninde bir polimorfizm tespit edilmiştir. Değişkenliklerin bir kısmından bu sorumlu olabilir (8,41).

## **Büyüme hormonu**

GH, plazma IGF-1 seviyelerinin majör belirleyicisidir. GH eksikliği olan çocuklarda plazma IGF-1 konsantrasyonları 95 persentil güvenlik aralığından daha düşüktür. Plazma IGF-1 üzerine GH'nun etkisi komplekstir. GH eksikliği olan bireylere GH uygulaması ile IGF-1 konsantrasyonlarında 6-7 kat artış olur. Akromegalik hastalarda plazma IGF-1 değerleri normal yaş ile uyumlu kişilere göre yedi kat daha fazladır ve IGF-1 anormalliklerinin şiddeti yumuşak doku büyümesinin şiddeti ile ilişki gösterir. IGF-1 ölçümleri izlenmesinde faydalıdır ve hastalardaki reziduel GH sekresyonu ile korelasyon gösterir (42,43).

## **Beslenme durumu**

Beslenme ve enerji alımı IGF-1 seviyelerinin önemli belirleyicilerindedir. Açlıkta hem protein alımının azalması hem de enerji alımının azalması nedeni ile doku IGF-1 seviyesi azalmaktadır. Günlük enerjinin en az 20 kcal/kg olarak alınması ve proteinin 0.6 g/kg olması normal plazma değerlerinin sürdürülmesi için gereklidir. Üç günlük açlık sonrasında toplam serum IGF-1 seviyelerinde azalma olur. GH uygulamasına cevapta körelme olur (39).

Hepatik yetmezlik, inflamatuvar barsak hastalıkları ve böbrek yetmezlikleri gibi malnutrisyonun eşlik ettiği hastalıklarda da IGF-1 seviyelerinde düşme gözlenir (44).

## **Diğer hormonlar**

Tiroid hormonları, hipofizer GH yapımını artırarak IGF-1 konsantrasyonunu artırır. Plazma IGF-1, hipotirodizmde düşer ve T4 replasmanı ile artar. Plazma IGF-1 düzeyleri subklinik hipotiroidi evresinde dahi düşük bulunmuştur (45). Estrojen ve androjenlerin IGF-1 üzerine etkileri GH yapımı üzerinden olmaktadır. Östrojenlerin plazma IGF-1 üzerine minimal etkisi vardır. Glukokortikoidler postreseptör seviyede IGF-1'lerin büyümeyi arttırıcı etkilerini inhibe ederler (30,46).

İnsülin, IGF-1 konsantrasyonlarının belirlenmesinde önemli faktörlerden birisidir. Kötü kontrollü tip 1 diyabetiklerde düşük-normal bir IGF-1 seviyesi gözlenirken, uygun tedavi ile normal sınırlara dönmektedir (47).

## **Doku IGF-1'nin düzenlenmesi**

IGF-1 karaciğer gibi periferel dokularda da sentez edilir ve periferel doku sentezi plazma konsantrasyonlarına katkıda bulunur (48).

Kemik ve kıkırdak, IGF-1 mRNA'nın iki önemli iskelet kaynağıdır. Paratiroid hormon (PTH) kemikte IGF-1 transkripsiyonunu düzenler. GH bir de osteoblast ve kondrositler tarafından IGF-1 sentezini arttırır. Büyüme regulasyonuna katkısını desteklemektedir (49). IGF-1 ekspresyonu overlerde

de regüle edilir ve folikül stimüle edici hormon (FSH) uygulaması foliküler sıvıda IGF-1 konsantrasyonlarını artırır (50). IGF-1 kan beyin bariyerini sınırlı bir şekilde geçmektedir. Santral sinir sistemi gibi lokal doku sentezi, IGF-1 seviyelerine önemli bir katkı sağlamaktadır (51). IGF-1 iskelet kasında myoblast ve uydu hücrelerinde sentez edilir. Travmayı takiben IGF-1 sentezi dalgalanır bu da onarıcı hücre bölünmesiyle ilişkilidir. IGF-1 sentezi kas hipertrofisi esnasında da artış gösterir (52).

Böbrekler, IGF-1 in sentez edildiği önemli bir lokal kaynaktır. Tek taraflı nefrektomiye takiben kompensatuar büyüme esnasında IGF-1 mRNA ekspresyonunda büyük bir artış olmaktadır (53).

### **IGF-1'in metabolik etkileri**

#### **IGF-1 'in hayvan modellerinde saptanan metabolik etkileri**

Hayvan modellerinde IGF-1'in metabolizma üzerine pek çok etkisi belirlenmiş ve insanlardaki fizyolojiye yansıtılabilmektedir. GH reseptörü knockout farelerde tokluk halinde glukoz ve insülin düzeylerinde azalma, açlıkta insülin düzeylerinde belirgin düşüklük şeklinde insülin duyarlılığında artışı gösteren bulgular saptanmıştır (54). Bu farelerde insülin tolerans testlerinde eksojen insülinin kontrol farelere göre kan glukoz düzeylerini belirgin düşürdüğü gösterilmiştir.

Moleküler düzeyde, GH-reseptör-knockout farelerde karaciğerde insülin reseptör sayısı artmıştır (54). Bu knockout farelerde insülin duyarlılığında artış olmasına rağmen glukoz toleransı bozuktur. Bu bozukluğun en muhtemel nedeni, adacıklara GH uyarısında azalma sonucu pankreas adacıklarında küçülme ve insülin salgılanmasında azalmaya bağlı pankreas beta hücrelerinin artmış glukoz yükünü karşılayabilecek düzeyde insülin üretememesidir (55). GH-reseptör–knockout farede beta hücrelerinde insülin promoterlerinin kontrolünde IGF-1 eksprese edildiği takdirde, IGF-1 adacık hücre kitlesini düzeltmekte ve böylece beta hücresinde insülin miktarı artmakta ve insülin sekresyonu ve glukoz toleransı düzeltilmektedir (56). Bu çalışma GH 'un kendi reseptörü aracılığı ile IGF-1 ekspresyonunu arttırdığını; bunun da optimal beta hücresini sağladığını düşündürmektedir (56).

GH ve IGF-1'in karbonhidrat metabolizması üzerine etkisi karaciğerde IGF-1 eksikliği (LID) olan bir fare modelinde çalışılmıştır. Bu farelerde kas dokusu ön planda olmak üzere tüm vücutta insülin direnci olduğunu ve insülinin insülin direncini baskılayamadığını göstermiştir (18,57).

## **IGF-1 'in insanlarda karbonhidrat metabolizması üzerine etkileri**

İnsanlarda GH eksikliği bebeklik döneminde hipoglisemiye yol açmaktadır. Erişkinde ise GH fazlalığı GH 'un anti-insülin etkilerine bağlı olarak insülin direnci ve hiperglisemiye yol açmaktadır (58). Diğer yandan IGF-1'in karbonhidrat metabolizması üzerinde çok çeşitli etkileri vardır (59). Rekombinan IGF-1 (rhIGF-1) infüzyonu muhtemelen hepatik IR aracılığı ile karaciğerde glukoz üretimini baskılar ve kas dokusunda glukoz alımını IR ve/veya IGF-1R aracılığıyla uyarır (60). Bu bulgular sonrasında tip 1 ve tip 2 diyabetli hastalarda rhIGF-1'in insülin duyarlılığını arttırdığını gösteren çalışmalar yapılmıştır (61). GH genellikle glukoz düzeylerini ve insülin direncini artırırken IGF-1 şeker düzeylerini düşürmekte ve insülin direncini azaltmaktadır. Fakat, GH genç erişkinlerde düşük dozda uygulandığında IGF-1 düzeylerinde geçici bir artış oluşturarak tüm vücut insülin duyarlılığında düzelme sağlamıştır (62,63).

## **IGF-1'in lipid metabolizması üzerine etkileri**

GH'nun tersine hem insülin hem de IGF-1 IR aracılığı ile olgun adipositlerde antilipolitik etki göstermektedir. rhIGF-1 verilmesinin gövdesel adipositeye önemli etkisi yoktur (64). Bu etkisizliğin sebebi olgun adipositlerde IGF-1 reseptörlerinin az, GH reseptörlerinin ise çok sayıda olması olabilir. Preadipositlerde IGF-1 reseptör ekspresyonu çok yüksek düzeydedir ve IGF-1 preadipositlerde ve mezanşimal hücrelerde hücre proliferasyonunu uyarır (65). Diferansiyasyon sürecinde IGF-1 R sayısı azalır ve yerlerini IR leri alır. Diferansiye adipositlerde IGF-1 ekspresyonu oldukça

yüksektir (66). Bu çalışmalar erişkin insanlarda GH'un lipid metabolizması üzerine etkilerinde IGF-1 R'ün rolü olmadığını göstermiştir.

### **IGF-1'in protein metabolizması üzerine etkileri**

GH'un protein metabolizmasına etkileri genellikle IGF-1 aracılığıdır. Kas dokusunda, IGF-1, IGF-1 reseptör aracılığı ile protein sentezini uyarmakta ve proteolizisi baskılamaktadır. Proteolizin baskılanması için yüksek doz gerekmesi IGF-1 'in bu etkisinin IR aracılığı ile olduğunu düşündürmektedir. Hem GH hem de IGF-1 katabolik hastalıkların tedavisinde kullanılmış ve bunların çoğunda anabolizmayı ve hastanın düzelmesini sağlamışlardır (67,68).

### **IGF-1 (CA)<sub>19</sub>gen polimorfizmi**

İnsandaki IGF-1 geni, birbirinden ayrılan intronlar içermektedir ve ayrıca gen ekspresyonu sağlayan birbiriyle bağlantılı eksonlardan oluşmaktadır. IGF-1 geni bazı faktörler tarafından düzenlenmektedir. IGF-1 geninin tekrarlayan polimorfik CA bölgesi transkripsiyonel başlangıç bölgesinin 1 kb yukarisındadır. IGF-1 tekrarlayan polimorfizm, IGF-1 'in dolaşımdaki, lokal konsantrasyonu ve salınımını etkileyebilir. Dolaşımdaki IGF-1, IGF-1 'in bioaktivitesinin bir göstergesi olarak ölçülmektedir. Ancak patolojik durumlarda IGF-1'in radyoimmünoassay yöntemleri ile ölçümleri problemlili olabilir. Bu durumda dolaşımdaki IGF-1 düzeyleri IGF-1 bioaktivitesini yansıtmayabilir. Bu durumda genetik varyantların belirlenmesi katkı sağlayabilir. Sitozin-adenin (CA)<sub>19</sub> tekrarlayan kısmından oluşan promotör bölge yakınlarında tanımlanmaktadır. Bu (CA)<sub>19</sub> tekrarlayan ortak allellerin uzunlukları, 10-23 arasında değişmektedir. En sık allel 19 CA tekrarı içermektedir ve 192 –bp uzunluğuna denk gelmektedir. Bu durum ilk kez Rotwein tarafından tanımlanmıştır (69). Genotipler ele alındığında, populasyon çalışmalarında örneklemeler 192-bp alleli için homozigot veya heterozigottur. Bu da bu allelin wild- tip allel olduğunu ve diğer allelerin bundan orijin aldığını düşündürmektedir. Bu da 3 muhtemel genotipi

doğurmaktadır; 192- bp allel için homozigot, heterozigot ve 192 –bp allel için taşıyıcı olmayanlardır. Diğer 9 allelin sıklığı ise oldukça düşüktür (41).

Başka çalışmalarda IGF-1 promoter polimorfizminin allellerinin farklı uzunluklarının rolü araştırılmıştır. Bunun sonucunda IGF-1 düzeyleri ve boy için optimum değerler belirlenmiştir. Ortalama IGF-1 düzeyleri 192-bp allelin homozigot taşıyıcılarında ve 194-bp allelin homozigot taşıyıcılarında eşit bulunmuştur ve bu değerler 192-bp 'den daha kısa ve 194-bp'den daha uzun allelere sahip kişilerin değerlerinden belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur. Bu da bu iki varyantın IGF-1 ekspresyonu için optimum olduğunu düşündürmektedir. Buna göre IGF-1 genotipinin iki farklı tipi tanımlanmıştır. 192-bp allel ve 194-bp allel için homozigot olanlar wild tip olarak adlandırılmıştır. Heterozigot alanlar ise taşıyıcı olarak adlandırılmıştır (70).

IGF-1 polimorfizminin IGF-1 ekspresyonu ve dolaşımdaki IGF-1 farklılıkları ile ilişkili olabileceği öngörülmüştür (71). IGF-1 seviyeleri ile ilişkisine ek olarak, kemik mineral dansitesi, vücut yağ dağılımı, doğum ağırlığı ile de ilişkilendirilmiştir (72-75). Ancak bu mikrosatelit polimorfizmin fonksiyonel önemi belirlenmemiştir ve IGF-1 ekspresyonunun tekrarlayan uzunluk varyasyonlarının fonksiyonel yöntemlerine gerek vardır. Ayrıca bu polimorfizmin incelenmesini zorlaştıran faktörlerden biri de IGF-1 geni için farklı iki promoter bölgesi olmasıdır (76,77). Bu iki farklı bölgeden transkripsiyonun başlaması alterne splicing ve dokuya özel ekspresyonla birlikte farklı mRNA transkriptlerinin oluşması ile sonlanır (78-80) . Çoklu transkriptlerin varlığı ise hücrenin farklı stimullara karşı farklı cevapları ile sonlanır. Bu da genetik ve çevresel faktörlerin etkisinin farklı IGF-1 transkripsiyon paternleri ile sonlanabileceğini öngördürür (81,82).

IGF-1 polimorfizmi ayrıca obezite ve ilintili patolojik olaylarla sonuçlanabilen çeşitli metabolik faktörlerle de ilişkili bulunmuştur (83,84). Ayrıca 192-bp allel yokluğunda artmış myokard infarktüsü riski de söz konusudur (41).

## **İNSÜLİN VE İNSÜLİN DİRENCİ**

### **İnsülinin etkileri**

İnsülin glukoz hemeostazı üzerinde dominant etkiye sahiptir. Bu etkilerini özellikle karaciğer, kas ve yağ dokusu yoluyla gösterir. Karaciğerde glukonogenez ve glikojenolizi inhibe ederek glikojen depolanmasını sağlar. Kas ve yağ dokusunda ise glukozun tutulumunu, depolanmasını ve kullanılmasını uyarır. İnsülin ayrıca lipid ve protein metabolizmasında da önemli bir role sahiptir. İnsülinin diğer etkileri ise kaslarda potasyum transportunun, adipositlerde hücresel farklılaşmanın ve overlerden androjen üretiminin uyarılması ve renal sodyum retansiyonudur (85,86).

### **İnsülin sinyalizasyonu**

İnsülin etki mekanizmasındaki ilk basamak hormonun hedef hücredeki spesifik yüksek afiniteli reseptörlerle ilişkiye girmesidir. İnsülinin çok yönlü etkileri arasında; hücre içine heksoz, ion, aminoasit alımını ve glukoz taşıyıcı proteinler gibi membranla ilişkili proteinlerin hücre içi redistribüsyonunu stimüle etmesi; IGF-2 ve transferin reseptörlerinin stimülasyonu; gerek fosforilasyon gerekse defosforilasyon ile enerji metabolizmasındaki hücre içi enzimlerin modülasyonu; düzenleyici enzimlerin (piruvat kinaz, fosfoenol piruvat karboksikinaz) gen transkripsiyonlarının düzenlenmesi ve hücre büyümesinin sağlanması gibi etkiler sayılabilir. İnsülin direnci ile ilintili hastalıklarda insülin aktivitesinde görülen anormallikler bu hormonal etkilerden bir ya da birkaçının sonucunda oluşabilir. Fakat glukoz intoleransı ile ilgili olarak görülen en önemli mekanizma glukoz alımı ve metabolizmasındaki defektlerdir. İnsüline verilen doku yanıtındaki bozukluk dört aşamada olabilir: 1.İnsülinin reseptörle karşılaşmasından önce (prereseptör düzeyi), 2. İnsülinin insülin reseptör kompleksi ile bağlanma seviyesinde, 3. Hücre içi sinyal iletiminde, 4. Hormon efektör sistemleri düzeyinde (85,86).

İnsülinin çeşitli etkileri özel bir transmembran olan glikoprotein olan reseptöre bağlanması ile başlamaktadır. İnsan insülin reseptörü 12. kromozomda lokalize 22 eksondan oluşan tek bir gen tarafından



kodlanmaktadır. İnsülin reseptörü birbirine disülfid bağları ile bağlı iki alfa iki beta subunitten oluşan tetramerik bir yapıya sahiptir. Ekstrasellüler alfa subunit insülinin bağlanmasında kritik bir role sahiptir. Bağlanmadan sonra beta subunitinin ekstrasellüler bölgesindeki spesifik tirozin rezidüleri fosforilize olur. İnsülin reseptörleri, bu bölgenin iç tarafındaki tirozin kinaz aktivitesine sahip diğer transmembran reseptörleri (IGF-1, EGF ve çeşitli proto onkogen reseptörleri gibi) ile kuvvetli homolojiye sahiptir. İnsülin reseptörünün tirozin kinaz aktivasyonunun sonuçları kesin olarak ortaya konulamamıştır. İnsülinin etkilerini yalnızca tirozin kinaz aktivitesi ile açıklamak imkânsızdır. Fazla sayıdaki biyolojik etkinin gerçekleşebilmesi için muhtemelen çok sayıda dönüştürücüler bulunmaktadır (85). Potansiyel sinyal sistemleri; insülin reseptör tirozin kinaz aktivitesi, fosforilasyon-defosforilasyon kaskadları, fosfatidilinositol-3 kinazın (PI3K) stimülasyonu, fosfainosid kalsiyum sistem aktivasyonu, GTP bağlayıcı proteinler ve fosfalipaz C tarafından inositolglikan bileşiklerinin salınımı olabilir. Bu sinyaller efektör sistemleri aktive ederek insülinin bütün selüler etkilerini sağlamaktadır. Son zamanlarda insülin reseptör kinazın substratı olarak düşünülen bir protein bulunmuş ve IRS olarak adlandırılmıştır. IRS-1 fosforilasyonu sonucunda değişik sinyal tarsdüksiyon yollarının (PI3K gibi) aktivasyonu bir model olarak ileri sürülmüştür. İnsülin etkisi için ileri sürülen ayrı bir mekanizma da serin veya treoninin fosforilasyonu veya defosforilasyonudur. Sitozolik serin treonin kinazların iki grubu insülin sinyal mekanizmasında aracı olarak rol almaktadır (87). 1.Mitojenin aktive ettiği kinazlar (MAP) 2. Protein kinaz C (PKC)

Bütün hücrelerde glukoz tutulumu glukozun iki yönlü difüzyonuna imkan sağlayan plazma membranında yerleşmiş glukoz taşıyıcı (GLUT) proteinleri ile gerçekleştirilmektedir. Farklı fonksiyonel özelliklere sahip ve farklı dokularda eksprese olmuş homolog proteinleri kodlayan multipl glukoz taşıyıcı genler tanımlanmıştır. İnsülinin adipositlerdeki glukoz transportunu intraselüler GLUT 1 'in plazma membranına translokasyonu ile yaptığı gösterilmiştir. GLUT 2, 3 veya 5'in insüline yanıt olarak translokasyon yapmadığı gösterilmiştir. GLUT 4, periferik insülin hedef dokularında yoğun bir şekilde bulunmakta ve insülin uyarısıyla belirgin artış göstermektedir. Bu

nedenle insüline cevap veren bir transporterin özelliklerine sahiptir. İnsülinin glukoz taşıyıcılarını aktivasyonunda majör mekanizma doza bağımlı bir şekilde glukoz taşıyıcı proteinlerin büyük bir intrasellüler havuzdan plazma membranına hızla kaydırılmasıdır. İnsülin uyarısından sonra plazma membran GLUT1 düzeyinde 3-5 kat artış, GLUT4 miktarında 15-20 kat artış olmaktadır. Buna göre insülin uyarısına bağlı glukoz transport aktivitesinin hemen tamamı GLUT4 ile sağlanmakta, GLUT1 ise bazal insülin tutulumunda yardımcı rol almaktadır. GLUT4 miktarında artış oranı glukoz transport miktarındaki artış oranına eşittir. GLUT4 trafiğindeki potansiyel defektlerin insülin direncine yol açtığını tahmin etmek zor değildir (85).

### **İnsülin direnci nedir?**

IR, plazma glukoz düzeyinin normal sınırlarda tutulmasında ve glukoz hemeostazında, insülinin etkinliğinin azalması ya da bozulması veya insüline verilen doku cevabının yetersiz kalması olarak tanımlanabilir. Bugün tip 2 diyabetes mellitus (DM) 'taki primer defektin insülin rezistansı olduğu kabul edilmektedir. IR glukoz intoleransına neden olan ve ilk ortaya çıkan metabolik anormalliktir (88). İnsülin aktivitesine önem verilmesinin ikinci bir nedeni de hipertansiyonlu birçok hastada IR'nın bulunmasıdır. Bu da artmış bir kardiyovasküler risk ile birlikte. Bu bağlamda araştırmacılar insülin rezistansının, DM, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalığa, bu hastalık süreçleri için uygun genlerin varlığında, neden olabilecek primer bir hastalık olduğunu iddia etmişlerdir (89,90). Bu hastalıklar kompleksi sendrom X veya insülin rezistans sendromu olarak adlandırılmaktadır. Buradan insülin rezistansının insan morbidite ve mortalitesi açısından beklenenden daha geniş bir etkiye sahip olduğu ortaya çıkmaktadır.

### **İnsülin direncinin mekanizmaları**

#### **Prereseptör mekanizmalar**

İnsülin, pankreatik beta hücreleri tarafından salınır, kanda sirküle olur, kapiller endotelyumdan interstisyel sıvıya geçer ve hedef hücreye ulaşır. İnsülin ve glukozun hedef hücrelere taşınmasını engelleyen olaylar, potansiyel in vivo insülin direnci nedenleridir. Kan akımı anormalliklerinin

IR'ye katkı oranları obezite için %25, Tip 2 DM için %40 olarak hesaplanmıştır. Obezite ve Cushing sendromundaki insülin direnci, tip 1 liflerinin kaybına ve tip 2 liflerindeki artışa bağlanmıştır. Ratlarda, tip 1 liflerde daha çok sayıda GLUT 4 bulunduğu da gösterilmiştir. Devamlı egzersiz, lif kompozisyonunda değişiklik yapmadan, kas GLUT 4'lerini, kapiller dansitesini ve insülin duyarlılığını da artırmaktadır (89,90).

### **Glukoz metabolizması için hız sınırlayıcı basamak**

İnsülin reseptör fonksiyonunu değiştiren ciddi mutasyonların bulunduğu nadir genetik sendromlar haricinde, insülin direnci bulunan çoğu Tip2 DM'li hastalarda sebep insülin bağlanmasından sonraki defektlerdir. Obezite ve Tip2 DM'de glukoz transport sisteminin bozulduğu gösterilmiştir. IR'de glukoz transportunun mu, yoksa intrasellüler glukoz metabolizmasının mı anahtar defekt olduğu, hangi basamağın glukoz tüketiminde kısıtlayıcı olduğuna bağlıdır. Eğer intrasellüler glukoz metabolizması hız kısıtlayıcı olsaydı, hedef dokularda serbest intrasellüler glukoz birikmesi gerekirdi. Bu gözlem sonucunda glukoz transport basamağının hız kısıtlayıcı olduğu ortaya çıkmaktadır. Ancak bazı araştırmacılar, yüksek oranda glukoz akışı durumunda hız kısıtlayıcı basamağın post-transport proseslere kaydığını iddia etmektedirler. Hekzokinaz II defektlerinin de GLUT4 ile birlikte insülin direncinde rol oynadığı ileri sürülmektedir (91).

### **Hücre sel mekanizmalar**

#### **İnsülinin reseptörüne bağlanması ve ligand-reseptör proseslerindeki anormalliklerin glukoz homeostazisindeki rolü**

İnsülin reseptörlerinin siklusunda 5 major faz vardır. 1- Sentez, 2- Plazma membranına transport, 3- İnsülinin bağlanması, 4-Reseptörün tirozin kinaz aktivasyonu, 5- Endositoz, 'recycling' ve degradasyon. Hormon-reseptör kompleksinin endositoz ve internalizasyonundan sonra reseptörler parçalanabilir, tamir edilebilir ve çoğu da tekrar hücre zarına gider (*recycling*). İnsülinin doza bağımlı bir şekilde reseptörlerinin sayısını degradasyonunu

hızlandırarak azaltmasına `down regulation` denir. İnsülin haricinde, egzersiz, diyet, büyüme hormonu ve glukokortikoidler gibi hormonlar da reseptör sayısını değiştirebilir. Obezitede ve Tip2 DM'li hastalarda insülin reseptör kompleksinin internalizasyonu ve degradasyonu daha yavaştır, ancak bunun önemi bilinmemektedir. İnsülinin etkisi birçok genin kontrolü altındaki metabolik olayları düzenlediğinden çeşitli mutasyonlar hedef hücrede defektlere yol açıyor olabilir(91).

### **İnsülin sinyal iletimindeki anormalliklerin glukoz homeostazisindeki rolü**

İnsülin reseptör tirozin kinazın glukoz transportundaki rolü tam olarak bilinmemektedir. Tip2 DM'li hastalarda insülinle uyarılan tirozin kinaz aktivitesi %50 oranında azalmıştır. Kinaz defektif reseptörlerin PKC tarafından beta subunitin serin ve treonin kısımlarının fosforilasyonu sonucu ortaya çıktığı ileri sürülmüştür. Tip2 DM'li hastalarda kilo verme ile beraber intrinsek kinaz aktivasyonu normale dönmüştür. Bu nedenle insülin reseptör kinaz defektlerinin insülin etkisindeki defektlerin reversibl komponentini oluşturduğu ileri sürülmüştür. Ağır insülin direnci bulunan nadir bozukluklarda (Tip A IR ve akantozis nigrikans, *leprechaunism*, Rabson-Mendenhall sendromu ve lipoatrofik diyabet gibi) insülin reseptör bağlanması ve kinaz aktivitesini etkileyen genetik değişiklikler etkili olabilmektedir. Fakat bu hastaların bazılarında ise reseptöre bağlanma ve kinaz aktivitesi normal olduğu halde, muhtemelen daha distaldeki prosesleri etkileyen genetik defektlerin sonucunda insülin direnci ortaya çıkmaktadır. İnsülin dirençli Pima kızıldirililerinde protein tirozin fosfotaz (PTP) aktivitesinin arttığı ve insülin infüzyonu ile suprese olmadığı gösterilmiştir. Aşırı PTP aktivitesi tirozin fosforilasyonunu antagonize etmekte ve belki de insülin direncine yol açmaktadır. IRS-1 ve PI3- kinazın da insülin direncindeki rolü araştırılmıştır. PKC sinyal transdüksiyonunda direkt olarak rol oynamaktadır. Bütün bu potansiyel sinyal mekanizmalarının glukoz homeostazisindeki rolü bilinmemektedir (92).

## **Efektör sistem defektlerinin glukoz homeostazisindeki rolü**

Tip 2 DM ve obezite ile ilgili in vivo araştırmalarda insülin direncinin glukoz transport sistemindeki hücresele defektler sonucu ortaya çıktığı ileri sürülmüştür. Glukoz transportundaki defektlerin üç potansiyel mekanizması mevcuttur: 1-İntrasellüler glukoz taşıyıcı sayısında azalma, 2-İnsüline bağlı translokasyon kabiliyetinin yokluğu (İntrasellüler taşıyıcı sayısı tam olmasına rağmen), 3-Plazma membranındaki glukoz taşıyıcılarının fonksiyonlarının bozukluğu. Adipozitler üzerinde yapılan çalışmalarda total taşıyıcı azalması GLUT4 izoformunun selektif kaybı ile açıklanmıştır. Obezitedeki insüline cevap azlığı, transloke olabilen GLUT4'ün azalmasına bağlı olabilir. Obezitenin artmasıyla hücrelerdeki GLUT4, mRNA ekspresyonu da suprese olmakta ve de-novo sentezi sınırlanmaktadır. Tip2 DM'de ise GLUT4 azalması her iki kompartmanda da gözlenmiştir. Bu çalışmalara göre insülin direnci hücresele GLUT4 miktarında bariz azalma ile açıklanabilir. Ayrıca iskelet kasındaki insülin direnci GLUT4 miktarında azalmanın haricinde translokasyon defektleri sonucunda oluşmaktadır. Tip 2 DM'de glukoz transport defektlerine ilave olarak intrasellüler glukoz metabolizması (oksidatif ve non-oksidatif yolaklar) da bozulmuştur (93).

## **Obezitede insülin salgılanması**

Obezite, artmış açlık plazma insülin düzeyi ve oral glukoz yüküne abartılı insülin yanıtı ile karakterizedir (94). Ancak obezite ve vücut yağ dağılımı, glukoz metabolizmasını bağımsız, fakat aditif mekanizmalar ile etkiler. Kissebach ve ark. üst vücut obezitesinin artmasına oral glukoz alımına, glukoz düzeylerinde ve insülin yanıtında ilerleyici bir artışın eşlik ettiğini göstermişlerdir (95). Bireylerdeki in vivo insülin duyarlılığı somatostatin, insülin ve dekstrozun eşzamanlı infüzyonu sırasında, elde edilen kararlı durum plazma glukoz (KDPG) ve insülin (KDPİ) konsantrasyonlarının belirlenmesi yoluyla değerlendirilmiştir. Endojen insülin üretimi somatostatin ile baskılandığına ve KDPİ düzeyi her durumda benzer olduğuna göre, KDPG kişinin aynı insülin uyarısı altında, intravenöz glukoz

yükünü azaltma yetisini doğrudan ölçmektedir ve bu nedenle KDPG, insülin direncinin bir indeksi olarak kabul edilebilir. Sonuçlar, artan üst vücut obezitesi ile KDPG arasında pozitif ilişki olduğunu göstermiştir. Genel şişmanlığın (ideal vücut ağırlığının yüzdesi) etkileri için yapılan düzeltmelerden sonra, üst vücut obezitesi KDPG ile bağımsız ilişki göstermeyi sürdürmüştür ki bu, vücut yağı yerleşiminin, insüline duyarlılık derecesini ve buna bağlı olarak metabolik profili bağımsız olarak etkileyen bir faktör olduğunu düşündürmektedir (95).

Portal plazma insülin düzeylerinin ölçülmesi (insülin salgılanmasının bir indeksi olarak) üst ve alt vücut şişmanlığına benzerdir; ancak bazal ve intravenöz ya da oral glukoz ile uyarılan hepatik insülin salgılanması, üst vücut obesitesinde azalmaktadır (96). Sonuç olarak, üst vücut şişmanlığında posthepatik insülin dağıtımını artarak, daha belirgin periferik insülin konsantrasyonlarına neden olmaktadır. İskelet kasının insüline duyarlılığı ve yanıt verilebilirliği ile ilgili çalışmalar ve premenopozal kadınlarda genel glukoz dağıtımını ile vücut yağ dağılımına bağlı olarak değişen ilişkisi, üst vücut şişmanlığı arttıkça anlamlı bir artış olduğunu ortaya çıkarmıştır (97). Dahası, artan üst vücut şişmanlığı ile ilişkili olan azalmış sayıdaki hücrel insülin reseptörlerinde, bazı kişilerde maksimumun üstündeki insülin uyarısı sırasında azalan glukoz azalması ile ilişkili olan anlamlı bir eğilim bildirilmiştir. Bu tür bulgular, hem insülin reseptörü düzeyinde hem de reseptör sonrası olaylarda problem olduğunu düşündürmektedir (97).

Abdominal viseral yağ dokusu lipolitik uyarıya, subkutan yağ dokusundan daha duyarlıyken, insülinin inhibitor etkisine karşı daha az duyarlıdır; bu durum insülin reseptörlerinin düşük yoğunlukta olması ile ilişkili gözükmektedir. Obezitedeki hiperinsülinemi, insüline duyarlı subkutan adipositlerin lipolizini büyük ölçüde inhibe eder ve böylece viseral yağdan kaynaklanan sistemik serbest yağ asitleri (SYA) oranını belirginleştirir (98,99). Ayrıca aktif viseral adipositler tarafından üretilen, artan portal SYA konsantrasyonları, karaciğerin gereğinden yüksek SYA konsantrasyonlarına maruz kalmasına yol açar. Aşırı viseral yağ lipolizi, karaciğer ve iskelet

kasındaki insülin direncinin, ek bir sistemik insülin direnci oluşturması ile bir kısır döngü yaratabilir (98,99).

### **Obezitede büyüme hormonu salgılanması**

Büyüme hormonu, yaşam boyu, beden kitlesi açısından önemli bir düzenleyicidir: GH-eksikliği olan çocuklarda ve erişkinlerde, subkutan yağ belirgin olarak artar (100). İlginç olarak, bu kişilerde yağ birikimi baskın olarak gövdede ortaya çıkar. Dahası, hipopitüiter hastalar, altı aylık GH tedavisi ile %30 oranında azaltılabilen, anormal derecede fazla miktarda intra-abdominal yağa sahiptir (101). Bu kanıtlar, göreceli GH eksikliği ya da duyarsızlığının, obezitenin devam etmesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

İnsülin ile uyarılan hipoglisemiye karşı bozulmuş GH yanıtının, obezite ile ilişkili olduğu bulunmuştur; ancak bu, uç obezitenin nedeni olmaktan çok, sonucu gibi gözükmektedir. Ayrıca ağırlık artışının, tüm kışkırtıcı uyarılara karşı GH yanıtını azalttığı, buna karşılık, obez kişilerde ağırlık kaybını takiben, hipoglisemiye GH yanıtında anlamlı artışlar olduğu doğrulanmıştır. Aşırı enerji tüketiminde besin alımı önemli gözükmektedir; çünkü bozulmuş GH yanıtı verebilirliği, etkin egzersiz ile uyarılan kas yapısının sonucu olarak, fazla kilolu kişilerin gösterdiği bir özellik değildir (102).

### **IGF1 ve insülin rezistansı**

IGF-1 proinsüline yapısal olarak çok benzeyen bir peptittir. Bu peptidlerin aminoasit dizilimleri karşılaştırıldığında % 48'i eş bulunmuştur ve tersiyer yapıları da benzerdir. Ancak bu benzerliklere rağmen önemli farklılıklar mevcuttur. Proinsülinde farklı olarak IGF-1 'in c-peptid bölgesi proteolitik olarak kopmadığı için IGF-1 'in insülin reseptörlerine bağlanması engellenir ve insüline göre 100 kat daha az bir güçlülükle insülin reseptörlerine bağlanır. İkinci olarak bazı pozisyonlardaki aminoasit farklılıklarından dolayı IGF-1 IGFBP'lere bağlanabilir, böylece IGF-1 bağlayıcı proteinlere bağlanırken insülin büyük oranda serbest şekilde plazmada dolaşır. Biyolojik sistemlerle ilgili iki önemli fark daha vardır; birincisi insülin için iki önemli hedef doku olan karaciğer ve yağ IGF-1 reseptörleri içermez,

dolayısıyla bu dokular insüline yüksek ölçüde cevaplı iken IGF-1 ' e karşı dirençlidirler. İkincisi; IGF-1 sentezi ve salınımı için GH majör uyarıcı iken insülin salınımı üzerinde minimal etkisi vardır (103) .

IGF-1, insülin sensitivitesiyle farklı şekillerde etkileşim halindedir. Bu etkileşim IGF-1 'in kendi reseptörüne yüksek afinite ile bağlanmasıyla ya da insülin reseptörüne düşük bir afinite ile bağlanmasıyla gerçekleşmektedir. Eksojen IGF-1 uygulaması insanlarda insülin duyarlılığını arttırmıştır (104). Tip 1 diyabetik adolesanlarda 24 hafta boyunca uygulanan IGF-1 tedavisinin insülin duyarlılığını arttırdığı gözlenmiştir(105). Tip 2 diyabetik, insülin duyarlılığı bozuk bireylerde de IGF-1 uygulaması insülin duyarlılığında düzelmelere neden olmuştur (106). Ayrıca hepatik IGF-1 gen delesyonunun farelerde insülin rezistansını indüklediği de gösterilmiştir (57). İnsülin rezistansı özellikle kas dokusuna spesifik olarak meydana gelmiştir. Fakat bu farelerde periferik dokuların IGF-1 sentezleme kapasitesinde bir değişiklik olmamıştır. IGF-1'in, insülin etkisini teşvik ettiğini gösteren başka bir çalışmada, 615 katılımcı 4.5 yıl süre ile izlenmiştir. Bireylerdeki düşük IGF-1 konsantrasyonlarının tip 2 diyabet gelişimi ile ilgili riski arttırdığı gözlenmiştir (107). Fakat bir çalışmada IGF-1 'in insülin sensitivitesini 3-4 kat arttırdığı, HbA1c düzeylerini anlamlı olarak düşürdüğü ve gerekli insülin dozunda azalmalar sağladığı gösterilmiştir. Bu bulgular IGF-1 'in majör serum proteini olan IGFBP-3 ile kombinasyonlu kullanımı ile doğrulanmıştır (108,109). Bu kombinasyon tip 1 diyabetiklere uygulandığında kullanılan ortalama insülin dozunda % 54'lük bir azalma ve glukoz düzeylerinde % 23'lük bir düşüş gözlenmiştir.



## GEREÇ VE YÖNTEM

### Örneklem seçimi

Araştırmamızda Pamukkale Üniversitesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Polikliniği'nde tanı alan 101 obez insülin direnci olan hastadan [77'si (% 76,2) kadın, 24'ü (% 23,8) erkek, yaş ortalamaları 42,8±11,8 yıl] ve 30 sağlıklı kişiden [27'si (% 90,3) kadın, 3'ü (% 9,7) erkek] olur formu imzalatılarak gönüllülük esasına dayalı olarak kanları toplandı. 27.08.07 tarih ve 2007/08 sayılı Tıbbi Etik Kurul toplantısında çalışmanın yapılmasına tıbbi açıdan sakınca olmadığına karar verildi. Vakalar Eylül 2007 ve Aralık 2007 tarihleri arasında toplandı. Koroner arter hastalığı, diabetes mellitus, tiroid fonksiyon bozukluğu, karaciğer yetmezliği, renal yetmezliği veya malnutrisyonu olan hastalar, akromegaliler, büyüme hormonu eksikliği olanlar çalışmaya dahil edilmedi. Glukoz metabolizmasını ve insülin direncini etkileyen ilaç kullananlar, büyüme hormonu alanlar çalışma dışı bırakıldı.

### Antropometrik incelemeler

Ayakta boy ve vücut ağırlığı ölçümleri boy ölçekli ve kalibrasyonlu tartı aletinde aynı kişi tarafından aç karnına yapıldı. VKİ (vücut kitle indeksi) kiloyu boyun karesine bölerek ( $\text{kg/m}^2$ ) hesaplandı. Tablo-1'de belirtildiği şekilde obezite açısından değerlendirildiler. VKİ 30' un üzerinde olanlar obez olarak alındı. Bazal koşullarda bel (umbilikus hizasında) ve kalça ölçümleri yapıldı. Vücut yağ dağılımı bel/kalça oranı ve tanita ile hesaplandı.

**Tablo- 1:** Vücut kitle indeksi sınıflaması

| Sınıflama    | Vücut kitle indeksi |
|--------------|---------------------|
| Zayıf        | <19.5               |
| Normal       | 20-24.9             |
| Kilolu       | 25.-29.9            |
| Şişman       | >30-39.9            |
| Aşırı şişman | >40                 |

## **Biyokimyasal incelemeler**

Açlık kan şekeri (AKŞ), tokluk kan şekeri (TKŞ), total kolesterol (TKOL), trigliserid (TG), düşük dansiteli lipoprotein (LDL) , yüksek dansiteli lipoprotein (HDL), alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), kreatinin (KRT), ürik asit (ÜA) incelemeleri en az 12 saat açlık sonrası sabah 8.00 serum örneklerinde çalışıldı. Kan şekeri ölçümleri UV- fotometrik ölçüm ile; AST, ALT, KRT, ÜA, TKOL, TG, LDL, HDL ölçümleri enzimatik kolorimetrik ölçüm ile modül 2 (Roche-HITACHI automatic analyzer; serial no: 1706-01) cihazında yapıldı.

## **Hormonal incelemeler**

Tiroid fonksiyon testleri ölçümleri enzimatik kolorimetrik ölçüm ile modül 2 (Roche-HITACHI automatic analyzer; serial no: 1706-01) cihazında yapıldı. İnsülin (INS), IGF-1 ve büyüme hormonu, IGFBP-3, kortizol solid faz yarışmalı kemiluminisens enzim immün assay ile kantitatif olarak tayin edildi (Immulate 2000, DPC, USA).

B hücre fonksiyonunun ve insülin sensitivitesinin değerlendirilebilmesi için açlık kan şekeri ve insülin düzeylerinden yararlanılarak hesaplanan homeostasis model assessment (HOMA-IR) kullanıldı (110). (HOMA-IR: açlık glukozu (mmol/L) x açlık insülini (mIU/ml)/22,5]

## **DNA İzolasyonu**

DNA izolasyonu için gerekli periferik kan örneği 2 ml'lik EDTA' lı tüplere alındı. Bu kan örneklerinde daha sonra DNA izolasyonu ve PCR işlemleri yapıldı.

DNA izolasyonu klasik Fenol-Kloroform ekstraksiyon yöntemi ve DNA izolasyonu ile yapılmıştır. DNA izolasyonu için örnekler üzerine 10 ml. Soğuk lizat ( NH<sub>4</sub>Cl KHCO<sub>3</sub>, EDTA) ilave edilerek santrifüj edildi. Elde edilen pellet 500 µl STE ( NaCl, Tris, EDTA) tamponu, 1.25 µl proteinaz K, 100 µl SDS (

Sodyum dedosil sulfat) ilave edilerek, 37 ° C de bir gün boyunca inkübe edildi. Daha sonra Kloroform- İzoamil Alkol ( 24: 1, 500: 20 µl) karışımından geçirilip santrifüj edildi. Elde edilen supernatan 1000 µl % 100 ' lük soğuk etil alkol ve % 40 ' lık 100 µl Amonyum asetat ilave edilerek alkol çöktürmesi yapıldı. Çöken DNA' lar üzerine % 70 ' lik 1 ml soğuk etanol ilave edilerek pellet yıkandı. *Spicvacta* kurutularak alkol uzaklaştırıldı ve elde edilen DNA, 250 µl steril distile suda çözdürüldü. Elde edilen ürünler % 0.7 'lik jel elektroforezde görüntüledi. Daha sonra DNA konsantrasyonu, 260 nm ' deki optik yoğunlukta OD 260 değeri spektrometrede okunarak değerlendirildi (87).

### **IGF-I (CA)<sub>19</sub> polimorfik bölgenin analizi**

Elde edilen genomik DNA ' lardan PCR işlemi, IGF-I (CA)<sub>19</sub> bölgesini tanımlayan uygun primerler sırasıyla, Forward primer (5'GCTAGCCAGCTGGTGTATT3'), reverse primer (5'ACCACTCTGGGAGAAGGGTA 3') kullanılarak yapıldı (87,89). Bu primerler, insan IGF-I geninin 1 kb üstünde tekrarlayan sitosin-adenin (CA)<sub>n</sub> polimorfik bölgeyi genişletmektedir. Reaksiyon karışımına periferik lökositlerden elde edilen 0,5 ng/µL genomik DNA örneği konuldu. Ayrıca 0,5 nmol/L forward primer, 0.5 nmol/L reverse primer, 0,2 mmol/L dNTP, 1,5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 10x PCR buffer, 0,025 units/µL taq DNA polimeraz içermektedir. Toplam PCR çalışma volümü 50µL olacaktır. PCR koşulları sırasıyla denaturasyon işlemi 95 °C'de 3dk, sonra 94 °C'de 45 sn, 57 °C'de 45 sn., 72 °C'de 1 dk toplam 30 döngü, 72 °C 10dk. Bekleme basamaklarını içermektedir. Örnekler analiz edilinceye kadar 4°C'de bekletildi. Daha sonra örnekler % 3.5'lük agaroz jele yüklenerek elektroforez yapıldı ve UV görüntüleme sisteminde oluşan bantlar görüntülenerek değerlendirildi.

## **İstatiksel analiz**

Veriler SPSS 12.0 (Statistical Package for Social Science) programı ile bilgisayar ortamına aktarıldı. Değerler ortalama değer  $\pm$  standart sapma (Alt değer-Üst değer) veya yüzdeler olarak verildi. Gruplar arasındaki değerlerin karşılaştırılmasında Student's t-test, kategorik değişkenlerin analizinde Pearson Ki Kare testi kullanıldı. Çoklu grupların değerlerinin analizinde Mann-Whitney U ve Kruskal Wallis kullanıldı. Korelasyon analizinde Pearson korelasyon testi kullanıldı. Pearson korelasyon sabiti için  $p < 0,05$  anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Hasta ve Kontrol Gruplarının antropometrik ölçüm özellikleri Tablo-2' de verilmiştir. Beklendiği üzere Hasta ve Kontrol Grupları arasında vücut ağırlığı, VKİ bel çevresi, kalça ve yağ yüzde oranları açısından istatistiksel olarak belirgin anlamlı bir fark bulunmaktadır.

**Tablo- 2:** Hasta ve Kontrol Gruplarının antropometrik ölçümleri

|                             | BOY<br>(m) | VÜCUT<br>AĞIRLIĞI<br>(kg) | VKİ<br>( kg/m <sup>2</sup> ) | BEL<br>(cm) | KALÇA<br>(cm) | YAĞ<br>(%) |
|-----------------------------|------------|---------------------------|------------------------------|-------------|---------------|------------|
| <b>Hasta<br/>(n=101)</b>    | 1,61±0,8   | 100,12±21,9               | 38,26±17,6                   | 103,55±14,4 | 114,15±11,2   | 42,55±6,7  |
| <b>Kontrol<br/>( n= 30)</b> | 1,62±0,3   | 56,27±7,9                 | 21,90±2,8                    | 69,40±5,9   | 93,88±6,6     | 23,39±8,4  |
| <b>p</b>                    | 0,961      | 0,000                     | 0,000                        | 0,000       | 0,000         | 0,000      |

p<0.05 anlamlı p<0.01 ileri derecede anlamlı

Hasta ve Kontrol Grubu'nun biyokimyasal parametreleri Tablo-3'te verilmiştir. Hasta ve Kontrol Grubu arasında AKŞ, lipid parametrelerinin tümü, kreatinin, AST, ALT, ÜA ve insülin açısından belirgin bir fark bulunmaktadır. Kontrol Grubu'nda bakılan yeterli sayıda TKŞ değeri olmadığı için bu açıdan karşılaştırma yapılamamıştır. Hasta Grubu'nun ortalama TKŞ=112,66 ± 26,63 idi.

**Tablo -3:** Hasta ve Kontrol Gruplarının biyokimyasal ölçümleri

|             | Hasta ( n=101) | Kontrol ( n= 30) | p     |
|-------------|----------------|------------------|-------|
| AKŞ(mg/dl)  | 104,03 ±12,5   | 93,53 ± 7,96     | 0,000 |
| TKOL(mg/dl) | 193,96 ± 40,96 | 163,42 ± 22,31   | 0,013 |
| TG(mg/dl)   | 159,42 ± 71,80 | 62,54 ± 17,83    | 0,000 |
| HDL(mg/dl)  | 46,84 ± 13,15  | 59,00 ± 11,72    | 0,003 |
| LDL(mg/dl)  | 116,1 ± 34,08  | 91,67 ± 24,12    | 0,018 |
| KRT(mg/dl)  | 0,73 ± 0,12    | 0 ,66 ± 0,11     | 0,026 |
| AST(IU/L)   | 23,97 ± 12,01  | 16,13 ± 4,38     | 0,003 |
| ALT(IU/L)   | 29,14 ± 21,90  | 14,58 ± 8,90     | 0,002 |
| ÜA(mg/dl)   | 5,55 ± 1,14    | 3,40 ± 1,04      | 0,002 |
| INS(µIU/mL) | 17,49 ± 7,01   | 5,08 ± 2,30      | 0,000 |
| HOMA-R      | 4,68 ± 2,02    | 1,07 ± 0,46      | 0,000 |

p<0.05 anlamlı p<0.01 ileri derecede anlamlı

Hasta ve Kontrol Gruplarının hormonal değerleri Tablo- 4'te verilmiştir. Hasta ve Kontrol Gruplarının tiroid fonksiyonları ve IGFBP3 düzeyleri arasında bir farklılık gözlenmezken, IGF, GH ve kortizol düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.

Obezlerde GH, IGF ve kortizol değerleri kontrol grubundan anlamlı düşük bulunmuştur.

**Tablo- 4:** Hasta ve Kontrol Gruplarının hormonal değerlendirmeleri

|                     | TSH<br>(µIU/mL) | FT4<br>(ng/dL) | IGF<br>(ng/mL) | IGFBP3<br>(µg/mL) | GH<br>(ng/mL) | KORTIZOL<br>(µg/dL) |
|---------------------|-----------------|----------------|----------------|-------------------|---------------|---------------------|
| Hasta<br>(n=101)    | 2,15±1,1        | 1,19±0,27      | 136,79±45,8    | 4,91±1,1          | 1,51±2,1      | 17,32±6,7           |
| Kontrol<br>( n= 30) | 1,94±0,8        | 1,27±0,27      | 216,93±68,2    | 4,89±0,9          | 6,3±8,6       | 20,97±9,4           |
| p                   | 0,340           | 0,264          | 0,000          | 0,920             | 0,005         | 0,029               |

p<0.05 anlamlı p<0.01 ileri derecede anlamlı

IGF-I (CA)<sub>19</sub> polimorfik bölgenin analizi değerlendirildikten sonra alleler 192-bp 'den daha kısa (Grup 1), 192-194 bp (Grup 2), ve 194-bp'den daha uzun (Grup 3), olmak üzere değerlendirildi. Tüm vakaların genotip özellikleri ki kare analizi ile değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklı saptandı (p= 0,03). Hem Hasta hem de Kontrol grubunda Grup 3 belirgin olarak daha sık gözlenmekte idi. Tüm vakaların genotip özelliklerine göre ayrımları Tablo 5 ' te verilmiştir.

**Tablo 5:** Hasta ve Kontrol Gruplarının genotip özelliklerine göre ayrımları

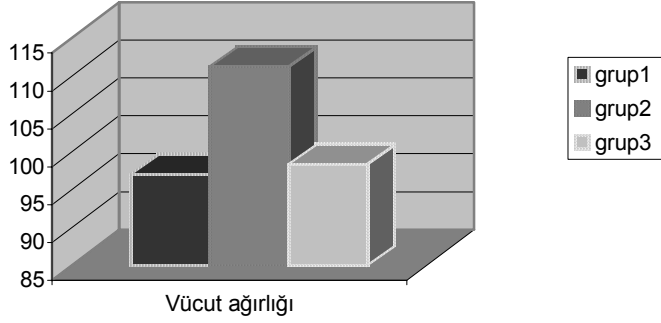
|                      |             | POLİMORFİZM  |              |              |
|----------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
|                      |             | Grup 1       | Grup 2       | Grup 3       |
|                      |             | <192         | 192-194      | >194         |
| Hasta<br>( n: 101 )  | Sayı<br>(%) | 15<br>(14,9) | 15<br>(14,9) | 71<br>(70,3) |
| Kontrol<br>( n: 30 ) | Sayı<br>(%) | 1<br>(3,2)   | 1<br>(3,2)   | 28<br>(93,5) |

Grup 1, 2 ve 3' ün verileri kendi aralarında antropometrik ölçümler, biyokimyasal parametreler ve hormonal değerler açısından karşılaştırıldı.

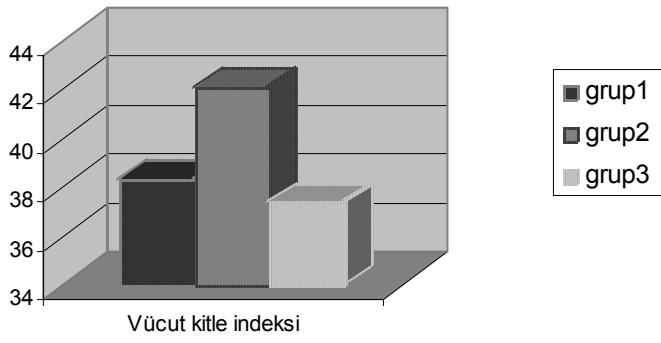
Hastalarda Grup 1 ve 2 karşılaştırıldığında vücut ağırlığı ( $p= 0,04$ ), BMI ( $p= 0,01$ ) ve bel çevresi ( $p= 0,05$ ) açısından istatistiksel olarak fark saptanmıştır ve vücut ağırlığı, BMI ve bel çevresi Grup 2'de daha yüksektir. Diğer tüm biyokimyasal ve hormonal değerler benzer tespit edilmiştir.

Hastalarda Grup 1 ve 3 karşılaştırıldığında antropometrik ölçümler, biyokimyasal parametreler ve hormonal değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır.

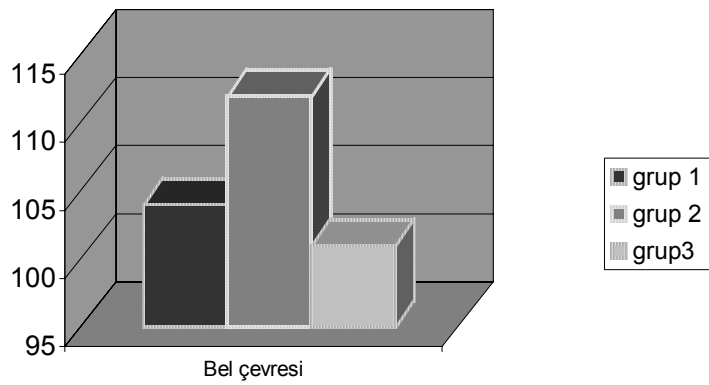
Hastalarda Grup 2 ve 3 karşılaştırıldığında Grup 2'nin bel ( $p= 0,02$ ), BMI ( $p=0,006$ ), ölçümleri ve yağ yüzde oranları ( $p=0,03$ ) daha yüksek bulunmuştur ve ileri düzeyde olmamakla birlikte istatistiksel olarak bu fark anlamlıdır. Yine Grup 2 'de TKŞ istatistiksel anlamlı olarak daha yüksektir ( $p= 0,03$ ).



**Şekil-1: Hasta grubunda farklı genotiplerde vücut ağırlığı**



**Şekil-2: Hasta grubunda farklı genotiplerde VKİ**



**Şekil-3: Hasta grubunda farklı genotiplerde bel çevresi**



Kontroller Grup 1 ve Grup 2 de sadece 1' er kişi bulunduğu için kontrol grubunda karşılaştırma analizleri yapılamadı.

Obez insülin direnci olan kişilerde (n:71) ve Kontrol grubunda Grup 3'lerin (n:28) tüm verileri karşılaştırıldığında vücut ağırlığı, BMI, bel çevresi, kalça çevresi, yüzde yağ oranı, AKŞ, TKOL, TG, HDL, LDL, AST, ALT, ÜA insülin değerleri istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmuştur ( $p<0.01$ ) (Tablo 6,7). Grup 3' te Kontrol grubunda bakılan yeterli sayıda TKŞ değeri olmadığı için bu açıdan karşılaştırma yapılamamıştır. Obez insülin direnci olan Grup 3'lerin ortalama TKŞ=108,86  $\pm$  24,69 idi. IGF-1 düzeyleri de hasta Grup 3'de (138,51 $\pm$ 49,3) Kontrol grup 3'e göre (218,14  $\pm$  69,15) istatistiksel olarak anlamlı düşük tespit edilmiştir ( $p=0,00$ ). İki grup açısından tiroid fonksiyonları, GH, IGFBP3 ve kortizol düzeyleri açısından ise bir fark gözlenmemiştir.

**Tablo 6:** Hasta Grup 3 ve Kontrol Grup 3 olguların antropometrik ölçümleri

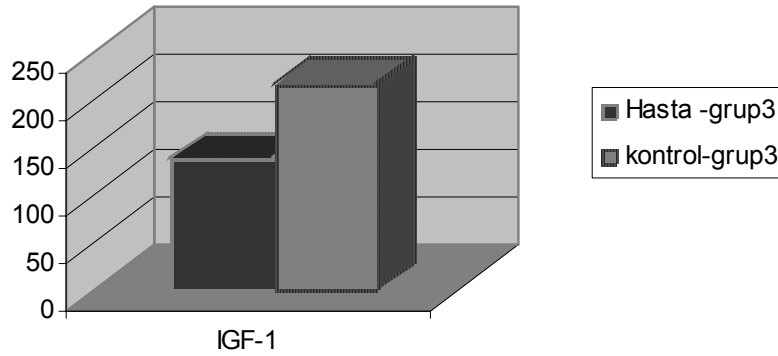
|                             | <b>BOY<br/>(m)</b> | <b>VÜCUT<br/>AĞIRLIĞI<br/>(kg)</b> | <b>BMI<br/>( kg/m<sup>2</sup>)</b> | <b>BEL<br/>(cm)</b> | <b>KALÇA<br/>(cm)</b> | <b>YAĞ<br/>(%)</b> |
|-----------------------------|--------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------|
| <b>Hasta<br/>(n=71)</b>     | 1,61 $\pm$ 0,8     | 98,3 $\pm$ 17,6                    | 37,4 $\pm$ 6,15                    | 101,78 $\pm$ 11,9   | 113,39 $\pm$ 10,1     | 41,64 $\pm$ 6,3    |
| <b>Kontrol<br/>( n= 28)</b> | 1,62 $\pm$ 0,8     | 56,27 $\pm$ 8,0                    | 21,86 $\pm$ 2,8                    | 69,34 $\pm$ 6,1     | 93,77 $\pm$ 6,8       | 23,13 $\pm$ 8,4    |
| <b>p</b>                    | 0,97               | 0,000                              | 0,000                              | 0,000               | 0,000                 | 0,000              |

p<0.05 anlamlı p<0.01 ileri derecede anlamlı

**Tablo 7:** Hasta Grup 3 ve Kontrol Grup 3 olguların biyokimyasal ölçümleri

|                 | Hasta ( n=71)  | Kontrol ( n= 28) | p     |
|-----------------|----------------|------------------|-------|
| AKŞ(mg/dl)      | 102,28 ±10,5   | 94,00 ± 7,86     | 0,000 |
| TKOL(mg/dl)     | 191,00 ± 42,18 | 159,09 ± 17,33   | 0,013 |
| TG(mg/dl)       | 158,21 ± 72,80 | 59,16 ± 13,61    | 0,000 |
| HDL(mg/dl)      | 47,36 ± 14,34  | 60,45 ± 11,10    | 0,001 |
| LDL(mg/dl)      | 112,60 ± 34,48 | 86,63 ± 17,48    | 0,009 |
| Krt(mg/dl)      | 0,73 ± 0,12    | 0,66 ± 0,11      | 0,043 |
| AST(IU/L)       | 23,17 ± 12,15  | 16,18 ± 4,47     | 0,002 |
| ALT(IU/L)       | 28,42± 22,98   | 14,82 ± 9,01     | 0,000 |
| ÜA(mg/dl)       | 5,55 ± 1,06    | 3,40 ± 1,04      | 0,007 |
| INS<br>(µIU/mL) | 17,47 ± 6,25   | 4,8 ± 2,17       | 0,000 |
| HOMA-R          | 4,44 ± 1,61    | 1,04 ± 0,45      | 0,000 |

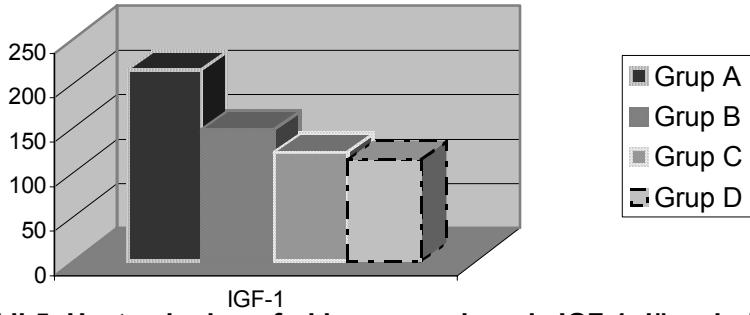
p<0.05 anlamlı p<0.01 ileri derecede anlamlı



**Şekil-4:** Hasta ve kontrol olgularında grup 3'ün IGF-1 düzeyleri

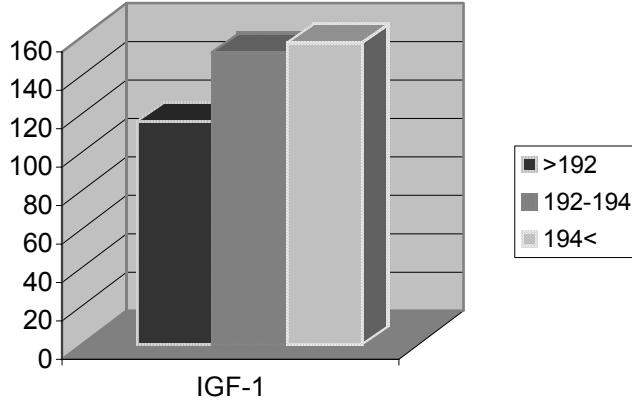
IGF-1 düzeylerinin yaşla da değişkenlik gösterebileceği bilinmektedir. Sonuçlarımızda farklı genotiplerde IGF-1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu sonuçta yaşla değişen IGF -1 düzeylerinin etkisini ortadan kaldırmak için tüm hasta grubu IGF-1 düzeyleri benzerlik teşkil eden aynı yaş grupları içinde tekrar değerlendirilmiştir: Buna göre Hasta Grubu 4 gruba ayrılmıştır, Grup A: 16- 24 yaş (n:8) ; Grup B: 25- 39 yaş (n:29) Grup C: 40-54 yaş (n:51); Grup D: 55 yaş üstü (n:13). Her grubun verilerinin birbirleriyle değerlendirilmeleri Kruskal- Wallis H analizi ile gerçekleştirilmiştir.

Tüm dört grubun antropometrik, biyokimyasal ve hormonal değerleri karşılaştırıldığında AKŞ değerleri ( $p=0,001$ ) ve IGF-1 düzeyleri ( $p=0,000$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanırken (Şekil-6); diğer tüm parametreleri benzerdi. Bu farklılığı yaratan grubun tayini için her grup birbiriyle ayrı ayrı değerlendirildiğinde grup C ile D arasında hiçbir parametre arasında fark gözlenmedi. Diğer taraftan Grup A ile B arasında AKŞ ( $p=0,016$ ) ve IGF-1 düzeyleri ( $p=0,003$ ) açısından anlamlı farklılık saptandı. Grup A ile C arasında ise AKŞ ( $p=0,002$ ), TKŞ ( $p=0,016$ ), TKOL ( $p=0,026$ ), insülin ( $p=0,028$ ), IGF-1 ( $p= 0,000$ ) ve IGFBP3 ( $p= 0,003$ ) arasında istatistiksel olarak fark gözlenmiştir.



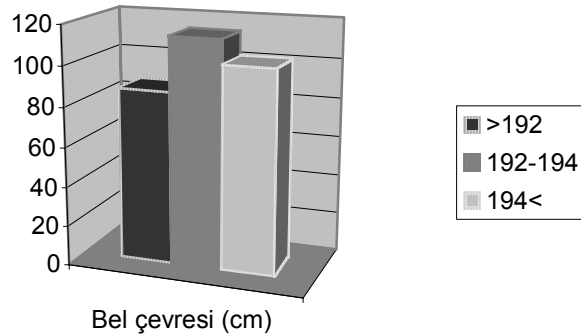
Şekil-5: Hasta olguların farklı yaş gruplarında IGF-1 düzeyleri

Her yaş grubunda farklı genotiplerde IGF-1 düzeyi ve diğer parametreler açısından fark olup olmadığını anlamak için Mann Whitney –U testi ile grupları değerlendirdik. Grup A’da ve Grup D’ de antropometrik parametreler, biyokimyasal ve hormonal değerler açısından her üç genotip arasında hiçbir fark gözlenmedi. Grup B ‘ de ise genotipler açısından genotip 1 ve 3 arasında sadece IGF-1 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktaydı ( $p= 0,015$ ) (Şekil-7).

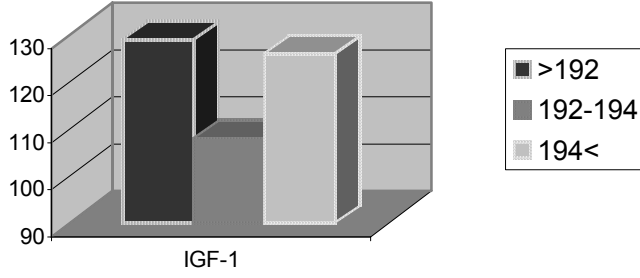


**Şekil-6: Grup B' de farklı genotip gruplarının IGF-1 düzeyleri**

Grup C'de ise farklı genotipler açısından bakıldığında grup 1' de bel çevresi her iki gruba göre istatistiksel olarak belirgin düşüktü. (Grup 2 ile karşılaştırıldığında  $p= 0,02$ , Grup 3 ile karşılaştırıldığında  $p= 0,01$ ) (Şekil-8). IGF-1 düzeyleri de yine Grup 2'de düşüktü; Grup 3 ile arasındaki fark istatistiksel anlamlılığa ulaşmazken, Grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlılığa ulaşan bir fark bulunmaktaydı (Şekil-9).



**Şekil-7: Grup C' de farklı genotip gruplarının bel çevreleri**



**Şekil 8: Grup C' de farklı genotip gruplarının IGF-1 düzeyleri**

IGF -1 düzeyleri vücut ağırlığı ( $p=0,000$   $r=-0,408$ ), BMI ( $p=0,000$   $r=-0,447$ ), bel çevresi ( $p=0,000$   $r=-0,507$ ), kalça çevresi ( $p=0,001$   $r=-0,338$ ) ve yağ yüzdesi ( $p=0,000$   $r=-0,483$ ) ile negatif bir ilişki göstermekte idi. IGF-1 düzeyleri ile AKŞ ( $p=0,004$   $r=-0,258$ ), AST ( $p=0,03$   $r=-0,205$ ), ÜA ( $p=0,02$   $r=-0,260$ ) düzeyleri arasında negatif bir ilişki tespit edildi. IGF-1 ile TSH ( $p=0,01$   $r=0,231$ ), IGFBP3 ( $p=0,000$   $r=0,420$ ), kortizol ( $p=0,004$   $r=0,262$ ) arasında pozitif bir ilişki, insülin ( $p=0,02$   $r=-0,280$ ) ile negatif bir ilişki bulunmaktaydı.

IGFBP3 ile total kolesterol ( $p=0,01$   $r=0,335$ ), TG ( $p=0,000$   $r=0,428$ ), LDL ( $p=0,03$   $r=0,214$ ), arasında pozitif bir ilişki mevcuttu.

## TARTIŞMA

Bizim çalışmamız, Türk toplumunda Denizli bölgesinde obez insülin direnci grubunda IGF-1 gen polimorfizminin araştırıldığı ilk çalışmadır. Çalışmamızda obez insülin direnci olan grupta kontrol grubuna göre IGF-1, GH, kortizol düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük saptandı. IGF-1 düzeyleri ile BMI, vücut ağırlığı, bel çevresi arasında negatif bir ilişki bulundu. Yine insülin seviyesi ve insülin direnci arttıkça IGF-1 düzeyinde düşüş saptandı.

Obezitede, GH verimindeki azalmanın nedeni tam olarak açıklanamamıştır. Değişen GH salgılanmasının, IGF-1 ve bağlayıcı proteinlerindeki değişikliklerden kaynaklandığı öne sürülmüştür. IGF-1 sentezi insülin tarafından uyarılır ve obezitedeki hiperinsülinemi, IGF-1 üretimini doğrudan uyarıp, bir negatif geribeslenme mekanizması ile hipofizdeki GH üretimini baskılayabilir. IGF-1'in negatif geribeslenme etkisi kültürdeki hipofiz hücrelerinde gösterilmiştir (109). Ancak birçok yazar, obez erişkinlerin dolaşımındaki IGF-1 düzeylerinin normal olduğunu bildirmişlerdir (111). Tersine, IGF bağlayıcı proteinler 1 ve 3 (IGFBP-1, IGFBP-3) düzeyleri obezitede azalır ve IGFBP-1'in plazma konsantrasyonları, açlık plazma insülini ve bel/kalça oranı ile ters ilişki gösterir (112). IGFBP-1 düzeyinin azalması, IGF-1'in biyolojik aktivitesindeki artışın, hipotalamohipofizer aks üzerinde negatif geribeslenme etkisi göstererek, GH salımını baskılayabileceğini düşündürmektedir. IGF-1, GH ve insülinin, pre-adipositlerin adipositlere dönüştürülmesini promote ettiklerinin gösterilmiş olması ve bu nedenle, üst vücut yağ depolanmasında rol oynama olasılıkları ilgi çekicidir. Dahası, anlamlı bir ağırlık azalması, insülin, GH, IGF-1 ve IGF bağlayıcı proteinlerin bildirilen değişikliklerini geri döndürecektir (113).

Erişkin artmış viseral obezitesi olan kişilerde GH tedavisinin kullanımının da vücut kompozisyonunu yeniden yapılandığı ve insülin sensitivitesi ve lipoprotein metabolizmasını da düzelttiği gösterilmiştir. Bu çalışmada sonraki glukoz toleransı durumu takip edilmemiştir (62). Erişkin büyüme hormonu eksikliği genellikle düşük IGF-1 seviyeleri ile ilişkilidir ancak

insülin direncinin azalmış IGF-1 seviyelerinin sonucu mu yoksa azalmış GH etkisinin sonucu mu olduğu net değildir (113). Erişkin GH eksikliğinde insülin direncinin moleküler mekanizmaları net değildir. Erişkin GH eksikliğinde glikojen depoları azalmış ve insüline bağımlı glukoz kullanımı % 50-64 azalmıştır. Glukolitik akım ve glikojen sentezi bazalde normaldir ancak bu yolların insülin aktivasyonu azalmıştır (114).

Doku düzeyinde, IGF-1 ve insülin farklı etkilere sahiptir. Yağda ve karaciğerde insülin yağ asidi metabolizmasını ve trigliserid sentezini regüle eder ancak bu IGF-1 'in fizyolojik konsantrasyonlarında olmaz. İskelet kasında her iki hormonunda reseptörleri vardır ve her ikisi de iskelet kasında protein sentezi ve hücre hipertrofini stimüle edebilir. Ancak IGF-1 myoblastlar için daha potent bir mitojendir. Buna karşılık insülinin egzersiz sonrası glukoz harcanımında daha önemli bir rolü vardır. Normal koşullarda serbest IGF-1 seviyeleri insülin reseptör aktivasyonu sağlayacak kadar yüksek değildir. Benzer şekilde insülinin IGF-1 reseptöre bağlanma afinitesi IGF-1 'e göre 100 kat daha azdır, dolayısıyla fizyolojik koşullarda IGF-1 reseptörlerini aktive etmezler. Her iki reseptör de insülin reseptör subtrat -1 ve -2 yi aktive eder ancak ilişkili sinyalizasyon yolları farklıdır (103).

IGF-1 'in kendi reseptörlerine ek olarak hibrid reseptörler aracılığı ile de etki ettiği gösterilmiştir. IGF-1 'in bu heterodimer reseptörlere bağlanma afinitesi insülininkinden fazladır ve öncelikle IGF-1 tarafından stimüle edilirler. IGF-1'in bu reseptörlerin daha fazla bulunduğu iskelet kası ve plesanta gibi dokularda glukoz hemostazı üzerindeki etkilerinin bu reseptörler aracılığı ile mi olduğu bilinmemektedir. Önemli bir nokta da insülin direnci gibi patofizyolojik durumlarda bu reseptörlerin sayısı belirgin olarak artmıştır ve IGF-1 'in potansiyel olarak glukoz metabolizmasını etkileme kapasitesini değiştirmiştir. IGF-1 uygulanması iskelet kasında insüline postprandial cevabı artırır ve BH salınımını baskılayarak insülinin hepatik glukoneogenezi baskılanmasını artırır (103).

In vivo klempt çalışmaları açlık durumunda IGF-1 verilmesi insülin sensitivitesini düzeltir ve bu genellikle suprafizyolojik dozlarda IGF-1 verildiğinde insülin sensitivitesinde 2-2.5 kat artışla sonuçlanır. IGF-1 reseptörünün fare manipulasyon çalışmaları IGF-1 'in başka etkilerinin de olabileceğini göstermiştir. İskelet kasında IGF-1 reseptör delesyonu farelerde glukoz toleransında belirgin bozulmaya sebep olmuştur. Bu fareler de altı ay içinde diabetes mellitus gelişmiştir. Yakın zamanda yapılan insan çalışmaları da glukoz hemostazında IGF-1 'in rolünü öngördürür (69).

Çalışmamızda obez insülin direnci olan kişilerde AKŞ ile IGF-1 arasında negatif bir ilişki mevcuttu. Tip 1 DM 'li hastalarda IGF-1 ve bunun daha uzun ömürlü olmasını sağlayan IGFBP3'ün birlikte uygulanmasının şeker regulasyonunun sağlanmasında etkin olduğu görülmüştür. Bu çalışma GH'nun suprese edildiğini net olarak göstermektedir ve bu da insülin sensitivitesinin düzelleme mekanizmalarından biri olabilir. Tip 2 DM'li hastalarda da sadece IGF-1 veya IGF-1/IGFBP3 verilmesi sonucunda insülin sensitivitesinde düzelleme gözlenmiştir ve bu etki sadece kullanılan insülin dozunun arttırılması ile sağlanamaz. Bu çalışmalarda C-peptid düzeylerinin ölçülmesi IGF-1 infüzyonu sonrasında endojen insülin salınımının baskılandığını göstermiştir (103,106,108). Diğer bir çalışmada sağlıklı erkeklere rh IGF-1 verilmesi sonrasında insülin ve C-peptid seviyeleri azalmış ancak glukoz toleransında bir değişiklik olmamıştır. Dolayısıyla rhIGF-1 glukoz harcanımını düzeltmekte ve aynı zamanda azalmış insülin seviyeleri ve baskılanmış GH salınımı ile doku insülin sensitivitesini arttırmaktadır. Ayrıca oral glukoz tolerans testi (OGTT) sırasında azalmış insülin seviyelerine rağmen IGFBP3 'ten serbest IGF-1 ayrılmasının artması sonucu glukoz toleransı sürdürülmektedir. Etki mekanizmasından bağımsız olarak rhIGF-1 insülin rezistansının olduğu obezite, tip 2 DM, hiperlipidemi gibi durumlarda tedavi edici bir yol olabilir (115). Yaşları 45-60 değişen normoglisemik kadın ve erkeklerde yapılan başka bir kohort çalışmada IGF-1 düzeyleri ile bozulmuş glukoz toleransı (BGT) ve tip 2 DM gelişimi arasında ilişki gösterilmiştir. Ortalamanın üzerinde IGF-1 seviyeleri olan kişilerde BGT/tip DM gelişme riski düşük bulunmuştur (116).



Bu veriler IGF-1 deki genetik farklılıkların düşük doğum ağırlığı, erişkin boy, artmış tip 2 DM riski ile ilişkili olup olamayacağı sorusunu gündeme getirmiştir. Bu hipoteze destek IGF-1'deki ortak mikrosatelit polimorfizmini gösteren yakın bir çalışmadan gelmiştir (8). Alman Caucaisan'lardaki bu çalışmada IGF-1 gen polimorfizmi sıklığı % 12 olarak saptanmıştır. Bu polimorfizm IGF-1 düzeylerinde % 40 azalmaya sebep olmuştur. Polimorfizmi olan hastalar kontrollerden 2.5 cm daha kısadır ve 60 yaşından sonra diabetes mellitus gelişme riski 2.2 kat daha fazladır (8). Artmış tip 2 diabetes mellitus riskine ek olarak 60 yaşından sonra 3.4 kat artmış myokard infarktüsü prevalansına sahiptirler. Wild tip alleli (192bp) taşımayan kişilerde IGF-1 seviyeleri daha düşük, daha kısa boylu ve artmış tip 2 DM riski mevcuttur. Bu çalışmadaki ana bulgulardan biri de bu allelin yokluğu tip 2 DM ve Mİ riskinin artmış olmasıdır. Özellikle tip 2 DM' li hastalarda Mİ'nin rölatif riski 192-bp alleli taşıyıcı olmayanlarda belirgin artmıştır. Ancak daha sonra yapılan çalışmaların sonuçları net değildir. Frayling ve arkadaşlarının vaka kontrollü çalışmalarında erken tip 2 DM'li 348 hasta ve 363 kontrol grubu araştırılmıştır. Bu çalışmada kişiler İngiliz kökenli iken Vaessen ve ark Alman kökenli kişileri seçmişlerdir. Vaessen ve arkadaşlarının aksine IGF gen polimorfizmi olan kişilerde IGF-1 düzeylerinin etkilenmediği yönünde bir bilgi edinilmiştir. Özellikle Alman çalışmasının aksine bu polimorfizm ile erişkin boyu arasında da bir fark bulunmamıştır ( $p=0.23$ ). Açlık ( $p=0.84$ ) ve OGTT sonrası 2. saatte glukoz ( $p:0.84$ ), insülinojenik indeks ( $p=0.90$ ), açlık insülini ( $p:0.34$ ) ile de IGF-1 gen polimorfizmi arasında bir ilişkinin bulunmaması, IGF gen polimorfizminin tip 2 diabetes gelişiminde rolüne bir destek oluşturamamıştır. Ancak bu çalışmadaki kişiler glukoz toleransında değişikliklerin gözlenebilmesi için oldukça küçük bir yaş ortalamasına sahiptirler (117).

Rasmussen ve ark Danish tip 2 diabetik hastaların genomik DNA' larında IGF-1 ve IGF-IR kodlama bölgelerinin mutasyonel analizini rapor etmişlerdir (118). IGF-1 veya IGF-IR genlerin amino asit dizilimlerinde mutasyon saptanmamış, ancak birçok sessiz ve intronik polimorfizm

bulunmuştur. En sık görülen polimorfizm olan GAG1013GAA'nın etkisi 349 sağlıklı kişiden oluşan popülasyonda incelenmiş, allel sıklığı 0.44 bulunmuştur. Bu varyantla doğum ağırlığı, doğum boyu ve insülin sensitivitesi arasında bir ilişki saptanmamıştır. Ek olarak 395 tip 2 diyabetik hastada (allel sıklığı 0.52) ve 238 glukoz toleransı olan kontrol grubunda (allel sıklığı 0.47) 1013 kodon varyant sıklığı arasında da fark yoktur. Sonuç olarak IGF-1 ve IGF-IR kodon alanların farklılığı düşük doğum ağırlığı, insülin sensitivite indeksi veya tip 2 diyabetle ilişkili değildir (118).

Vaessen ve arkadaşlarının Rotterdam çalışmasındaki popülasyonda 192-bp alleli kişilerin %88' inde bulunmaktaydı (8). Bu sonuç Caucasian popülasyonundan yapılan diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Rosen ve ark.'nın çalışmasında ise 192-bp için homozigot kişilerde taşıyıcı olmayanlara göre IGF-1 seviyeleri daha yüksektir. Ancak bu çalışma kronik göğüs ağrısı, idiopatik osteoporoz, vücut kitlesi üzerine oluşan çalışma grubu hastalarından oluşan küçük ve oldukça selektif bir hasta grubundan oluşmaktadır (71).

Finlandiya Diabet Önleme çalışma grubu hastalarında yapılan çalışmada, erken insülin sinyalizasyon yolunun regülasyonunda etkili genlerdeki polimorfizmin vücut ağırlığı değişimi ve tip 2 diabet gelişimi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Takip sonunda tedavi grubunun kontrol grubuna göre daha fazla kilo kaybettiği, ancak tedavi grubu ve kontrol grubu içinde kilo değişikliği açısından genotipler arasında fark gözlenmediği rapor edilmiştir. Ancak tedavi ve kontrol grubu karşılaştırıldığında tedavi grubunda tip 2 diabet için risk kabul edilen IGF-1R gen polimorfizmi (GAA1013GAA) olanların belirgin kilo kaybedemedikleri, dolayısıyla tip 2 diabet için risk oluşturan genlerin kilo verme becerisini de regüle ettiğinin söylenebileceği ifade edilmiştir (119). Rasmussen ve ark. nın aksine bu çalışmada IGF-IR gen genotipleri arasında açlık insülin seviyeleri arasında fark bulunmamıştır. Ancak onların bulgularıyla uyumlu olarak tüm kişilerde üç yıllık takip sonunda BGT'dan DM'ye dönüşüm heterozigotlarda belirgin olarak daha düşük bulunmuştur (118).

Rietveld ve ark dolaşımdaki IGF-1 seviyeleri için 192-bp ve 194-bp için bir optimum olduğu ve 192bp den küçük ve 194 bp den büyük allellerin varlığında IGF-1 seviyelerinin daha düşük olduğunu göstermişlerdir (69). Yine genotipe özel yaşa bağlı dolaşan IGF-1 ve IGFBP3 seviyelerindeki düşüş sadece 192 bp homozigot taşıyıcılarda gözlenmiştir. Bu da sadece 192 bp varlığında dolaşan IGF-1 seviyelerinin GH salgılanmasından etkilendiğini, ancak bu allelerin birinin veya hiçbirisinin varlığında yaşlılarda bu ilişki bulunmadığını göstermiştir (120).

Landmann ve ark 192 bp allelinin yokluğunun çocukların ilk bir yıl içinde hızlı kilo alımı için bağımsız bir risk faktörü olduğunu ortaya koymuşlardır. Bunun mekanizması net değildir. Bu polimorfik alan transkripsiyon alanına çok yakın olduğu için, allelik varyasyon promoter da farklılığa yol açıp IGF-1'in transkripsiyonunu etkileyebilir. Alternatif olarak polimorfizmin diğer bir regülatuar protein ile *linkage disequilibrium* da olduğu ve IGF-1 transkripsiyonunu etkilediği hipotezi ortaya konmuştur (121).

IGF-1 promoter polimorfizminin çalışıldığı 450 vakadan fazla olguyu içeren çalışmalarda 19 CA tekrarı allel sıklığı % 55.5 ile % 88, homozigot taşıyıcılar için genotip sıklığı % 37.3 ve % 46.8 arasında bulunmuştur. Çok kişiyi içeren büyük çalışmalarda küçük çalışmalara göre wild tip allelin homozigot taşıyıcıları için daha dar bir sıklık aralığı gözlenmiştir. Dolayısıyla küçük örneklemliler çalışmaları sonuçlarının, çalışma dizaynından bağımsız olarak popülasyon özelliklerinden sapması beklenebilir (122).

Bizim çalışmamızda da IGF geni farklı allellere göre hem insülin direnci olan hasta grubunda hem de kontrol grubunda IGF-1gen 194bp den daha büyük olanlar daha sık gözlenmiştir, Ancak üç ayrı genotip arasında IGF-1 serum düzeyleri arasında hiçbir fark gözlenmemiştir. Dolayısıyla IGF-1 gen polimorfizminin küçük bir popülasyondaki sonucunda IGF-1 serum düzeylerini etkilemediği söylenebilir.

IGF gen varyasyonu ve tip 2 DM hakkındaki birbiriyle çelişen verilerin sebebi birkaç faktöre bağlı olabilir (116). IGF-1 promoter wild-tip alleli ve diğer uzunluktaki allelerin arasında fonksiyonel farklılık olmayabilir; mikrosatellit ilişkiler diğer bir fonksiyonel varyantla *linkage disequilibrium* gösterebilir ve bu da populasyonlar arasında farklı olabilir. Yine farklı populasyonlardaki farklı çevresel faktörler de farklı bulgulara sebep olabilir. Ayrıca çalışma grupları küçük olup yanlış negatif veya pozitif sonuçlarla sonlanmış olabilir.(117).

Bizim çalışmamızda Türk toplumunda Denizli bölgesinde obez insülin direnci grubunda IGF-1 gen polimorfizminin araştırıldığı ilk çalışmadır. Ancak hasta sayısının bir popülasyondaki polimorfizm sıklığını yansıtmak açısından sınırlı olduğu da gerçektir.

Daha sıklıkla rastlanan >194 bp IGF-1 allel grubunda IGF-1 serum düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, obez grubunda IGF-1 düzeyleri istatistiksel olarak belirgin anlamlılıkta düşük saptanmıştır. Dolayısıyla IGF-1 düzeyinin düşüşüne sebep olan faktörün IGF gen polimorfizmi değil obezitenin ve/ veya IR' nin etkisi olduğu söylenebilir.

İnsülin etkisinde reseptör veya postreseptör düzeyinde primer bozukluk olan hastalarda ciddi insülin direnci olur ve bu insülin tedavisine cevap vermeyen ciddi DM'a sebep olur. Bu hastalarda rhIGF-1 kullanımı ile ilgili çalışmalarda glisemik kontrolde düzelme ve insülin dozunda azalma gözlenmekle birlikte kullanılan rhIGF-1 dozu ve yan etki profili yüksek olmuştur. Glukoz seviyesindeki bu düşüşün mekanizması insanlarda çalışılmamıştır. İnsülin reseptörü eksik olan fare deneyleri muhtemel bir mekanizmayı düşündürmüştür. Bu modelde, IGF-1 reseptörlerinin fosforilasyonuna yol açmış ve karaciğer ve iskelet kasında PI3-kinaz p85 subunit konsantrasyonunu arttırmıştır. Bu da PI3 –kinaz bağımlı bir yolla IGF-1 reseptör aracılığıyla IGF-1'in glukoz alımını stimüle ettiğini düşündürür. Ancak IGF-1 'in bu hayvanların ölümünü engelleyememesi IGF-1 'in insülin

reseptörlerinin tüm metabolik etkilerini yönlendiremediğini gösterir (60,109,123).

IGF-1 geninin farklı dokularda çalışılması farklı görüşlerin oluşmasını sağlamıştır. IGF-1 geni özellikle karaciğerde *knock out* olursa serum IGF-1 seviyeleri % 15-25 *wild-* tip hayvanlara göre azalır ve GH 6 kat artar. Karaciğer IGF-1 eksik hayvanlarda açlıkta ve glukoz yükleme sonrası glukoz seviyeleri normallere göre benzerdir ancak hiperinsülinemiktir ve insülin dirençleri vardır. İlginç olarak, *wild-*tip farelere göre daha zayıftırlar. Bu bilgi IGF-1 'in glukoz hemeostazındaki rolünü göstermesine rağmen insülin direncinin direk serum IGF-1 deki düşüşten mi kaynaklandığı veya indirek olarak GH hipersekresyonu veya vücut yapısı değişikliklerinden mi kaynaklandığı net değildir (114).

Tip A insülin direnci olan üç hastaya rhIGF-1 intravenöz bolus enjeksiyonlar şeklinde verilmiştir, Bu hastalar 6-8 saat içinde hipergliseminin yavaş normalizasyonunu göstermişlerdir. Ancak glukozun düşüş eğrisi normal kişilere göre daha az eğimlidir. Rabson-Mendenhall sendromu olan kişilerde de benzer cevaplar elde edilmiştir. Bu sonuçlar IGF-1 etkilerinin IGF reseptörleri aracılığıyla iletildiğini ve IGF-1 'in insülin reseptörleri ile kross-reaksiyonu sonucu olmadığını öngördürür. IGF-1 tedavisi sırasında tüm insülin direnci olan kişilerde metabolik kontrolde düzelme gözlenmemiştir. IGF-1 'in insülin direnci olan hastalarda glukoz metabolizması üzerine etkileri sendromun kendisi kadar heterojendir (3).

BH insensitivitesi olan kişilere 12 ay IGF-1 verilmesi sonrası ise ortalama olarak vücut yapısında (BMI, bel kalça oranı) ve üç yağ tabakasında önemli bir değişiklik olmamıştır (118). Ancak geçmiş yıllarda yağ kitlesi için daha yüksek değerler bildirilmiştir. Bu da IGF-1 'in anti-lipolitik etkisini ve pre-adipositleri üretme yeteneğini ortaya koymaktadır. Bir kişide de rh IGF-1 replasmanı sonrası yağ kitlesinde dramatik bir alma gözlenmiştir (61).

Sağlıklı gönüllülerde IGF-1 tedavisi, insülin, C-peptid ve GH seviyelerinde düşmeye sebep olmuştur. Üç farklı subkutan doz sonrası glukoz ve tolerans testinde bozukluk olmamış, ancak insülin salınımında doza bağımlı düşme olmuştur. Bu da IGF-1 'in insülin koruyucu etkisi olarak adlandırılmıştır ve IGF-1 tedavisi sırasında insülin sensitivitesinin artmasından dolayı olabilir (3). Bu etki birkaç farklı mekanizmadan dolayı olabilir: IGF-1 'in hedef dokulardaki direk etkisi, azalmış GH'nundan dolayı indirek bir etki veya insülin seviyesindeki azalma sonrası insülin reseptörlerinin upregulasyonu ve sonuçta artmış insülin sensitivitesi olabilir (3). Yine BH eksikliği olan kişilerde IGF-1 'in BH ile birlikte verilmesi BH tarafından tetiklenen insülin rezistansı IGF-1 tarafından parsiyel de olsa geri döndürülmektedir (3). Bu bilgi IGF-1 'in BH seviyelerini düşürmekten bağımsız olarak insülin sensitivitesi üzerinde direk etkileri olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Bir çalışmada karaciğer spesifik IGF-1 eksik fare (LID fare) modelinde hem artmış BH hem de BH inaktivasyonunun etkisi analiz edilmiştir. LID farelerde artmış BH 'nunun (azalmış dolaşan IGF-1'e bağlı) insülin etkisini periferel dokuda antogonize ettiği ve böylece insülin insensitivite ve insülin direncine yol açtığı gösterilmiştir. Azalmış IGF-1 seviyeleri ile birlikte GH etkisinin inaktive edilmesi artmış insülin sensitivitesi durumunu oluşturmakta ve bu da azalmış kan glukozu ve insülinin, azalmış insülin toleransı ve kas ve yağ dokusunda insüline bağımlı artmış glukoz alımı olarak görülmektedir (57,118). Bu veriler göstermektedir ki, LID farelerde kronik BH yüksekliği insülin direncinin ana sebebidir. Bulgular ayrıca IGF-1 'in insülin etkilerinin sensitizasyonunda daha az bir role sahip olduğunu, ancak aslında dolaşan GH ve insülin etkileri arasındaki ince dengenin ve dolayısıyla karbonhidrat ve lipid metabolizmasının sürdürülmesinde rol aldığını göstermektedir (57,124).

IGF'ler pankreatik  $\beta$  hücresinde hücre devamı ve ölümü arasındaki hassas ayarda da önemlidir. B hücre replikasyonu ve apoptozis arasında dengenin bozulması  $\beta$  hücresinin düzeninin değişmesine ve sonuçta  $\beta$  hücre yetmezliğine yol açabilir.  $\beta$  hücre spesifik IGF-1 reseptör knock-out farelerde

glukoz-bağımlı insülin salınımının hem birinci hem ikinci fazının hemen hemen kaybolduğu gösterilmiştir.  $\beta$  hücre kütlesi kaybolmadığına göre bu IGF-1 reseptör içermeyen hücrelerinin glukozu fark etme kapasitelerinin değişmesinden kaynaklanıyor olabilir. Bu da IGF-1 ve IGF-2 deki genetik defektlerin insanlarda glukoz bağımlı insülin salınımını değiştireceği spekülasyonunun gündeme getirmiştir. Ön bilgiler IGF-1 ve IGF-2 gen varyantları taşıyıcılarında salınım defekti olduğunu düşündürmektedir (125).

't Hart ve ark, gen varyasyonları ile ilişkili olarak glukozla stimüle edilen insülin salınımını araştırmışlardır (125). IGF genindeki iki gen varyantının Almanlarda hiperglisemik klem sırasında glukozla stimüle edilen insülin salınımının derecesi ile ilişkili bulunmamıştır. Bu IGF-1 ve IGF-2 genindeki varyasyonlarla ilgili olarak IGF seviyelerindeki ufak değişikliklerin glukozla stimüle edilen insülin salınımını etkilemediğini göstermektedir. Diğer bir gerçek de IGF-1 seviyeleri ile glukozla stimüle edilen insülin salınımı arasında da bir ilişki bulunmamasıdır. Normal glukoz toleransı veya bozulmuş glukoz toleransı olan üç farklı popülasyondan kohortlarda incelenmiştir. Bu popülasyonun sınırlı sayıdaki kişisi de tip 2 diyabetik kişilerin birinci derece yakını olan ve bozulmuş glukoz toleransı olan kişilerden oluşmaktadır. Eğer IGF genindeki mutasyonun glukozla stimüle edilen insülin salınımını etkilediği farz edilirse, bunun bu yüksek risk grubunda ilk gözlenen bulgu olacağı beklenmektedir. Ancak ilk faz insülin salınımında bir değişiklik gözlenmemiştir. Ancak insülin salınımındaki değişikliklerin ancak örneğin aşırı beslenme sırasında olduğu gibi glukoz hemostazındaki stresten sonra aşırı hale gelebileceği olasılığı ekarte edilememiştir. Daha önce IGF-2 gen varyantlarında 100 günlük aşırı beslenme sonrasında OGTT sırasında insülin cevabındaki değişiklikler gösterilmiştir (125). Bu çalışmada ayrıca IGF-1 geninde CA tekrarlayan polimorfizmi ile azalmış insülin sensitivite indeksi (ISI), *disposition indeks*(DI) arasında ilişki gözlenmiştir. Bu da insülin sensitivitesi ve salınımı arasındaki ilişkinin değişmiş olabileceğini öngördürür. Düşük DI  $\beta$  hücresinin insülin sensitivitesindeki değişikliklere etkin bir şekilde adapte olamadığının bir göstergesidir. İnsülin etkisinin bozulduğu obezite gibi durumlarda bu durumun

glukoz hemostazın daha fazla bozulmasına ve sonuçta tip 2 diabetes gelişimine sebep olacağı düşüncesi ikna edicidir. Ancak IGF-1 promoter CA *repeat* normal taşıyıcı olmayanların da durumunun bu olup olmadığı bugüne dek bilinmemektedir (125).

Düşük IGF-1 seviyeleri tip 2 diabette vasküler komplikasyonların gelişmesinde de rol alıyor olabilir. IGF-1 ayrıca kardiyovasküler fonksiyonlarının regülasyonu ve tip 2 diabetik olmayan kişilerde myokard enfarktüsü (MI) gelişiminde de rol alabilir, ancak birçok çalışma dolaşımdaki IGF-1 seviyeleri ve kardiyovasküler hastalık ilişkisi hakkında çelişen sonuçları ortaya koymuştur. Hastalıkların oluşumunda dolaşan IGF-1 seviyeleri myokard veya pankreatik beta hücre gibi spesifik dokulardaki lokal IGF-1 üretimini yansıtmayabilir. Genetik polimorfizm çalışması genetik bazda sürekli kronik düşük IGF-1 seviyelerine maruz kalan tüm vücutta oluşacak patolojileri tanımlama fırsatı verecektir. (8) Bu çalışmadaki ana bulgulardan biri de bu allelin yokluğu tip 2 DM ve MI riskinin artmış olmasıdır. Özellikle tip 2 DM'li hastalarda MI 'ın rölatif riski 192-bp alleli taşıyıcı olmayanlarda belirgin artmıştır Bu çalışmada bu polimorfizmin IGF-1 ekspresyonunun regülasyonunda kendisinin mi rol aldığını, yoksa IGF-1 ekspresyonunda fonksiyonel olarak yer alan promoter bölgedeki başka bir polimorfizmi mi etkilediği net değildir. Ayrıca bu genetik yaklaşım kesitsel çalışmalarda ayırt edilemeyen düşük IGF-1 seviyelerinin hastalığın sonucu mu, yoksa sebebi mi olabileceği yönündeki problemin üstesinden gelecektir(8). 192-bp allel için taşıyıcı olmayanlarda Tip 2 DM ve Mİ için artmış risk IGF-1 ekspresyonundaki hayat boyu orta düzeydeki değişikliklerin hastalık riski ile biyolojik olarak ilişkili olabileceğini ortaya koymuştur. Mİ ve tip 2 DM arasındaki ilişki düşünülürse IGF-1 promoter bölge polimorfizmi hastalıkların bir araya toplanmasını açıklayabilir. Eğer bu bilgi diğer çalışma gruplarınca da tekrarlanacak olursa bu tip 2 DM 'li hastaların içinde artmış Mİ riski olan hastaları belirlemeyi ve bunları IGF-1 metabolizmasını etkileyen spesifik tedavilerden fayda görebileceğini öngörmektedir (8).



IGF-1 gen polimorfizmi 192-bp taşıyıcı olmayanlarının ayrıca LVH (sol ventrikül hipertrofisi) gelişimine daha yatkın olduğu bulunmuştur. Bu myokard hasarına cevapta remodeling in rölatif IGF-1 eksikliğinden dolayı bozuk olmasından olabilir (126) . Yine başka bir çalışmada da 192 bp ve 194 bp IGF-1 gen allelerinin taşıyıcı olmayanlarında daha düşük IGF-1 düzeyi ve daha yüksek kalp yetmezliği riski tespit edilmiştir (127). Mİ geçiren hastalardan IGF-1 gen promoter bölge polimorfizmi olanların mortaliteleri de daha fazla bulunmuştur (128). Schut ve ark da IGF gen polimorfizmi ile intima media kalınlık arasında bir ilişki saptamışlardır ve bu ilişki hipertansif kişilerde daha da belirgindir. Bu da IGF geninin aterosklerozdaki rolünü ortaya koymaktadır (129) .

Farklı genotipler arasında bir farklılık gözükmemekle birlikte 192-194 bp genotipinin diğer gruplara göre bel çevresi, BMI, ve vücut ağırlığı ölçümleri daha yüksektir. Bu genotip varlığının obeziteye yatkınlık oluşturup oluşturmadığının anlaşılması için daha geniş populasyon gruplarını içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

## SONUÇLAR

1. Obez insülin direnci olanlarda IGF-1 ve GH düzeyleri normal kişilere göre daha düşüktür.
2. Obez insülin direnci grubunda ve kontrol grubunda en sık gözlenen IGF-1 gen polimorfizmi > 194 bp'dir.
3. Farklı IGF-1 genotipleri arasında IGF-1 serum düzeyleri açısından bir fark saptanmamıştır, Ayrıca diğer biyokimyasal ve hormonal değerler açısından da fark yoktur. Metabolik sendromun komponentleri ile arasında bir ilişki saptanmamıştır.
4. Yalnız 192-194 bp genotipe sahip grupta bel çevresi, vücut ağırlığı ve BMI ölçümleri diğer genotiplere göre daha yüksektir.
5. Obezlerde IGF-1 düşüşüne sebep olan IGF-1 gen polimorfizmi dışında başka bir faktör gibi gözükmemektedir ve bu IR olabilir. Bunu ortaya koyabilecek daha geniş popülasyonları içeren kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

## ÖZET

### Obez insülin direnci olan hastalarda IGF- 1 gen polimorfizmi

Dr Güzin Fidan Yaylalı

**AMAÇ:** IGF'ler pankreatik  $\beta$  hücre gelişimi, büyüme ve devamlılığı için önemli düzenleyicilerdir. IGF genindeki mutasyonlar tip 2 diabet, myokard enfarktüsü, doğum ağırlığı ve obezite ile ilişkili bulunmuştur. Bu ilişkinin temelinde insülin duyarlılığı yer alıyor olabilir. Biz bu çalışmada obez insülin direnci olan hastalarda IGF-1 gen polimorfizmini araştırdık.

**METOD:**Araştırmaya Pamukkale Üniversitesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Polikliniğinde tanı alan 101 obez insülin direnci olan hasta (77'si (% 76,2) kadın, 24'ü (% 23,8) erkek, yaş ortalamaları  $42,8 \pm 11,8$  yıl) ve 30 sağlıklı kişi (27'si (% 90,3) kadın, 3'ü (% 9,7) erkek ,yaş ortalamaları  $40,8 \pm 9,8$ ) dahil edildi. Vakalar Eylül 2007 ve Aralık 2007 tarihleri arasında toplandı. Antropometrik ölçümler, biyokimyasal ve hormonal değerlendirmeler yapıldı. DNA izolasyonu için kan örneği alındı ve DNA izolasyonu yapılarak PCR ile çalışıldı.

**BULGULAR:** Hasta ve Kontrol Grupları'nın tiroid fonksiyonları ve IGFBP3 düzeyleri arasında bir farklılık gözlenmezken, obezlerde IGF, GH düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. IGF-I (CA)<sub>19</sub> polimorfik bölgenin analizi değerlendirildikten sonra alleler 192-bp 'den daha kısa (Grup 1), 192-194 bp(Grup 2) ve 194-bp'den daha uzun (Grup 3), olmak üzere değerlendirildi Hem Hasta hem de Kontrol Grubu'nda Grup 3 belirgin olarak daha sık gözlenmekteydi. Kontrol grubunda 1 hasta Grup 1, 1 hasta Grup 2 ve 28 hasta Grup 3'te yer almakta idi. Hasta (n:71) ve Kontrol Grubu'nda Grup 3'lerin (n:28) tüm verileri karşılaştırıldığında antropometrik, biyokimyasal ve hormonal değerler istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmuştur. IGF-1 düzeyleri de Hasta Grup 3'te ( $138,51 \pm 49,3$ ) Kontrol Grup 3'e göre ( $218,14 \pm 69,15$ ) istatistiksel olarak anlamlı düşük tespit edilmiştir (p: 0,00 ). İki grup arasında tiroid fonksiyonları, GH, IGFBP3 ve kortizol düzeyleri açısından bir fark gözlenmemiştir.

**SONUÇ:** Obez insülin direnci olanlarda IGF-1 ve GH düzeyleri normal kişilere göre daha düşüktür. Her iki grupta da en sık gözlenen IGF-1 gen polimorfizmi 194 bp den fazla olan gruptur. Farklı IGF1 genotipleri arasında

IGF-1 düzeyleri, biyokimyasal ve hormonal değerler açısından fark bulunmamaktadır. Obezlerde IGF-1 düşüşüne sebep olan IGF-1 gen polimorfizmi dışında başka bir faktör gibi gözükmektedir ve bu IR olabilir.

## SUMMARY

### IGF- 1 gen polymorphism in obese patients with insulin resistance

Dr.Güzin Fidan Yaylalı

**OBJECTIVE:** IGFs (Insulin like growth factors) are important regulators of pancreatic  $\beta$  cell development, growth and maintenance. Mutations in the IGF genes have been found to be associated with type 2 diabetes, myocardial infarction, birth weight and obesity. These associations could result from changes in insulin secretion. We aimed to investigate IGF- 1 gen polymorphism in obese patients with insulin resistance.

**METHODS:** We included 101 obese patients (women= 77, men=24, mean age  $42,8 \pm 11,8$  year) with insulin resistance who applied to Endocrinology and Metabolism outpatient clinic and 30 healthy subjects ( women=28 , men= 3, mean age ) to study. All data were collected between September 07 and December 07. At baseline physical examinations and anthropometric measurements were done . Genomic DNA from the patients and controls were prepared. Investigated genomic areas were studied using specific primers by PCR methods. Amplified fragments were separated agarose gel electrophoresis and were identified using the UV gel documentation system.

**RESULTS:** Thyroid function tests and serum IGFBP3 levels were similar between patients and controls whereas IGF, GH and cortisol levels were significantly lower in obese insulin resistant patients. We categorized the IGF-1 (CA)<sub>19</sub> polymorphism area into 3 groups as lower than 192-bp (group 1) , 192-194 bp (group 2), and higher than 194-bp (group 3). Group 3 was more frequent in both obese and control groups, When all parameters of group 3 were compared between obese (n: 71) and control groups (n: 28) ; weight, BMI, waist and hip circumference, fat distribution, FBG, TG, HDL, LDL, AST, ALT, Uric acid, insulin levels were significantly different between two groups. IGF-1 levels were also significantly lower in obese group ( $138,51 \pm 49,3$  ) in than controls ( $218,14 \pm 69,15$  ).

**CONCLUSIONS:** IGF-1 levels were significantly lower in obese than normal people, The most frequent IGF-1 gen polymorphism allele is > 194 bp in both obese insulin resistant patients and controls, IGF-1 levels and the other

biochemical and hormonal parameters were similar in different genotype groups, The cause of lower IGF-1 levels in obese patients might be different from IGF-1 gene polymorphism and it may be insulin resistance.

## KAYNAKLAR

1. Froesch ER, Schmid C, Schwander J, Zapf J. Actions of insulin-like growth factors. *Annu Rev Physiol.* 1985;47:443-67.
2. Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocr Rev.* 1989;10:68-91.
3. Froesch ER, Froesch ER, Bianda T, Hussain MA. Insulin-like growth factor-I in the therapy of non-insulin-dependent diabetes mellitus and insulin resistance. *Diabetes Metab.* 1996;22:261-7.
4. Kim JJ, Accili D: Signalling through IGF-I and insulin receptors: where is the specificity? *Growth Horm IGF Res* 2002;12:84–90.
5. Hales CN, Barker DJ: The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull* 2001; 60:5–20.
6. Kulkarni RN, Holzenberger M, Shih DQ, Ozcan U, Stoffel M, Magnuson MA, et al: Beta-cell-specific deletion of the Igf1 receptor leads to hyperinsulinemia and glucose intolerance but does not alter beta-cell mass. *Nat Genet* 2002;31:111–115.
7. Xuan S, Kitamura T, Nakae J, Politi K, Kido Y, Fisher PE, et al: Defective insulin secretion in pancreatic beta cells lacking type 1 IGF receptor. *J Clin Invest* 2002;110:1011–1019.
8. Vaessen N, Heutink P, Janssen JA, Witteman JC, Testers L, Hofman A, et al: A polymorphism in the gene for IGF-I: functional properties and risk for type 2 diabetes and myocardial infarction. *Diabetes* 2001;50:637–642.

9. O'Dell SD, Miller GJ, Cooper JA, Hindmarsh PC, Pringle PJ, Ford H, et al: Apa1 polymorphism in insulin-like growth factor II (IGF2) gene and weight in middle-aged males. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997;21:822–825.
10. Gaunt TR, Cooper JA, Miller GJ, Day IN, O'Dell SD: Positive associations between single nucleotide polymorphisms in the IGF2 gene region and body mass index in adult males. *Hum Mol Genet* 2001;10:1491–1501.
11. Ukkola O, Sun G, Bouchard C: Insulin-like growth factor 2 (IGF2) and IGF-binding protein 1 (IGFBP1) gene variants are associated with overfeeding- induced metabolic changes. *Diabetologia* 2001;44:2231–2236.
12. Vaessen N, Janssen JA, Heutink P, Hofman A, Lamberts SW, Oostra BA, et al: Association between genetic variation in the gene for insulin-like growth factor-I and low birthweight. *Lancet* 2002;359:1036–1037.
13. Salmon WD Jr, Daughaday WH. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. *J Lab Clin Med.* 1957;49:825-36.
14. Bürgi H, Müller WA, Humbel RE, Labhart A, Froesch ER. Non-suppressible insulin-like activity of human serum. I. Physicochemical properties, extraction and partial purification. *Biochim Biophys Acta* 1966;121:349-59.
15. Hall K, Takano K, Fryklund L, Sievertsson H. Somatomedins. *Adv Metab Disord* 1975;8:19-46.



16. Reiter EO, Rosenfeld RS. Normal and aberrant Growth In Larsen RP, Kronenberg HM, Melmed S, Polnosky KS, eds. Williams Textbook of Endocrinology. 10 th Ed. Philadelphia: WB Sanders; 2003;1003-79.
17. Frick F, Oscarsson J, Vikman-Adolfsson K, Ottosson M, Yoshida N, Edén S. Different effects of IGF-I on insulin-stimulated glucose uptake in adipose tissue and skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000;278:E729-37.
18. Yakar S, Liu JL, Stannard B, Butler A, Accili D, Sauer B, et al: Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:7324 –7329.
19. Lowe WL Jr, Adamo M, Werner H, Roberts CT Jr, LeRoith D. Regulation by fasting of rat insulin-like growth factor I and its receptor. Effects on gene expression and binding. *J Clin Invest* 1989 A;84:619-26.
20. Adamo ML, Neuenschwander S, LeRoith D, Roberts CT Jr. Structure, expression, and regulation of the IGF-I gene. *Adv Exp Med Biol* 1993;343:1-11.
21. Sussenbach JS. The gene structure of the insulin-like growth factor family. *Prog Growth Factor Res* 1989;1:33-48.
22. Brissenden JE, Ullrich A, Francke U. Human chromosomal mapping of genes for insulin-like growth factors I and II and epidermal growth factor. *Nature*. 1984 ;310:781-4.
23. Tricoli JV, Rall LB, Scott J, Bell GI, Shows TB. Localization of insulin-like growth factor genes to human chromosomes 11 and 12. *Nature* 1984;310:784-6.

24. Lowe WL Jr, Roberts CT Jr, Lasky SR, LeRoith D. Differential expression of alternative 5' untranslated regions in mRNAs encoding rat insulin-like growth factor I. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84:8946-50.
25. Murphy LJ, Friesen HG. Differential effects of estrogen and growth hormone on uterine and hepatic insulin-like growth factor I gene expression in the ovariectomized hypophysectomized rat. *Endocrinology*. 1988;122:325-32.
26. Rappolee DA, Sturm KS, Behrendtsen O, Schultz GA, Pedersen RA, Werb Z. Insulin-like growth factor II acts through an endogenous growth pathway regulated by imprinting in early mouse embryos. *Genes Dev*. 1992;6:939-52.
27. Stylianopoulou F, Herbert J, Soares MB, Efstratiadis A. Expression of the insulin-like growth factor II gene in the choroid plexus and the leptomeninges of the adult rat central nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85:141-5.
28. Zhan S, Shapiro D, Zhan S, Zhang L, Hirschfeld S, Ellassal J, et al. Concordant loss of imprinting of the human insulin-like growth factor II gene promoters in cancer. *J Biol Chem*. 1995;270:27983-6.
29. De Meyts P, Whittaker J. Structural biology of insulin and IGF1 receptors: implications for drug design. *Nat Rev Drug Discov* 2002; 1:769-83.
30. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* 1995; 16:3-34.
31. Le Roith D, Scavo L, Butler A. What is the role of circulating IGF-I? *Trends Endocrinol Metab* 2001; 12:48-52.

32. White MF. IRS proteins and the common path to diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283:E413-22.
33. Saetrum Opgaard O, Wang PH. IGF-I is a matter of heart. *Growth Horm IGF Res.* 2005; 15:89-94.
34. Baserga R, Peruzzi F, Reiss K. The IGF-1 receptor in cancer biology. *Int J Cancer* 2003;107:873-7.
35. Rajaram S, Baylink DJ, Mohan S. Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions. *Endocr Rev* 1997;18:801-31.
36. Sara VR, Hall K. Insulin-like growth factors and their binding proteins. *Physiol Rev* 1990;70:591-614.
37. Ferry RJ Jr, Cerri RW, Cohen P. Insulin-like growth factor binding proteins: new proteins, new functions. *Horm Res* 1999;51:53-67.
38. Hwa V, Oh Y, Rosenfeld RG. The insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) superfamily. *Endocr Rev* 1999;20:761-87.
39. Juul A. Serum levels of insulin-like growth factor I and its binding proteins in health and disease. *Growth Horm IGF Res.*2003;13:113-70.
40. Janssen JA, Stolk RP, Pols HA, Grobbee DE, de Jong FH, Lamberts SW. Serum free IGF-I, total IGF-I, IGFBP-1 and IGFBP-3 levels in an elderly population: relation to age and sex steroid levels. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998;48:471-8.
41. Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet* 1989;44:388-96.

42. Melmed S. Acromegaly. *N Engl J Med* 1990 5;322:966-77.
43. Juul A, Main K, Blum WF, Lindholm J, Ranke MB, Skakkebaek NE. The ratio between serum levels of insulin-like growth factor (IGF)-I and the IGF binding proteins (IGFBP-1, 2 and 3) decreases with age in healthy adults and is increased in acromegalic patients. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994;41:85-93.
44. Rajaram S, Baylink DJ, Mohan S. Insulin-like growth factor-binding proteins in serum and other biological fluids: regulation and functions. *Endocr Rev* 1997;18:801-31.
45. Akin F, Yaylali GF, Turgut S, Kaptanoglu B. Growth hormone/insulin-like growth factor axis in patients with subclinical thyroid dysfunction. *Growth Horm IGF Res*. 2008 Article in Press.
46. Chernausek SD, Underwood LE, Utiger RD, Van Wyk JJ. Growth hormone secretion and plasma somatomedin-C in primary hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1983;19:337-44.
47. Bereket A, Lang CH, Blethen SL, Ng LC, Wilson TA. Insulin treatment normalizes reduced free insulin-like growth factor-I concentrations in diabetic children. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996; 45:321-6.
48. Han VK, D'Ercole AJ, Lund PK. Cellular localization of somatomedin (insulin-like growth factor) messenger RNA in the human fetus. *Science* 1987;236:193-7.
49. Govoni KE, Baylink DJ, Mohan S. The multi-functional role of insulin-like growth factor binding proteins in bone. *Pediatr Nephrol* 2005;20:261-8.

50. Thomas FH, Campbell BK, Armstrong DG, Telfer EE. Effects of IGF-I bioavailability on bovine preantral follicular development in vitro. *Reproduction* 2007;133:1121-8.
51. Anderson MF, Aberg MA, Nilsson M, Eriksson PS. Insulin-like growth factor-I and neurogenesis in the adult mammalian brain. *Brain Res Dev Brain Res* 2002;134:115-22.
52. Hill M, Wernig A, Goldspink G. Muscle satellite (stem) cell activation during local tissue injury and repair. *J Anat* 2003;203:89-99.
53. Cingel-Ristić V, Flyvbjerg A, Drop SL. The physiological and pathophysiological roles of the GH/IGF-axis in the kidney: lessons from experimental rodent models. *Growth Horm IGF Res* 2004;14:418-30.
54. Coschigano KT, Clemmons D, Bellush LL, Kopchick JJ. Assessment of growth parameters and life span of GHR/BP gene-disrupted mice. *Endocrinology* 2000;141:2608-13.
55. Liu JL, Coschigano KT, Robertson K, Lipsett M, Guo Y, Kopchick JJ, et al. Disruption of growth hormone receptor gene causes diminished pancreatic islet size and increased insulin sensitivity in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004;287:E405-13.
56. Guo Y, Lu Y, Houle D, Robertson K, Tang Z, Kopchick JJ, et al. Pancreatic islet-specific expression of an insulin-like growth factor-I transgene compensates islet cell growth in growth hormone receptor gene-deficient mice. *Endocrinology* 2005;146:2602-9.
57. Yakar S, Liu JL, Fernandez AM, Wu Y, Schally AV, Frystyk J, et al. Liver-specific IGF-1 gene deletion leads to muscle insulin insensitivity. *Diabetes* 2001;50:1110-8.

58. Mauras N, O'Brien KO, Welch S, Rini A, Helgeson K, Vieira NE, et al. Insulin-like growth factor I and growth hormone (GH) treatment in GH-deficient humans: differential effects on protein, glucose, lipid, and calcium metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1686-94.
59. Rose DR, Clemmons DR. Growth hormone receptor antagonist improves insulin resistance in acromegaly. *Growth Horm IGF Res* 2002;12:418-24.
60. Di Cola G, Cool MH, Accili D. Hypoglycemic effect of insulin-like growth factor-1 in mice lacking insulin receptors. *J Clin Invest* 1997;99:2538-44.
61. Ranke MB. Insulin-like growth factor-I treatment of growth disorders, diabetes mellitus and insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 2005;16:190-7.
62. Dunger D, Yuen K, Ong K. Insulin-like growth factor I and impaired glucose tolerance. *Horm Res* 2004;62:101-7.
63. Yuen K, Ong K, Husbands S, Chatelain P, Fryklund L, Gluckman P, et al. The effects of short-term administration of two low doses versus the standard GH replacement dose on insulin sensitivity and fasting glucose levels in young healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1989-95.
64. Taaffe DR, Thompson JL, Butterfield GE, Hoffman AR, Marcus R. Recombinant human growth hormone, but not insulin-like growth factor-I, enhances central fat loss in postmenopausal women undergoing a diet and exercise program. *Horm Metab Res*.2001;33:156-62.
65. Scavo LM, Karas M, Murray M, Leroith D. Insulin-like growth factor-I stimulates both cell growth and lipogenesis during differentiation of human mesenchymal stem cells into adipocytes. *J Clin Endocrinol Metab*.2004;89:3543-53.

66. Zizola CF, Balañá ME, Sandoval M, Calvo JC. Changes in IGF-I receptor and IGF-I mRNA during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Biochimie*.2002;84:975-80.
67. Horber FF, Haymond MW. Human growth hormone prevents the protein catabolic side effects of prednisone in humans. *J Clin Invest* 1990;86:265-72.
68. Wilmore DW. The use of growth hormone in severely ill patients. *Adv Surg* 1999;33:261-74.
69. Rietveld I, Janssen JA, van Rossum EF, Houwing-Duistermaat JJ, Rivadeneira F, Hofman A, et al. A polymorphic CA repeat in the IGF-I gene is associated with gender-specific differences in body height, but has no effect on the secular trend in body height. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004;61:195-203.
70. Rietveld I, Hofman A, Pols HA, van Duijn CM, Lamberts SW, Janssen JA. An insulin-like growth factor-I gene polymorphism modifies the risk of microalbuminuria in subjects with an abnormal glucose tolerance. *Eur J Endocrinol* 2006;154:715-21.
71. Rosen CJ, Kurland ES, Vereault D, Adler RA, Rackoff PJ, Craig WY, et al. Association between serum insulin growth factor-I (IGF-I) and a simple sequence repeat in IGF-I gene: implications for genetic studies of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2286 – 90.
72. Kim JG, Roh KR, Lee JY. The relationship among serum insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-I gene polymorphism, and bone mineral density in postmenopausal women in Korea. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:345 – 50.

73. Johnston LB, Dahlgren J, Leger J, Glander L, Savage MO, Czernichow P, et al. Association between insulin-like growth factor I (IGF-I) polymorphisms, circulating IGF-I, and pre- and postnatal growth in two European small for gestational age populations. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4805-10.
74. Takacs I, Koller DL, Peacock M, Christian JC, Hui SL, Conneally PM, et al. Sibling pair linkage and association studies between bone mineral density and the insulin-like growth factor I gene locus. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4467 – 71.
75. Sun G, Gagnon J, Chagnon YC, Pérusse L, Després JP, Leon AS, et al. Association and linkage between an insulin-like growth factor-1 gene polymorphism and fat free mass in the HERITAGE family study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23:92– 35.
76. Jansen M, van Schaik FM, Ricker AT, Bullock B, Woods DE, Gabbay KH, et al. Sequence of cDNA encoding human insulin-like growth factor 1 precursor. *Nature* 1983;306:609 – 11.
77. Tobin G, Yee D, Brunner N, Rotwein PA. A novel human insulin-like growth factor 1 messenger RNA is expression in normal and tumor cells. *Mol Endocrinol* 1990;4:1914 – 20.
78. Jansen E, Steenbergh PH, LeRoith D, Roberts CT Jr, Sussenbach JS. Identification of multiple transcription start sites in the human insulin-like growth factor-I gene. *Mol Cell Endocrinol* 1991;78:115 – 25.
79. Mittanck DW, Kim SW, Rotwein P. Essential promoter elements are located within the 5' untranslated region of human insulin-like growth factor-1 exon 1. *Mol Cell Endocrinol* 1997;126:153 – 63.



80. Roy RN, Cecutti A, Gerulath AH, Steinberg WM, Bhavnani BR. Endometrial transcripts of human insulin-like growth factors arise by differential promoter usage. *Mol Cell Endocrinol* 1997;135:11 – 9.
81. Zhang J, Chrysis D, Underwood LE. Reduction of hepatic insulin-like growth factor 1 (IGF-1) messenger ribonucleic acid (mRNA) during fasting is associated with diminished splicing of IGF-1 pre-mRNA and decreased stability of cytoplasmic IGF-1 mRNA. *Endocrinology* 1998;139:4523 – 30.
82. Zhang J, Whitehead REJ, Underwood LE. Effect of fasting on insulin-like growth factor (IGF)-1A and IGF-1B messenger ribonucleic acids and prehormones in rat liver. *Endocrinology* 1997;138:3112 – 8.
83. Higgins PB, Fernandez JR, Goran MI, Gower BA. Early ethnic difference in insulin-like growth factor-1 is associated with African genetic admixture. *Pediatr Res* 2005;58:850e854.
84. Gomez JM, Maravall FJ, Gomez N, Navarro MA, Casamitjana R, Soler J. The IGF-I system component concentrations that decrease with ageing are lower in obesity in relationship to body mass index and body fat. *Growth Horm IGF Res* 2004;14:91-96.
85. Garvey WT, Birnbaum MJ. Cellular insulin action and insulin resistance. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1993 ;7:785-873.
86. Baumann CA, Ribon V, Kanzaki M, Thurmond DC, Mora S, Shigematsu S, et al. CAP defines a second signalling pathway required for insulin-stimulated glucose transport. *Nature* 2000;407:202-7.
87. Alessi DR, Downes CP. The role of PI 3-kinase in insulin action. *Biochim Biophys Acta* 1998;1436:151-64.

88. Lillioja S, Mott DM, Zawadzki JK, Young AA, Abbott WG, Knowler WC, et al. In vivo insulin action is familial characteristic in nondiabetic Pima Indians. *Diabetes* 1987;36:1329-35.
89. Ferrannini E, Buzzigoli G, Bonadonna R, Giorico MA, Oleggini M, Graziadei L, et al. Insulin resistance in essential hypertension. *N Engl J Med.* 1987;317:350-7.
90. Welborn TA, Breckenridge A, Rubinstein AH, Dollery CT, Fraser TR. Serum-insulin in essential hypertension and in peripheral vascular disease. *Lancet* 1966;1:1336-7.
91. Krook A, O'Rahilly S. Mutant insulin receptors in syndromes of insulin resistance. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1996;10:97-122.
92. Kusari J, Kenner KA, Suh KI, Hill DE, Henry RR. Skeletal muscle protein tyrosine phosphatase activity and tyrosine phosphatase 1B protein content are associated with insulin action and resistance. *J Clin Invest* 1994; 93:1156-62.
93. Garvey WT, Maianu L, Hancock JA, Golichowski AM, Baron A. Gene expression of GLUT4 in skeletal muscle from insulin-resistant patients with obesity, IGT, GDM, and NIDDM. *Diabetes* 1992;41:465-75.
94. Kolterman OG, Insel J, Saekow M, Olefsky JM. Mechanisms of insulin resistance in human obesity: evidence for receptor and postreceptor defects. *J Clin Invest* 1980;65:1272-84.
95. Kissebah AH, Vydelingum N, Murray R, Evans DJ, Hartz AJ, Kalkhoff RK, et al. Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1982;54:254-60.

96. Peiris AN, Mueller RA, Smith GA, Struve MF, Kissebah AH. Splanchnic insulin metabolism in obesity. Influence of body fat distribution. *J Clin Invest.* 1986;78:1648-57.
97. Evans DJ, Murray R, Kissebah AH. Relationship between skeletal muscle insulin resistance, insulin-mediated glucose disposal, and insulin binding. Effects of obesity and body fat topography. *J Clin Invest* 1984;74:1515-25.
98. Rebuffé-Scrive M, Krotkiewski M, Elfverson J, Björntorp P. Muscle and adipose tissue morphology and metabolism in Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:1122-8.
99. Rebuffé-Scrive M, Andersson B, Olbe L, Björntorp P. Metabolism of adipose tissue in intraabdominal depots of nonobese men and women. *Metabolism* 1989;38:453-8.
100. Tanner JM, Whitehouse RH. The effect of human growth hormone on subcutaneous fat thickness in hyposomatotropic and panhypopituitary dwarfs. *J Endocrinol* 1967;39:263-75.
101. Johansson JO, Fowelin J, Landin K, Lager I, Bengtsson BA. Growth hormone-deficient adults are insulin-resistant. *Metabolism* 1995;44:1126-9.
102. Kopelman PG. Endocrine function in obesity. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1988; 28:675-89.
103. Clemmons DR. Involvement of insulin-like growth factor-I in the control of glucose homeostasis. *Curr Opin Pharmacol* 2006;6:620-5.
104. Hussain MA, Schmitz O, Mengel A, Keller A, Christiansen JS, Zapf J, et al. Insulin-like growth factor I stimulates lipid oxidation, reduces protein

oxidation, and enhances insulin sensitivity in humans. *J Clin Invest* 1993; 92:2249-56.

105. Acerini CL, Patton CM, Savage MO, Kernell A, Westphal O, Dunger DB. Randomised placebo-controlled trial of human recombinant insulin-like growth factor I plus intensive insulin therapy in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1997;350:1199-204.
106. Moses AC, Young SC, Morrow LA, O'Brien M, Clemmons DR. Recombinant human insulin-like growth factor I increases insulin sensitivity and improves glycemic control in type II diabetes. *Diabetes* 1996;45:91-100.
107. Sandhu MS, Heald AH, Gibson JM, Cruickshank JK, Dunger DB, Wareham NJ. Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and development of glucose intolerance: a prospective observational study. *Lancet* 2002; 359:1740-5.
108. Clemmons DR, Moses AC, McKay MJ, Sommer A, Rosen DM, Ruckle J. The combination of insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor-binding protein-3 reduces insulin requirements in insulin-dependent type 1 diabetes: evidence for in vivo biological activity. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1518-24.
109. Glass AR, Burman KD, Dahms WT, Boehm TM. Endocrine function in human obesity. *Metabolism* 1981;30:89-104.
110. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28: 412–419

111. Rasmussen MH, Hvidberg A, Juul A, Main KM, Gotfredsen A, Skakkebaek NE, et al. Massive weight loss restores 24-hour growth hormone release profiles and serum insulin-like growth factor-I levels in obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1407-15.
112. Bang P, Brismar K, Rosenfeld RG, Hall K. Fasting affects serum insulin-like growth factors (IGFs) and IGF-binding proteins differently in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus versus healthy nonobese and obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:960-7.
113. Rasmussen MH, Juul A, Kjems LL, Skakkebaek NE, Hilsted J. Lack of stimulation of 24-hour growth hormone release by hypocaloric diet in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1995 ;80:796-801.
114. Holt RI, Simpson HL, Sönksen PH. The role of the growth hormone-insulin-like growth factor axis in glucose homeostasis. *Diabet Med* 2003; 20:3-15.
115. Zenobi PD, Graf S, Ursprung H, Froesch ER. Effects of insulin-like growth factor-I on glucose tolerance, insulin levels, and insulin secretion. *J Clin Invest* 1992;89:1908-13.
116. Dunger DB, Ong KK, Sandhu MS. Serum insulin-like growth factor-I levels and potential risk of type 2 diabetes. *Horm Res* 2003;60: 131-5.
117. Frayling TM, Hattersley AT, McCarthy A, Holly J, Mitchell SM, Gloyn AL, et al. A putative functional polymorphism in the IGF-I gene: association studies with type 2 diabetes, adult height, glucose tolerance, and fetal growth in U.K. populations. *Diabetes* 2002;51:2313-6.
118. Rasmussen SK, Lautier C, Hansen L, Echwald SM, Hansen T, Ekstrøm CT, et al. Studies of the variability of the genes encoding the insulin-like

growth factor I receptor and its ligand in relation to type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1606-10.

119. Laukkanen O, Pihlajamäki J, Lindström J, Eriksson J, Valle TT, Hämäläinen H, et al. Finnish Diabetes Prevention Study Group. Common polymorphisms in the genes regulating the early insulin signalling pathway: effects on weight change and the conversion from impaired glucose tolerance to Type 2 diabetes. The Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetologia* 2004;47:871-7.
120. Rietveld I, Janssen JA, Hofman A, Pols HA, van Duijn CM, Lamberts SW. A polymorphism in the IGF-I gene influences the age-related decline in circulating total IGF-I levels. *Eur J Endocrinol* 2003;148:171-5.
121. Landmann E, Geller F, Schilling J, Rudloff S, Foeller-Gaudier E, Gortner L. Absence of the wild-type allele (192 base pairs) of a polymorphism in the promoter region of the IGF-I gene but not a polymorphism in the insulin gene variable number of tandem repeat locus is associated with accelerated weight gain in infancy. *Pediatrics* 2006; 118:2374-9.
122. Rietveld I, Janssen JA, Van Duijn CM, Lamberts SW. A polymorphic CA repeat in the promoter region of the insulin-like growth factor-I (IGF-I) gene. *Eur J Epidemiol* 2003;18:191-3.
123. Morrow LA, O'Brien MB, Moller DE, Flier JS, Moses AC. Recombinant human insulin-like growth factor-I therapy improves glycemic control and insulin action in the type A syndrome of severe insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:205-10.
124. Yakar S, Setser J, Zhao H, Stannard B, Haluzik M, Glatt V, et al. Inhibition of growth hormone action improves insulin sensitivity in liver IGF-1-deficient mice. *J Clin Invest* 2004 ;113:96-105.

125. 't Hart LM, Fritsche A, Rietveld I, Dekker JM, Nijpels G, Machicao F, et al. Genetic factors and insulin secretion: gene variants in the IGF genes. *Diabetes* 2004; 53: 26-30.
126. Bleumink GS, Schut AF, Sturkenboom MC, Janssen JA, Witteman JC, van Duijn CM, et al. A promoter polymorphism of the insulin-like growth factor-I gene is associated with left ventricular hypertrophy. *Heart* 2005; 91:239-40.
127. Bleumink GS, Rietveld I, Janssen JA, van Rossum EF, Deckers JW, Hofman A, et al. Insulin-like growth factor-I gene polymorphism and risk of heart failure(the Rotterdam Study). *Am J Cardiol* 2004; 94:384-6.
128. Yazdanpanah M, Rietveld I, Janssen JA, Njajou OT, Hofman A, Stijnen T, et al. An insulin-like growth factor-I promoter polymorphism is associated with increased mortality in subjects with myocardial infarction in an elderly Caucasian population. *Am J Cardiol* 2006;97:1274-6.
129. Schut AF, Janssen JA, Deinum J, Vergeer JM, Hofman A, Lamberts SW, et al. Polymorphism in the promoter region of the insulin-like growth factor I gene is related to carotid intima-media thickness and aortic pulse wave velocity in subjects with hypertension. *Stroke* 2003;34:1623-7.