

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TİP 2 DİYABETLİ HASTALARDA KULLANILAN DEĞİŞİK
ANTİDİYABETİKLERİN GROWTH ARREST SPESİFİK PROTEİN
6 VE AXL YOLAĞI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Yasemin ATICI**

**Danışmanlar
XXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXX**

Doktora Tezi

**ARALIK, 2020
KAYSERİ**

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**TİP 2 DİYABETLİ HASTALARDA KULLANILAN DEĞİŞİK
ANTİDİYABETİKLERİN GROWTH ARREST SPESİFİK PROTEİN
6 VE AXL YOLAĞI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
(Doktora Tezi)**

**Hazırlayan
Yasemin ATICI**

**Danışmanlar
XXXXXXXXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXX**

**Bu Çalışma; Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma projeleri Birimi
Tarafından TDK-2019-8810 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**ARALIK, 2020
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Yasemin ATICI

İmza:



YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Tip 2 Diyabetli Hastalarda Kullanılan Değişik Antidiyabetiklerin Growth Arrest Spesifik Protein 6 ve Axl Yolağı Üzerine Etkilerinin Araştırılması” adlı Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Yasemin ATICI

Danışmanlar

XXXXXXXXXXXXX

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı

XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

XXXXXXXXXXXXXXXXX ve XXXXXXXXXXXXXXXX danışmanlığında **Yasemin ATICI** tarafından hazırlanan ‘**Tip 2 Diyabetli Hastalarda Kullanılan Değişik Antidiyabetiklerin Growth Arrest Spesifik Protein 6 ve Axl Yolağı Üzerine Etkilerinin Araştırılması**’ adlı çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

23.12.2020

JÜRİ

Danışman XXXXXXXXXXXXXXXX (Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı)	
Üye XXXXXXXXXXXXXXXX (Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı)	
Üye XXXXXXXXXXXXXXXX (Lokman Hekim Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı)	
Üye XXXXXXXXXXXXXXXX (İç Hastalıkları Tıbbi Onkoloji Anabilim Dalı)	
Üye XXXXXXXXXXXXXXXX (Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi)	

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve
.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

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

XXXXXXXXXXXXXXXXX

Enstitü müdürü

TEŞEKKÜR

Öncelikle çalışmamızı gerçekleştirebilmemiz için gerekli desteği sağlayan Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Doktora eğitimim boyunca ders ve laboratuvar ortamında bilgi ve tecrübelerini aktaran Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı hocalarıma,

Akademisyenliğe geçiş basamağı olan doktora öğrenimimde, özellikle tez çalışmamın planlanması ve çalışmanın tamamlanması aşamasına kadar bilgisini benden bilgisini, tecrübesini ve hoşgörüsünü esirgemeyen danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Gülden Başkol'a,

Tez çalışmamın planlanması ve çalışmanın tamamlanması aşamasına kadar bilgisini, hoşgörüsünü ve tüm desteğini esirgemeyen, akademik hayata hazırlanmam için maddi ve manevi destek sağlayan, zorlandığım her aşamada tecrübelerini paylaşarak katkı sağlayan ikinci danışman Hocam Sayın XXXXXXXXXXXXX'a,

Numunelerin toplanması aşamasında anlayış ve hoşgörüyle yardımcı olan XXXXXXXXXXXXhemşire hanımlara,

Özellikle laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan doktora arkadaşlarım XXXXXXXXXXX'a,

Doğduğum günden bugüne kadar maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anne ve babama, doktora çalışmalarımı tamamlayabilmem için ellerinden gelen tüm gayreti gösteren eşimin ailesine, tanıştığım ilk günden beri maddi manevi desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen, aldığım kararlarda her zaman destek olan biricik eşime,

Sonsuz teşekkürler.

**TİP 2 DİYABETLİ HASTALARDA KULLANILAN DEĞİŞİK
ANTİDİYABETİKLERİN GROWTH ARREST SPESİFİK PROTEİN 6 VE AXL
YOLAĞI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Yasemin ATICI

**Danışmanlar XXXXXXXXXXXX, XXXXXXXXXXXX
Doktora Tezi, ARALIK, 2020**

KISA ÖZET

Amaç: Gas6/Axl yolağı, doku homeostazı, inflamatuvar sitokin salınımı, vasküler hastalık, karsinogenez ve glukoz intoleransı ile ilişkili metabolik bozuklukların düzenlenmesinde rol oynar. Bu çalışmada Tip 2 Diyabet'te (T2DM) kullanılan Metformin ve Metformin ile kombine olarak kullanılan İnsülin'in Growth Arrest Spesifik Protein 6, Axl ve sAxl üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başvuran, T2DM tanısı almış, metformin tedavisine yeni başlayacak hastalar ve metformine kombine olarak İnsülin kullanmaya başlayacak hastalar prospektif olarak incelendi. Gruplar; Kontrol grubu (Kontrol), Prediyabetik grup (PreDM), Metformin grubu (Met), Metformin+İnsülin grubu (Met+İns) olarak 4 gruba ayrıldı. Grupların 0. ay ve 6. ay kanlarından elde edilen serumlarında; Gas6, Axl ve sAxl düzeyleri ELİSA yöntemine göre belirlendi.

Bulgular: Çalışmamızda ilaç tedavisi almayan gruplarda (Kontrol, PreDM) Gas6, Axl ve sAxl'nin değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı değişim görülmedi. Ancak T2DM tanısı almış, metformin kullanan Met grubunda ve metformin tedavisi yeterli gelmeyip tedaviye insülin eklenen Met+İns grubunda 6.ay Gas6 ve Axl değerlerinde 0. aya göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş tespit edilirken; sAxl değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı değişim görülmedi.

Sonuç: T2DM'li hastaların tedavisinde kullanılan metformin; kan glukoz seviyelerini düzenlerken çeşitli kanser türlerinde rol oynadığı bilinen Gas6/Axl yolağını çeşitli mekanizmalarla inhibe ettiği düşünülmektedir. Bu çalışmanın Gas6/Axl hedeflenerek geliştirilecek teröpatik yaklaşımların tasarlanmasında klinik açıdan faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Gas6, Axl, sAxl, Tip 2 Diabetes Mellitus

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF VARIOUS ANTI-DIABETICS USED IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES ON GROWTH ARREST SPECIFIC PROTEIN 6 AND AXL PATH

Yasemin ATICI

Consultants XXXXXXXXXXXXXXXX, XXXXXXXXXXXXXXXX
PhD Thesis, DECEMBER, 2020

ABSTRACT

Objectives: Gas6/Axl signaling to be roles in regulating tissue homeostasis, inflammatory cytokine release, vascular disease, carcinogenesis and metabolic disorders associated with glucose intolerance. This research aimed to investigate the effects of Metformin and Metformin-Insulin combination, which are used in Type 2 Diabetes (T2DM) treatment on Growth Arrest Specific Protein 6, Axl and sAxl.

Materials and Methods: Patients applied to Erciyes University Faculty of Medicine who were diagnosed with T2DM, will start metformin treatment and will start using insulin in combination with metformin are prospectively evaluated. Patients were divided into 4 groups as the Control group, Prediabetic group, Metformin group, Metformin + Insulin group. Gas6, Axl and sAxl levels within patients' serums obtained from their 0. month and 6. month blood samples were measured according to ELISA method.

Results: In our study, no statistically significant change was found in the values of Gas6, Axl and sAxl in the groups who did not receive medication. However, there was a statistically significant decrease in Gas6 and Axl values for those diagnosed with T2DM; the Met group, who were diagnosed with T2DM, using metformin, and Met+Ins group whose metformin treatment was not sufficient and insulin was added to their treatment. On the other hand, there was no statistically significant change in sAxl values for these two group of patients.

Conclusions: While Metformin, used in the treatment of T2DM, is regulating the blood glucose levels, it is thought to inhibit the Gas6/Axl pathway with various mechanisms. We think that this study will be clinically useful in designing therapeutic approaches targeting Gas6/Axl.

Keywords: Gas6, Axl, sAxl, Tip 2 Diabetes Mellitus

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
ONAY:	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
KISA ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER	x
TABLolar LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1. Diabetes Mellitus.....	2
2.1.1 Epidemiyolojisi.....	2
2.1.2. DM Etiyolojik Sınıflandırılması.....	3
2.1.2.1. Tip 1 Diabetes Mellitus	3
2.1.2.1. Tip 2 Diabetes Mellitus	4
2.1.2.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus	6
2.1.2.4. Diğer Spesifik Diyabet Tipleri.....	6
2.1.3. Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri.....	7
2.1.4 Diyabet Takibinde HbA1c'nin Önemi	7
2.1.5. Diyabet Semptomları.....	9
2.1.6. Diyabet Tedavisi.....	9
2.1.7. Medikal Tedavi.....	11
2.1.7.1. Metformin	11

2.1.7.2. Metforminin Antidiyabetik Etki Mekanizması.....	13
2.1.7.3. Metforminin Moleküler Hedefleri	17
2.1.7.4. İnsülin	19
2.1.7.5. İnsülin Tedavisinin Amaçları	19
2.1.7.6. İnsülin Endikasyonları	20
2.1.7.7. İnsülinin Etki Mekanizması	21
2.2. Growth Arrest Spesific Protein 6 (Gas6)	21
2.3. Reseptör Tirozin Kinazlar (RTK) ve TAM (Tyro3, Axl, Mer) Reseptörleri	24
2.4. Axl reseptörü	26
2.5. Solubl Axl reseptörü.....	28
2.6. TAM reseptörlerinin aktivasyonu	28
2.7. Gas6/Axl Sinyal Yolağı	29
2.8. Çoğalma-Hayatta Kalma ve Axl İlişkisi	35
2.9. İnvazyon-Metastaz ve Axl İlişkisi.....	36
2.10. Anjiyogenez ve Axl İlişkisi.....	36
2.11. Axl'ın Kanserdeki Rolü	37
2.11.1. Akciğer Kanseri ve Axl İlişkisi	37
2.11.2. Meme kanseri ve Axl İlişkisi.....	38
2.11.4. Yumurtalık Kanseri ve Axl İlişkisi.....	40
2.11.5. Böbrek Kanseri ve Axl İlişkisi	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM	42
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	42
3.1.1. Kullanılan Ticari Kitler	42
3.2. Çalışmanın Tasarımı	42
3.3. Hastaların Değerlendirilmesi.....	43
3.3.1. Kontrol Grubundaki Gönüllülerin Araştırmaya Dâhil Edilme Kriterleri	43

3.3.2. Hasta Grubundaki Gönüllülerin Araştırmaya Dâhil Edilme Kriterleri	43
3.4. Diyabet tanısı için kullanılan kriterler	43
3.5. Laboratuvar çalışmaları ve deneysel prosedürler	43
3.5.1. Gas6, Axl ve sAxl Analizi	44
3.5.1.1. Serum Gas6 Standart Çözeltilerinin Hazırlanması	45
3.5.1.2. Serum Axl Standart Çözeltilerinin Hazırlanması	46
3.5.1.3. Serum sAxl Standart Çözeltilerinin Hazırlanması	47
3.6. İstatistiksel Analiz	48
4.BULGULAR	49
4.1.T2DM’li Grupların ve Kontrol Grubunun Demografik Bilgileri	49
4.2.Çalışma Gruplarına Ait Gas6, Axl, sAxl Parametrelerinin 0. ay ve 6. ay Değerlerinin Karşılaştırılması	49
4.3.Açlık Kan Glukozu ve HbA1c Parametrelerinin 0. ay ve 6. aya Ait Gruplar Arası Karşılaştırılması	52
4.4.Açlık Kan Glukozu ve HbA1c düzeylerinin 0. ay ve 6. ay eş düzeyli Gas6, Axl ve sAxl parametreleri ile korelasyonu	53
4.5.Gas6, Axl ve sAxl Parametrelerinin Antidiabetik İlaç Kullanma Durumuna Göre Eş Düzeyli Korelasyonları	54
5.TARTIŞMA ve SONUÇ	56
6.KAYNAKLAR	63
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR ve SİMGELER

A1C	Glikozillenmiş hemoglobin A1c
ACC	Asetil CoA Karboksilaz
ADA	Amerikan Diyabet Derneği
AML	Akut miyeloid lösemi
AMPK	AMP ile aktive edilmiş protein kinaz
APG	Açlık plazma glukozu
BAG	Bozulmuş açlık glukozu
BAG	Bozulmuş açlık glukozu
BGT	Bozulmuş glukoz toleransı
ÇAG	Çeyrekler arası genişlik
DM	Diabetes mellitus
F2,6BP	Fruktoz-2,6-bifosfat
FDA	Gıda ve İlaç Dairesi
Gas6	Growth Arrest Specific Protein 6
GDM	Gestasyonel Diabetes Mellitus
IDF	Uluslararası Diabet Federasyonu
KML	Kronik miyeloid lösemi
Met+İns	Metformin+İnsülin grubu
NK	Natural Killer
OCT1	Organik katyon taşıyıcı-1

OGTT	Oral glukoz tolerans testi
PKA	Protein kinaz A
PreDM	Prediabetik grubu
RTK	Reseptör tirozin kinaz
sAxl	Solubl Axl reseptörü
SHBG	Seks Hormon Bağlayıcı Globulin
T1DM	Tip 1 Diabetes Mellitus
T2DM	Tip 2 Diabetes Mellitus
TAM	Tyro3, Axl, Mer
TEMĐ	Endrokronoloji ve Metabolizma Derneği
TURDEP	Türk Diyabet Epidemiyolojisi Çalışması
VKİ	Vücut kitle indeksi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
YRG	Yüksek risk grubu

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Diyabet ve glukoz metabolizmasının bozuklukları için güncel tanı kriterleri	8
Tablo 2: Çalışma gruplarına ait bazı temel bilgiler.....	49
Tablo 3: Gas6, Axl, sAxl parametrelerinin 0. ay ve 6. aya ait karşılaştırılması	50
Tablo 4: Açlık Kan Glukozu ve HbA1c parametrelerinin 0. ay ve 6. ay gruplar arası karşılaştırılması	53
Tablo 5: Açlık Kan Glukoz ve HbA1c düzeylerinin 0. ay ve 6. ay eş düzeyli Gas6, Axl ve sAxl parametreleri ile korelasyonu.....	54
Tablo 6: Gas6, Axl ve sAxl parametrelerinin antidiabetik ilaç kullanma durumuna göre eş düzeyli korelasyonları.....	55

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1:	a) Galeginin kimyasal yapısı b) Metforminin kimyasal yapısı c) Fenforminin kimyasal yapısı.....	12
Şekil 2:	Metforminin metabolik etkileri	16
Şekil 3:	Metforminin etki mekanizmaları	19
Şekil 4:	Gas6 ve protein S'nin şematik organizasyonu.....	22
Şekil 5:	Tam reseptörlerinin aktivasyonu.....	24
Şekil 6:	Gas6/Axl Sinyal Yolağı	30
Şekil 7:	Gas6/Axl Etki Mekanizması	34
Şekil 8:	Serum Gas6 Standart Grafiği	46
Şekil 9:	Serum Axl Standart Grafiği	47
Şekil 10:	Serum sAxl Standart Grafiği.....	48
Grafik 1:	Çalışma gruplara ait Gas6 değerlerinin 0. ay ve 6. ay karşılaştırması “Boxplot” grafiği.....	51
Grafik 2:	Çalışma gruplara ait Axl değerlerinin 0. ay ve 6. ay karşılaştırması “Boxplot” grafiği.....	51
Grafik 3:	Çalışma gruplara ait sAxl değerlerinin 0. ay ve 6. ay karşılaştırması “Boxplot” grafiği.....	52

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes mellitus (DM) insülin sekresyonu, insülinin etkisi veya her ikisinde defekt sonucunda oluşan hiperglisemi ile karakterize bir grup metabolik hastalıktır. DM, prevalansı giderek artan ve insan sağlığını ciddi şekilde tehdit eden en önemli kronik hastalıklardan biridir. Hücre büyümesi, proliferasyon ve büyümenin durması kısmen Groth Arrest Specific Protein 6 (Gas6) ve onun Tyro3, Axl, Mer (TAM) reseptörlerine bağlanması ile regüle edilir. Axl bir TAM reseptörüdür ve Gas6'nın ligandıdır. Kanser gelişmesinde önemli rol oynar. Axl'in çeşitli insan kanserlerinde aşırı ekspresyona uğradığı, invazyon ve metastasla ilişkili olduğu belirlenmiştir. Axl in proliferasyon, migrasyon, apoptozisin inhibisyonu ve terapötik direnci içeren onkojenik özellikleri sinyal yollarının aktivasyonu ile gösterilmiştir. Reseptör Tirozin Kinazlara bağlanan sinyal molekülleri Gas6/AXL, PI3K/AKT/mTOR çeşitli sinyaller aracılığıyla aktive edilebilir. PI3K/AKT/mTOR sinyal yolundaki genetik varyasyonlar, diyabet hastalığı ile ilişkilidir. Bu çalışmada, Tip 2 Diyabet hastalarında kullanılan Metformin ve Metformin ile kombine olarak kullanılan İnsülin'in Growth Arrest Spesifik Protein 6 (Gas6) ve Axl proteinleri üzerine etkilerinin araştırılması ve Gas6/Axl yolağının Tip 2 Diyabet hastalarında prognozu değerlendirmek için potansiyel bir biyobelirteç olarak öneminin araştırılması planlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM), pankreasın yeterli miktarda insülin hormonu üretememesi veya ürettiği insülin hormonunun etkili bir şekilde kullanılamaması durumunda gelişen, çeşitli genetik ve / veya çevresel faktörler tarafından tetiklenen birçok biyokimyasal ve klinik bulgu ile seyreden bir metabolizma hastalığıdır (Iyidir ve Altinova, 2012; Sun ve ark., 2014)

Diyabetes Mellitus, hiperglisemi, dislipidemi, glikozüri gibi metabolik komplikasyonların yanı sıra uzun süreçte böbrek yetmezliğine neden olan nefropati, körlüğe yol açan retinopati, ayakta amputasyonla sonuçlanan nöropati, vasküler hastalık, cinsel fonksiyon bozukluğu, gastrointestinal sistem bozukluklarına yol açabilen nöropati gibi ciddi kronik komplikasyonlara yol açmaktadır (Alberti ve Zimmet 1998).

DM, insan sağlığını ciddi şekilde tehdit eden ve prevelansı giderek artan morbidite ve mortalite riski yüksek, en önemli kronik hastalıklardan biridir (Malhan ve ark., 2014; Naghavi ve ark., 2017).

2.1.1 Epidemiyolojisi

İnsanların yaşlanmasıyla birlikte fiziksel aktivitenin azalmasına bağlı olarak enerji tüketimindeki bir azalma, aşırı kilo ve obeziteye neden olmakta ve DM gibi çeşitli kronik hastalıkların riskini ve patogenezi etkilemektedir(Amine et al. 2003).

Uluslararası Diabet Federasyonu (IDF), 2017 yılında diyabetik hasta sayısı 425 milyon iken; 2045 yılına kadar bu sayının 629 milyona çıkacağını öngörmektedir. Ayrıca bu verilere göre yaklaşık olarak 4 milyon kişinin (20 ile 79 yaş aralığında) diyabet nedeniyle öldüğü tahmin edilmektedir. Diyabet nedeniyle ölümlerin daha çok 60 yaş altındaki kişilerde görülmüştür(Cho ve ark., 2018)

Ülkemizde 2010 yılında diyabet prevalansını saptamak amacıyla, toplum genelinde yapılan, Türk Diabet Epidemiyolojisi Çalışması (TURDEP-II) Türkiye nüfusunda yaklaşık 6,5 milyon diyabet hastası olduğunu göstermektedir. DM prevalansı, erkeklere göre kadınlarda daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca tüm popülasyon birlikte değerlendirildiğinde kırsalda yaşayanlar, kentsel bölgede yaşayan kişilere göre daha düşük bulunmuştur (Satman ve ark., 2013).

1998 yılında yapılan TURDEP-I çalışması ile TURDEP-II çalışmasıyla karşılaştırıldığında; DM'de %90, obezitede %40 ve bozulmuş glukoz tolerans testinde %106 artış olduğu tespit edilmiştir (Satman ve ark., 2002; 2013).

2.1.2. DM Etiyolojik Sınıflandırılması

Doğru tedaviyi belirlemek için, diyabet türü önemli bir rol oynar. 2010 yılında Amerikan Diyabet Derneği (ADA) aşağıdaki sınıflandırmayı önermiştir (American Diabetes Association 2010).

Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM): Otoimmün β hücre yıkımı nedeniyle, genellikle insülin eksikliğine yol açar;

Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM): İnsülin direncinin arka planında sıklıkla β hücre insülin sekresyonunun giderek azalması nedeniyle;

Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM): Gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde gebelikten önce açıkça aşılmayan diyabet;

Diğer Nedenlere Bağlı Spesifik Diyabet Türleri, monojenik diabet sendromları (yenidoğan diyabeti ve gençlerin olgunluk başlangıçlı diyabeti), ekzokrin pankreas hastalıkları ve ilaç veya kimyasal kaynaklı diyabet (HIV/AIDS tedavisinde, nakil sonrası, glukokortikoid kullanımı,).

2.1.2.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

Tip 1 Diyabetes Mellitus, pankreas beta hücrelerinde seçici ve ilerleyici şekilde harabiyete bağlı olarak meydana gelen, hasta hayatının devamı için insülin tedavisinin zorunlu olduğu, aksi durumda koma, ketoasidoz ve ölümün görülebileceği diyabet tipidir (Nishida ve ark., 2004).

Hastaların %90'ın da otoimmün (Tip 1A), %10 kadarında da immün olayların dışında beta hücre yıkımı nedeniyle mutlak insülin eksikliği oluşur. Tip 1A Diyabetes Mellitus,

HLA(DR3/DR4) ile güçlü birliktelik gösteren otoimmün bir hastalıktır (Salman ve ark., 2020).

Riskli doku grupları bulunan genetik yatkın kişilerde; toksinler, virüsler, emosyonel stres gibi çevresel tetikleyici faktörlerin etkisiyle otoimmünite tetiklenir. Bu şekilde ilerleyici beta hücre hasarı başlar ve beta hücresinin rezervi %80-%90 azaldığında klinik olarak diyabet belirti ve bulguları ortaya çıkar. Adacık otoantikorları tanı anından önce ve insülin tedavisine başlamadan önce saptanabilir (Palmer ve ark., 2011).

İnsülin, GAD65, ICA/IA2 ve ZnT8 gibi bazı otoantikorlarda pozitiflik oranı yüksektir. Buna rağmen tip 1A diyabet immunopatogenezinde otoantikorların patojenik bir rolü olduğuna dair kanıt yoktur (Palmer ve ark., 2011).

Tip 1 Diyabetes Mellitus'un diğer bir alt tipi olan Tip 1B Diyabetes Mellitus'da otoimmün olmayan nedenlerle mutlak insülin eksikliği oluşur. Kanda adacık antikorları negatiftir. Tip 1 DM çoğunlukla 30 yaşından önce ortaya çıkar. Okul öncesi, puberte ve geç adolesan dönem olmak üzere 3 pik yaptığı görülmüştür. Fakat son 20 yıldır daha geç yaşlarda başlayan latent otoimmün diyabet formunun, 15 yaş altı çocuklarda tip 1 diyabete yakın oranda olduğu bildirilmiştir (Salman ve ark., 2020).

Son yıllarda yapılan çalışmalarla fenotipik özellik olarak insülin direnci baskın olan, Tip 2 Diyabete benzeyen, obez / kilolu kişilerde görülen 'duble diyabet', 'hibrid diyabet' veya 'tip 3 diyabet' diye isimlendirilen yeni bir tip 1 diyabet çeşidi tanımlanmıştır (Salman ve ark., 2020).

Tip 1 Diyabetlilerde, Pernisiyöz anemi, Hashimoto Tiroidi, Addison ve Graves Hastalığı gibi diğer otoimmün hastalıklar için de artan bir risk vardır (Verhulst ve ark., 2019).

2.1.2.1. Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 Diyabetes Mellitus (T2DM), diyabetin en sık görülen formudur. Gelişmiş ülkelerde diyabet gelişen yetişkinlerin, %90'ı Tip 2 Diyabettir (Cho ve ark., 2018).

Tip 2 Diyabetes Mellitus fizyopatolojisinde esas sorun insülin direnci ve insülin sekresyonundaki azalmadır. Tip 2 Diyabette insülin direncinin ve beta hücre disfonksiyonunun patogeneizde rolü bilinmesine rağmen hastalık süreci heterojen olup diğer patojenik faktörleri de içermektedir. İnsülin direnci geliştiğinde, postreseptör düzeyde hücre reseptör defekti sonucunda pankreasın ürettiği insülin kullanımında

ortaya çıkan sorunlar nedeniyle glukoz hücre içine alınıp enerji olarak kullanılamaz, bunun sonucunda hücre içi hipoglisemi oluşur. Özellikle kas ve yağ dokusu gibi periferik dokularda insülinin etkisi yetersiz kalır. İnsülin duyarlılığı etnik köken, yaş, vücut ağırlığı, fiziksel aktivite ve ilaçlar dahil birçok faktörden etkilenebilir (Paolisso ve ark., 1999; Kahn ve Cooper 2005).

Çoğu dokuda insülin direnci sonucunda, insüline metabolik talep artışı olur. Bu durum hiperglisemi gelişiminden önce meydana gelir. Bu sebeple pankreatik beta hücrelerinin insülin hipersekresyonu ile insülin direncini telafi ettiği normoglisemi dönemi vardır. Beta hücrelerindeki bu kompanzasyon dönemini beta hücre yetmezliği dönemi izler. En son süreç olarak pankreastan gerektiği kadar insülin salınamaz ve Diabetes Mellitus oluşur (Kasuga 2006).

Tip 2 Diyabetes Mellitus çoğunlukla 30 yaşından sonra görülür. Fakat obezite de artış görülmesi ile birlikte son 10-15 yılda çocukluk ve adolesan çağda görülen Tip 2 DM vakaları sayıca artmaya başlamıştır. Tip 2 DM hastalarının %60-90'ı obezite ile ilişkilendirilmiştir (Anderson, Kendall, and Jenkins 2003).

Tip 2 Diyabetes Mellitus gelişiminde vücut kitle indeksinin (VKİ) 30 kg/m²' den büyük olması en önemli riski oluşturur (Narayan ve ark., 2007).

Tip 2 Diyabetes Mellitus'a yatkınlık oluşturan genler bulunmamış olmakla birlikte, Tip 1 DM'ye göre daha sıkı bir genetik ilişki olduğu düşünülmektedir. Tek yumurta ikizlerinde Tip 2 Diyabetin genetik uyumu %70-90'a kadar varmaktadır. Ebeveyninde diyabet olan çocuklarda diyabet gelişme riski %40 artmıştır (Satman ve ark., 2013).

Tip 2 Diyabetes Mellitus hastalarının %80'i obez olmakla birlikte yaşlı hastalar zayıf olabilir. Genellikle bu hastalarda santral obezite daha sık görülür. Kardiyovasküler hastalık, dislipidemi, hipertansiyon ve polikistik over sendromu gibi hastalıklarla da birlikte bulunabilir (Amine ve ark., 2003).

Hastalık çoğunlukla sinsi başlangıçlıdır. Çoğu hastada başlangıçta semptom yok iken; bazı hastalar ise el, ayaklarda ağrı ve uyuşma, tekrarlayan mantar enfeksiyonları, bulanık görme ve yara iyileşmesinde gecikme şikayetleri ile başvurabilir. Hastalar, hastalığın başlangıcında diyabetik ketoasidoza yatkın değildirler, fakat beta hücre rezervinin azaldığı ilerleyen dönemlerde diyabetik ketoasidoz görülebilir (Salman ve ark., 2020).

Kardiyovasküler hastalık açısından diyabet bağımsız bir risk faktörüdür. Yapılan birçok çalışmada diyabetin koroner kalp hastalığı riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Diyabetli hastalarda ortaya çıkan ateroskleroz daha erken yaşlarda ve multisegment tutulum şeklinde görülür. İnsülin direncinin; hipertansiyon ve hiperlipidemi gibi kalp damar hastalıkları için risk faktörü olduğu düşünülürse, hiperglisemi ve sistemik insülin direncinin ateroskleroz patogeneğinde olan rolünü ayırmak güçtür (Salman ve ark., 2020).

2.1.2.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus

Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM), gebelik öncesinde belirgin şekilde diyabeti olmayan gebelerde, gebeliğin ikinci veya üçüncü trimesterinde tanı alan diyabet olarak günümüzde tanımlanmaktadır.

Gebe kadınların yaklaşık %6-9'unda diyabet gelişmekte olup, bunların da %90'ının gestasyonel diyabet olduğu tespit edilmiştir. Genç yaş grubundaki kadınlarda obezite oranının artmasıyla, gebelikte hiperglisemi saptanan bazı kadınlarda, bu durumun tanı konulmamış pregestasyonel diyabet olduğunu düşündürür. Bu kadınlarda, gebeliğin başında mevcut olan hiperglisemi, organogenezde bozulmaya yol açarak fetusta anomali görülme sıklığını artırır. Bundan dolayı diyabet açısından yüksek riskli hastaların, ilk prenatal muayenede, standart diyabet tanı kriterlerine göre değerlendirilmesi önerilir (Salman ve ark., 2020).

2.1.2.4. Diğer Spesifik Diyabet Tipleri

Diyabetin monogenik kalıtım mekanizması; insülin salınımında defekt ve insülin direncine bağlı yetersiz cevap gibi mekanizmaları içermektedir. Diyabetin monogenik kalıtılan tipinde, ilgili gen aktarımı hastalığın ortaya çıkması için yeterli olarak görülmektedir. Diğer bir ifadeyle, genetik yatkınlığı olan kişinin diyabet hastası olup olmayacağının belirlenmesinde çevresel faktörlerin çok az rol oynadığı düşünülmüştür. Diyabetin monogenik formları çoğunlukla daha genç yaşta (20-30 yaşlarında) teşhis edilir. Fakat plazma glukozunda hafif yükselmeleri olan, asemptomatik hastalarda teşhis hastanın yaşamının sonuna kadar gözden kaçabilir (Demarchi ve ark., 2011).

Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları (MODY), pankreasın beta hücre fonksiyon kaybı ile karakterize bir grup monogenik bozukluğu içermektedir. Diyabetli

hastaların yaklaşık olarak %1 ila 2'sini MODY grubu oluşturmaktadır (Sun ve Hu., 2014).

Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları, hipergliseminin çoğunlukla 25 yaşından önce görüldüğü, insülin sekresyon bozukluğu ile karakterize, otozomal dominant kalıtımla geçen bir diyabet türüdür. Günümüzde belirgin genetik etiyolojilerle en az 13 MODY alt tipi tanımlanmıştır. Bu hastalarda otoantikorlar negatiftir. MODY vakaları, adolesan çağdan sonra tanı alan Tip 1 Diyabet ya da daha genç yaşta ortaya çıkan Tip 2 Diyabet vakaları ile karışabilir. Tip 1 Diyabet ile ayrılamayan MODY vakalarında otoantikor bakılarak ayırıcı tanıya gidilebilir. MODY hastalarında asemptomatik aile bireylerinin erken tanı almasında doğru genetik tanı önem taşımaktadır (Thanabalasingham and Owen 2011).

2.1.3. Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri

Glukoz metabolizması ve diyabetin tanı ve sınıflandırılmasında bazı değişiklikler yapılmıştır. 1997 yılında, Amerikan Diyabet Derneği (ADA) yeni tanı ve sınıflama kriterlerini yayımlamış, 1999'da Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu kriterleri küçük revizyonlarla kabul etmiştir. 2003 yılında, bozulmuş açlık glukozu (BAG) tanısı için ADA tarafından revizyon yapılmıştır. Buna karşılık WHO ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) tarafından 2006 yılında yayımlanan raporda 1999 kriterlerinin korunması benimsenmiştir (Unwin, 2006).

2.1.4 Diyabet Takibinde HbA1c'nin Önemi

HbA1c; ölçümden önceki, ortalama 8-10 haftalık glukoz düzeylerini gösterir. Ölçümü için açlık gerektirmez. Günlük glukoz değişimleri, HbA1c değerini etkilenmez. Yılda en az 2-4 defa kontrol edilmelidir (Ilkova ve ark., 2011). Eritrosit ömrünü azaltan durumlarda; kronik böbrek yetmezliği, 2-3 ay içinde yapılmış transfüzyon, akut kan kaybı, kronik anemiler, insanlar arasında glikolizasyon farkının olması, oral C ve E vitamini alımlarında, hemoglobinopatiler, kan transfüzyonu yanlış değer alınabilir.

Diyabet ve glukoz metabolizmasının bozuklukları için güncel tanı kriterleri Tablo 1’de görülmektedir.

Tablo 1: Diyabet ve glukoz metabolizmasının bozuklukları için güncel tanı kriterleri

	Aşık DM	İzole BAG	İzole BGT	BAG + BGT	YRG
APG (≥8 saat açlıkta)	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl	<100 mg/dl	100-125 mg/dl	-
OGTT 2.st PG (75 g glukoz)	≥200 mg/dl	<140 mg/dl	140-199 mg/dl	140-199 mg/dl	-
Rastgele PG	≥200 mg/dl + Diyabet semptomları	-	-	-	-
A1C**	≥%6.5 (≥48 mmol/mol)	-	-	-	%5.7-6.4 (39-47 mmol/mol)
DM: Diabetes mellitus, APG: Açlık plazma glukozu, 2.st PG: 2. saat plazma glukozu, OGTT: Oral glukoz tolerans testi, A1C: Glikozillenmiş hemoglobin A1c, BAG: Bozulmuş açlık glukozu, BGT: Bozulmuş glukoz toleransı, YRG: Yüksek risk grubu					

Türkiye Endrokronoloji ve Metabolizma Derneği’nin (TEMD) önerileri aşağıdaki gibi sıralanmıştır(Salman ve ark., 2020).

- Diyabet tanısında; APG, OGTT 2.st PG, diyabet semptomları ile birlikte rastgele PG, A1C değerleri eşit seviyede kullanılabilir.
- A1C yöntemi kullanılacak ise, standart bir yöntemle ölçülmesi, güncel bir yeterlilik belgesi olan, standart bir yöntemle ölçülmüş olması gereklidir.
- Eritrositin yaşam döngüsünü hızlandıran (yakın dönemde kanama veya kan transfüzyonu, eritropoetin tedavisi, gebelik, hemodiyaliz vb.) durumlarda veya Hemoglobinopati varsa tanı testi olarak A1C kullanılmamalıdır.

- GDM tanısı için, tek aşamalı 75 g glukozlu OGTT ya da iki aşamalı 50 g glukozlu ön tarama testi sonrasında, 100 g glukozlu 3 saatlik OGTT tanı yöntemlerinden birisi kullanılabilir.

2.1.5. Diyabet Semptomları

Klasik semptomlar

- Ağız kuruluğu
- Çabuk yorulma, halsizlik,
- Noktüri
- Poliüri
- Polifaji
- Polidipsi

Daha az görülen semptomlar

- Kaşıntı
- Sebebi belli kilo kaybı
- Bulanık görme
- Enfeksiyonlar
- Tekrar eden mantar enfeksiyonları

2.1.6. Diyabet Tedavisi

Diyabet tedavisinde amaç; gün içinde kan glukozunun normoglisemik düzeyde tutularak, mikrovasküler ve makrovasküler, akut ve kronik komplikasyonların önlenmesi, diyabete eşlik eden başka sorunların düzeltilmesiyle diyabetli hastada mevcut olan yaşam kalitesinin yükseltilmesini sağlamaktır. Diyabet tedavisine başlanmadan önce hastanın antropometrik ve sosyodemografik verileri mutlaka kaydedilmelidir. Tedavinin başlıca ana unsurları; diyabet eğitimi, sağlıklı beslenme, fiziksel aktivite, medikal tedavidir.

DM'li hastaların diyet programı düzenlenirken hasta ile ilgili; yaş, cinsiyet, BMİ, biyokimyasal bulguları, hastanın beslenme alışkanlığı, diğer hastalıkları, çalışma koşulları, ekonomik durumu, eğitim düzeyi gibi veriler göz önünde bulundurulmalıdır. Beslenme tedavisi kişiye göre özel olarak düzenlenmelidir. Tip 1 DM'li ve Tip 2 DM'li

hastalarda, tedavide beklenen hedefler biraz farklı olsa da, beslenme tedavisi bileşeni aynıdır.

Gestasyonel DM'li hastalarda, tanıyla birlikte diyetisyen tarafından önerilen sağlıklı beslenme tedavisine başlanmalıdır.

Hastanın enerji gereksinimi Vücut Kütle İndeksi (VKİ) ile tanımlanır. Hedeflenen VKİ < 27'ye erişme; 500-1000 kkal/gün eksik enerjili diyetle, 3-6 ayda sağlanmalıdır.

DM'li hastaların tedavisine başlamadan önce ilk olarak VKİ, vücut yağ ağırlığı, yağsız vücut ağırlığı ve deri kıvrım ölçümleri yapılmalıdır. Egzersiz programı düzenlenirken, mutlaka hastanın fonksiyonel kapasitesi göz önünde bulundurulmalıdır. Fiziksel aktivite programı belirlenirken; denge ve esneklik değerlendirilmesi, duyu değerlendirilmesi, kardiyak değerlendirme ve yürüme parametrelerinin değerlendirilmesi gereklidir.

Egzersizler, haftada en az 3 gün olacak şekilde egzersiz programı düzenlenmelidir. Başlangıçta, 5-10 dakikalık ısınma-soğuma egzersizleri, 15-60 dakika arasında büyük kas gruplarını içeren, ritmik, dinamik ve aerobik bir aktivite seçilmelidir.

Egzersiz sırasında, baş dönmesi, ciddi nefes darlığı ya da bulantı gibi sorunlar ile karşılaşılırsa egzersizler sonlandırılmalıdır. Egzersizle birlikte vücut aktivitesinin artması ve vücut ısısının artması insülinin etkisini artırır, bu durum hipoglisemiye yol açabilir. Bu nedenle, egzersiz süresince kan glukoz düzeyinde herhangi bir düşüş olması durumunda, kan glukozunu hızla yükseltebilecek yiyecekler bulundurulmalıdır.

2015 yılında ADA raporu, DM'li hastalara haftada en az 150 dakika, aerobik fiziksel aktivite yapılmasını önerir. T2DM'li hastalarda, düzenli olarak 3 ay yürüme programı ile fiziksel uygunluk artar, yağ oranı azalır. Ancak; hiperglisemi kontrol altına alınmalı, sekonder problemler minimize edilmeli, metabolik duruma göre kişiye özel egzersizler verilmelidir.

Diyabetli kişiye hastalık ve tedavi süreci ile ilgili bilgi verilmeli, hangi durumda hastaneye başvurması gerektiğini belirtilmelidir. Konuyla ilgili TEMD önerileri kısaca aşağıdaki gibi sıralanmıştır (Salman ve ark., 2020).

- Sadece oral antidiyabetik ilaç ile birlikte bazal insülin kullanan T2DM’li hastalarda günde 1 kez; tıbbi beslenme tedavisi ve oral antidiyabetik ilaçlarla izlenen T2DM’lilerde haftada 3-4 kez glukoz ölçümü önerilmelidir.
- Gebelerde, açlık ve birinci saat tokluk glukoz ölçümleri tercih edilmelidir.
- İnsülin kullanan hastalarda, glukoz ölçümü tedavinin en önemli bileşenlerindendir.
- İnsülin kullanan T1DM’li hastalar, T2DM’li hastalar ve GDM’li hastalar günde 3-4 defa yemek öncesinde, haftada bir gün gece uyumadan önce ve ayda bir gün 02.00-04.00 saatleri arasında glukoz ölçümü yapılarak mutlaka takibi yapılmalıdır.

2.1.7. Medikal Tedavi

Diyabet tanısı alan kişilerde, beslenme ve egzersiz ön planda tutulması gerekir. T2DM’de alınan önlemler metabolik kontrolü sağlamada yetersiz kalacağı için zamanla medikal tedaviye ihtiyaç duyulur ve çoğu hasta oral antidiyabetik ilaçla tedaviye başlanır.

Oral antidiyabetik ilaçların sınıflaması şu şekildedir;

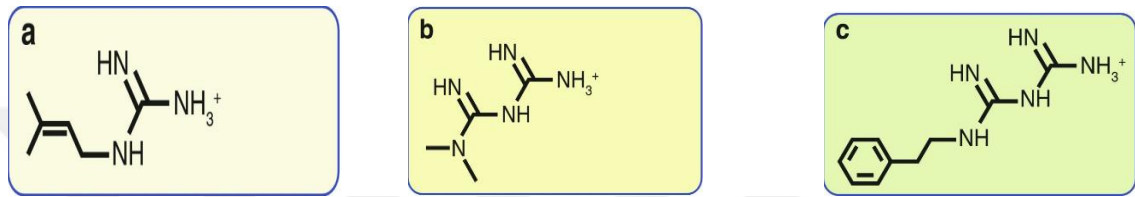
- Karbonhidrat emilimini azaltanlar (Glukozidaz inhibitörleri)
- İnsülin duyarlılığını arttıran ilaçlar (Metformin, tiazolidinedionlar).
- İnsülin sekresyonunu arttıran ilaçlar (Sülfonilüreler, Meglitinid analogları).
- İn kreatin bazlı tedaviler (Dipeptidil Peptidaz-4 inhibitörleri ve glukagon-likepeptid-1 reseptör angonistleri).

2.1.7.1. Metformin

Metformin, Ortaçağ Avrupa’sında bitkisel tıpta kullanılan Galega officinalis bitkisinden elde edilen doğal bir ürün olan galeginden elde edilmiştir. Galegine 1920’lerde insanlarda glukoz düşürücü bir ajan olarak test edilmiş ancak çok toksik olduğu bulunmuştur. Yaklaşık aynı zamanda, galeginin iki sentetik türevi olan metformin ve fenformin ilk olarak sentezlenerek test edilmiş ancak 1950’lere kadar klinik kullanıma sunulmamışlardır. 1960’lı yıllarda guanidine olan ilginin artması, biguanid türevli bileşiklerin sentezlenmesine yol açtı. Fenformin, diyabetik hastalara verilen ilk biguanid türevi bir bileşiktir fakat laktik asidoza neden olmuştur. Biguanid türevi olan metformin ise diyabetik hastalar tarafından fenformine göre daha iyi tolere edilmiştir

(Saravanamuttu and Sudarsanam 2012). 1990'larda Tip 2 diyabetin tedavisi için Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanıştır.

Metformin ve fenformin, galeginin sentetik türevleridir. Kimyasal olarak, galegin (aynı zamanda izoprenilguanidin olarak da bilinir), guanidinin bir izoprenil türevidir, metformin (dimetilbiguanid) ve fenformin (fenetilbiguanid), iki guanidin molekülü içeren biguanidlerdir (Rena, Hardie, and Pearson 2017).



Şekil 1: a) Galeginin kimyasal yapısı b) Metforminin kimyasal yapısı c) Fenforminin kimyasal yapısı.

Metformin, çoklu mekanizmalar yoluyla plazma glukozunu azaltan oral bir ilaçtır. Metformin, biguanid grubunun temsilcisi olarak kullanılır, antihiperglisemik etkisi olduğundan hipoglisemi riski yoktur. Doğru kullanıldığında etkili ve güvenlidir. Tipik olarak günde bir veya iki kez uygulama için uzatılmış salınımlı formülasyonlar olarak kullanılabilir (Aggarwal ve ark., 2018).

Metforminin dozajları; günde bir veya iki kez 500 mg olarak başlar ve günde iki kez 1.000 mg olarak bir hedef doza göre arttırılmalıdır (Garber ve ark., 1997).

Metformin kullanımında gastrointestinal semptomlar yaygın olarak görülür. Bu semptomlar doza bağımlıdır ve zamanla veya doz azalması ile düzelebilir. Metformin, $eGFR < 30 \text{ mL min}^{-1} [1.73 \text{ m}]^{-2}$ hastalarda kullanılmamalıdır ve $eGFR < 45 \text{ mL dk}^{-1} [1.73 \text{ m}]^{-2}$ olduğunda doz azaltılması düşünülmelidir. Metformin kullanan hastalarda $eGFR$ düzeyleri takip edilmelidir (Inzucchi ve ark., 2014).

Akut böbrek hasarı veya şiddetli hastalık durumlarında nadiren laktik asidoz vakaları bildirilmiştir. Bu nedenle kusma veya dehidratasyon durumunda metformin kullanılmamalıdır. Metformin, serumda vitamin B-12 düşüklüğüne neden olabilir; bu yüzden özellikle anemi veya nöropatisi olan hastalarda seviyelerin periyodik olarak izlenmesi önerilmektedir (Aroda ve ark., 2016).

Metformin'nin biyoyararlanımı yaklaşık %50-60 kadar olup; ince barsaklardan absorbe edilir. Metforminin plazma düzeyleri, barsaklardan emiliminden sonraki 2. saatte maksimum seviyeye ulaşır ve birçok dokuda plazma düzeyine eşdeğer olarak dağılır. Karaciğerde, barsak duvarında, böbrekte ve tükürük bezlerinde en yüksek konsantrasyonda bulunur. Metforminin plazmadaki yarılanma ömrü 1.5-4.5 saattir. Metformin suda çözünbildiği için plazmada proteinlere bağlanmaz. Molekül yapısı değişime uğramadan 12 saat içinde, glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyon yoluyla idrarla atılımı gerçekleşir (Song 2016).

Metforminin avantajları arasında yüksek etkinliği, düşük toksisitesi, az yan etkiye sahip olması, düşük maliyeti, monoterapi olarak kullanıldığında minimal hipoglisemi riski ve biraz kilo kaybı potansiyeli sayılabilir (Griffin, Leaver, and Irving 2017).

Metforminin, HbA1c'nin düşürülmesindeki yüksek etkinliği nedeniyle, iyi bir güvenlik profili ve düşük maliyeti T2DM'nin tedavisi için ilk basamak ilaç olmaya devam etmektedir.

2.1.7.2. Metforminin Antidiyabetik Etki Mekanizması

Metformin, T2DM tedavisinde yaygın kullanılan antidiyabetik bir ilaçtır. Metforminin etki mekanizması, glukoz düzeyini düşürmesine dayanmaktadır. Bu etkisini birkaç yolla gerçekleştirmektedir. Bu yollardan biri glukoneojenezin ve glikojenolizin inhibisyonu yoluyla karaciğerden glukoz çıkışını azaltmasıdır (Inzucchi ve ark., 1998). Ayrıca metformin adipositlerde ve iskelet kasında insülin aracılı glukoz alımını düşürerek ve barsaklardan glukoz emilimini azaltarak etkisini gerçekleştirmektedir (Inzucchi ve ark., 2002).

Metformin, endojen glukoz üretiminde %25-30'luk bir azalmaya neden olmaktadır (Kanigür-Sultuybek ve ark., 1995). Metformin, sülfonilürelerden farklı olarak, insülin salınımını uyarmamaktadır (Hundal ve ark., 2000).

Diyabette olduğu gibi obezitede de serbest yağ asitlerinin miktarı artmaktadır. Bu artış, karaciğerde glukoz üretiminde artışa neden olur ve aynı zamanda insülin reseptöründe duyarsızlığa neden olarak, insülin direncine neden olmaktadır (Paolisso ve ark., 1999).

Metforminin kan glukozunu hipoglisemiye neden olmadan düşürmesine ek olarak dokulardaki insülin duyarlılığını artırır, insülin direncinin kırılmasına katkı sağlar.

Böylece, yağlı karaciğer hastalığı veya kiloya bağlı insülin direnci olan bireylerde metformin kullanımının yararlı olduğu bildirilmiştir(Viollet ve ark., 2012).

Metforminin etki mekanizması, ağızdan alınan diğer antihiperglisemik ilaçlardan farklıdır. Metforminin hücrenin içindeki öncelikli moleküler hedefinin mitokondri olduğu ifade edilmektedir. Adenozin trifosfat (ATP) sentezinde ve oksidatif fosforilasyonda önemli rolü olan metforminin elektron taşıma zincirinde (ETZ) yer alan Kompleks I ekspresyonunu yavaşlattığı için ATP sentezinin de azaldığı belirtilmiştir (Evan ve ark., 2005) .

Metforminin karaciğere alınması organik katyon taşıyıcı-1 (OCT1) tarafından katalize edilir (Wang ve ark., 2002).

Pozitif yüklü olan ilaç, plazma zarı ve mitokondriyal iç zardaki zar potansiyelleri nedeniyle hücrelerde ve ayrıca mitokondride birikir (Owen, Doran, and Halestrap 2000).

Metformin, Kompleks I'i inhibe eder, mitokondriyal ATP üretimini önler ve böylece sitoplazmik ADP/ATP ve AMP/ATP oranlarını artırır (ikincisi adenilat kinaz reaksiyonunun yer değiştirmesiyle); bu değişiklikler AMPK'yi etkinleştirir (Shaw ve ark., 2005).

Alternatif olarak AMPK, Axin ve endozomal / lizozomal adaptör, MAPK ve mTOR aktivatör 1 gerektiren bir lizozomal mekanizma ile aktive edilebilir (Zhang ve ark., 2016).

AMP/ATP oranındaki artışlar fruktoz-1,6-bisfosfatazi da inhibe ederek glukoneogenezin akut inhibisyonuna neden olur, aynı zamanda adenilat siklazı inhibe eder ve cAMP üretimini azaltır (Miller ve ark., 2013).

AMP ile aktive edilmiş protein kinaza (AMPK) bağlanır ve enzimde allosterik olarak değişikliğe neden olarak, AMPK aktive edilir (Evans ve ark., 2005).

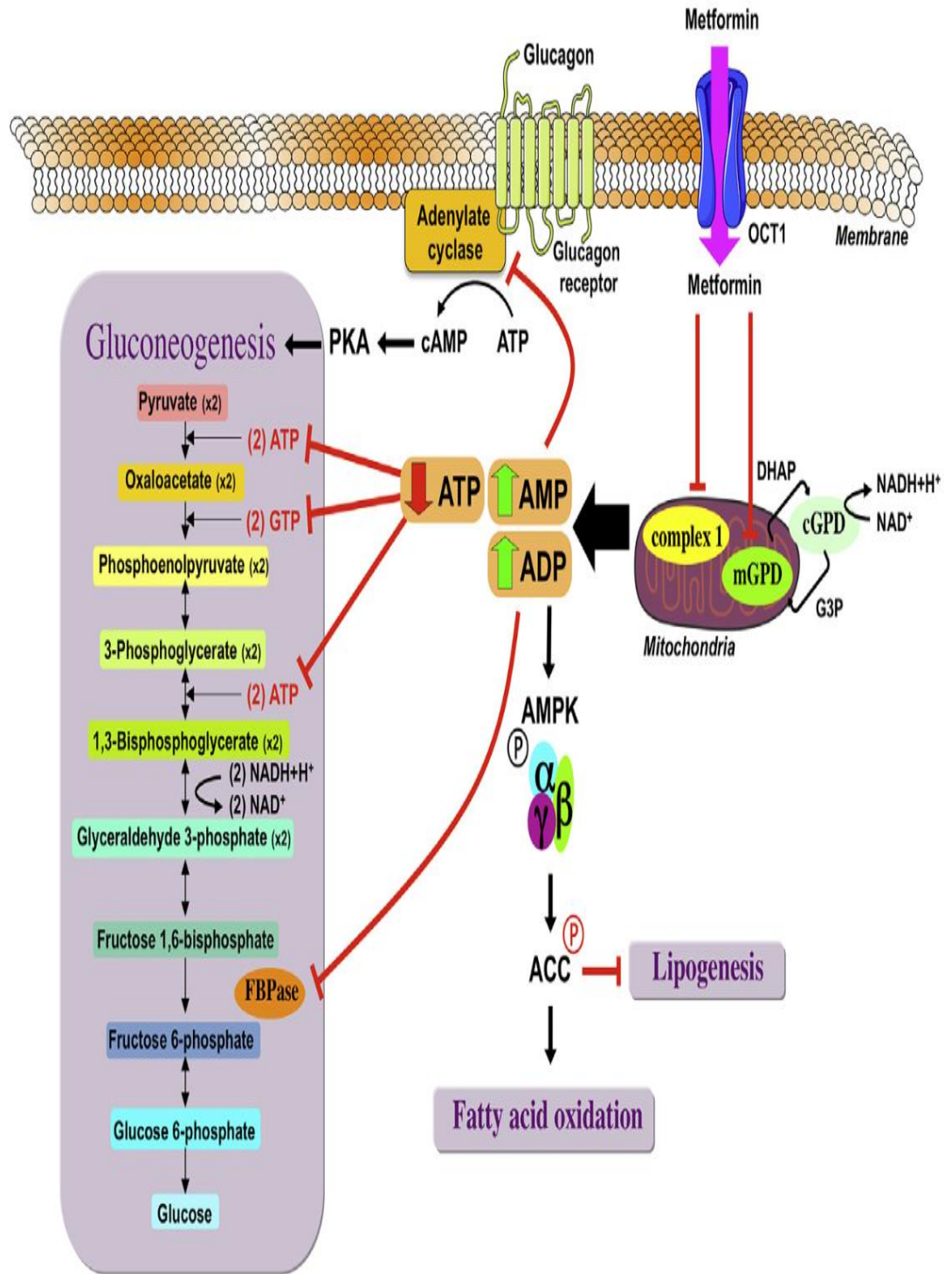
AMPK'nın aktivasyonu, hücre anabolik evreden katabolik evreye geçer. Aktif AMPK, Asetil CoA Karboksilaz (ACC)'ın ACC1 ve ACC2 izoformlarını fosforile eder, yağ sentezini inhibe eder ve bunun yerine yağ oksidasyonunu teşvik eder, böylece hepatik lipid depolarını azaltır ve hepatik insülin duyarlılığını artırır (Fullerton ve ark., 2013).

AMPK ayrıca cAMP'ye özgü 3', 5'-siklik fosfodiesteraz 4B'yi fosforile eder ve aktive eder, böylece cAMP'yi başka bir mekanizma ile düşürür (Johanns ve ark., 2016).

Karaciğerde cAMP'deki glukagon kaynaklı artışlar, cAMP bağımlı protein kinaz A'yı (PKA) aktive ederek, Fosfofruktokinaz 1'in fosforilasyonu ve inaktivasyonu yoluyla glikolizden glukoneogeneze geçişe neden olur. Fosfofruktokinazın allosterik aktivatörü ve fruktoz-1,6-bifosfataz inhibitörü olan fruktoz-2,6-bifosfata (F2,6BP) bir azalmaya neden olur. PKA ayrıca glikolitik enzim olan piruvat kinazın karaciğer izoformunu fosforile ederek inaktive eder ve transkripsiyon faktörü yanıt elementi bağlayıcı proteini fosforile eder, böylece PEPCK ve G6Paz gibi glikoneojenik enzimleri kodlayan genlerin transkripsiyonunu indükler (Rena, Hardie, and Pearson 2017).

Aynı zamanda, enerji metabolizmasında önemli rol oynayan AMPK yolağını dolaylı olarak etkileyerek; kolesterol ve lipid biyosentezi gibi diğer anabolik faaliyetleri baskılar (Mazière ve ark., 1988).

Metforminin kan glukoz seviyesini düşürme etkisinin yanı sıra, çeşitli dokularda lipid peroksidasyonunu azaltarak antioksidan özellik gösterdiği bildirilmiştir (Kanigür-Sultuybek ve ark., 1995).



Şekil 2: Metforminin metabolik etkileri (Foretz ve ark., 2014)

2.1.7.3. Metforminin Moleküler Hedefleri

Büyük çalışma gruplarıyla prospektif olarak yapılan araştırmalarda, T2DM'nin pankreas, böbrek, kolon, meme ve prostat gibi dokuları etkileyerek kanser riskini arttırdığı bildirilmiştir. Bu riskin, artan plazma insülin seviyesinin büyümeyi arttırıcı etkisiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Ollak ve ark., 2010). Ayrıca hem normal hücreleri hem de kanser hücreleri için büyümeyi düzenlemede ve metabolizmada etkin bir role sahip olan AMPK aracılığıyla olabileceği ileri sürülmüştür (Jalving ve ark., 2010).

AMPK'nin aktivasyonu, metforminin ETZ'de bulunan Kompleks I'ı inhibe ederek, mitokondriyal ATP üretimindeki düşüş sonucu gerçekleştiği ortaya konulmuştur (Fontaine ve ark., 2000).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, metformini tedavisi alan diyabet hastalarında karaciğer, pankreas ve rektum kanser riskini azaldığı ifade edilmektedir (Lee ve ark., 2011).

Bir çalışmaya göre; metforminin kanser hücrelerinin çoğalmasını engellemesiyle ilgili iki model öne sürülmüştür (Griss ve ark., 2015).

Birincisi, metforminin karaciğerde glikoneogenezi inhibe ederek, insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve sistemik insülin seviyelerini düşürür. İnsülin / IGF-1'e bağlı olarak gelişen tümör hücrelerinin büyümesini baskılar.

İkincisi, metformin, Kompleks I'ı ve oksidatif fosforilasyonu inhibe ederek tümör hücrelerinin diğer metabolik aktivitelerini azaltır (Pollak 2012).

Yapılan bir başka çalışmada, metforminin doğrudan kanser hücrelerindeki ETZ'deki Kompleks I'ı hedef aldığı gösterilmiş ve Kompleks I seviyesinin düşmesi sonucunda da in vitro ve in vivo olarak kanser hücrelerinin ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (Owen, Doran, and Halestrap 2000).

Kanser hücrelerinde metforminin etkisine yönelik bilinen en yaygın mekanizması, hem AMPK'ya bağımlı hem de bağımsız olarak, mammalian target of rapamycin kompleks 1 (mTORC1) inhibisyonudur. Ayrıca metforminin çeşitli kanser hücrelerinde onkojenik sinyal yollarını inhibe ettiği bildirilmiştir. Örneğin; STAT3, büyüme faktörü- β (TGF-

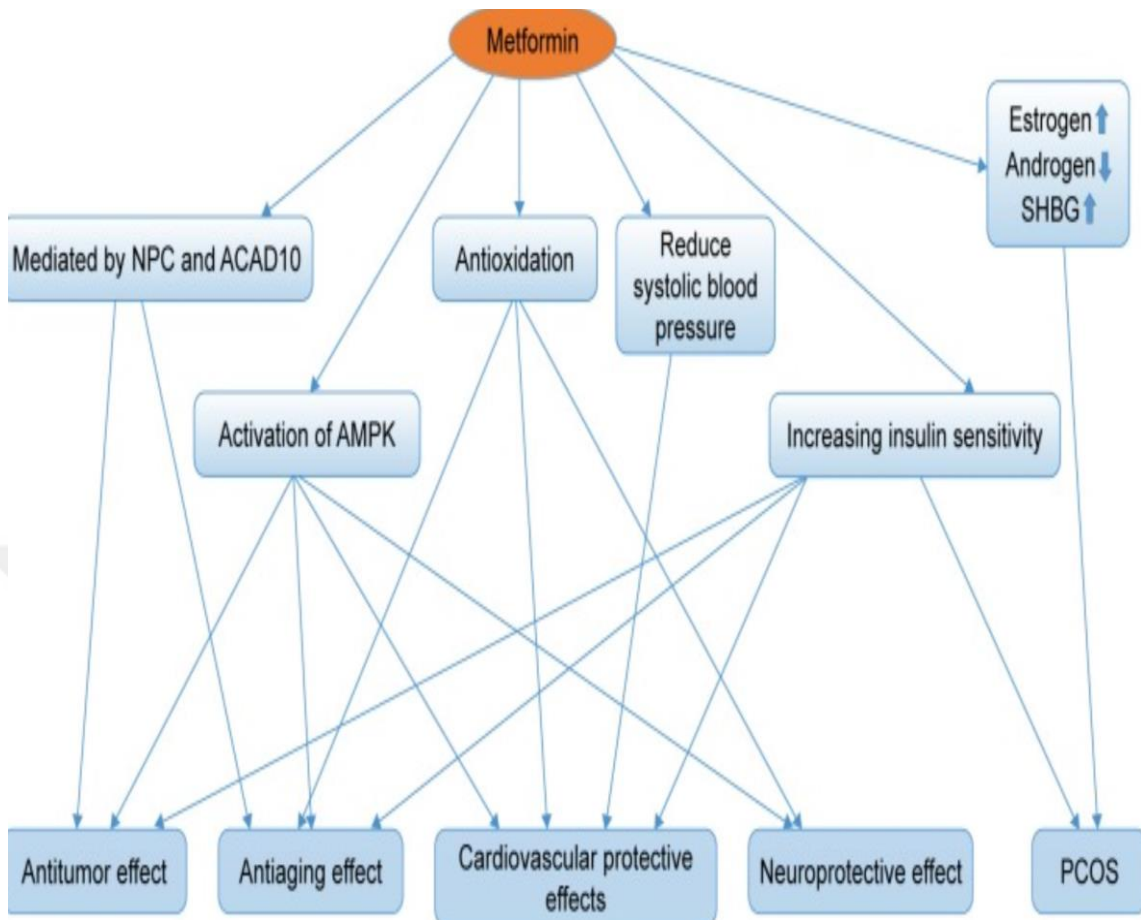
β), Smad2 / Smad3 gibi yolakların inhibisyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Wahdan-
alaswad ve ark., 2018).

Metforminin antidiyabetik etkisinin yanı sıra antikanser aktivitesi nedeniyle özellikle son yıllarda ilgi görmektedir. Kanser hücrelerinin büyümesini azaltarak apoptozu ve hücre döngüsünü etkiler. Ayrıca çeşitli kanser hücre hatlarında gerekli kemoterapi ilaç dozlarını azalttığını ve kemoterapiye duyarlılığı arttırdığını bildirilmiştir (Zhao ve ark., 2019).

Yapılan çalışmalar, metforminin antitümöral aktivitesi nedeniyle antikanser ilaçlarla birlikte tedaviye eklendiğinde, bu ilaçların tedavici edici etkilerini arttırabileceği öne sürülmüştür (Evans ve ark., 2005).

Diyabetli hastalarda yapılan çalışmalarda, metforminin bazı tip meme kanserlerinde sağkalımı uzattığını ve üçlü negatif meme kanseri üzerinde önemli bir etkisi olmadığını öne sürülmüştür (Anisimov ve ark., 2010).

Metforminin; akciğer kanseri, kolon kanseri, özofagus kanseri, prostat kanseri, meme kanseri ve melanom gelişimini azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca, metforminin kanser metastazında ve kanser kök hücrelerini hedeflemede önemli bir işlem olan epitelyal-mezenkimal geçişi tersine çevirmede önemli bir rol oynar (Lei ve ark., 2017).



Şekil 3: Metforminin etki mekanizmaları (Wang ve ark., 2017)

2.1.7.4. İnsülin

İnsülin, 1921 yılında keşfedilmesi ve 1922’de tedavide kullanılmaya başlanması, tip 1 diyabetli hastalar başta olmak üzere diyabetlilerin hayatta kalmasını ve yaşam kalitesini büyük ölçüde yükseltmiştir.

İnsülin tedavisi, insülinin keşfinden bu yana önemini korumaktadır. Her geçen gün fizyolojik insülin sekresyon dinamiğine daha fazla yaklaştıracak, yeni insülin tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine ve farklı insülin tiplerinin keşfedilmesine olanak tanımaktadır.

2.1.7.5. İnsülin Tedavisinin Amaçları

İnsülin tedavisine başlarken iki amaç gözetilir; insülin desteği sağlamak veya insülin eksikliğini replase etmek.

İnsülin replasmanı; T1DM hastalarda veya insülin rezervi azalmış T2DM hastalarda uygulanır. Vücudun normal insülin sekresyonunu taklit etmek amacıyla genellikle bazalbolus uygulama şeklinde tasarlanır.

Birçok hastada insülin rezervi tükenmiş değildir, hatta normal düzeylerde insülin üretimi vardır. Ancak, insülin direnciyle birlikte eşlik eden sorunlar nedeniyle insülin desteğine ihtiyaç gelişir. Genellikle bazal insülin desteğiyle tedavi başlar, gerektiğinde günde 2 dozlu tedaviye geçilir. Bu hastalar, zamanla çoklu doz ile tedavinin yoğunlaştırılmasına ihtiyaç duyabilir.

2.1.7.6. İnsülin Endikasyonları

Aşağıdaki bazı durumlarda T2DM’li hastalarda insülin tedavisine geçilmesi önerilir:

- İnsülin dışında antihiperglisemik ilaçlarla hedeflenen glisemik düzeyin kontrolünün sağlanamaması [örn. A1C ≥ 10 (86 mmol/mol) ve/veya glisemi ≥ 300 mg/dl olan kişiler]
- Aşık hipertrigliseridemi, aşırı kilo kaybı ve ketozis gibi insülin eksikliğini düşündüren bulgular
- Polidipsi, poliüri gibi ağır hiperglisemik semptomlar
- Hiperglisemik aciller (hiperozmolar hiperglisemik durum ve diyabetik ketoasidoz)
- Ateşli, akut ve sistemik hastalıklar
- Akut miyokard infarktüsü
- Laktasyon ve gebelik
- Cerrahi operasyonlar
- Ağır böbrek ve karaciğer yetersizliği
- Pankreatektomi, kronik pankreatit gibi pankreas yetersizliği
- Klinik olarak ciddi insülin rezistansı
- İnsülin dışı antihiperglisemik ilaçlara ağır yan etkiler ve alerji
- Diyet ile kontrol altına alınamayan GDM
- Uzun süreli olarak yüksek doz steroid kullanımı

2.1.7.7. İnsülinin Etki Mekanizması

T2DM’de bozulmuş insülin sekresyonunun düzenlenmesinde, T1DM’de insülin replasman tedavisi olarak kullanılan insülin, optimal glukoz kontrolü sağlanması ve glukolipotoksisitenin ortadan kaldırılması için gereklidir. Göreceli ya da mutlak insülinopeni olan hastalara yapılan insülin uygulaması hem hiperglisemiyi, hem de insülinopeninin yol açtığı hipertrigliseridemi, ketoasidoz gibi metabolik bozuklukları ve katabolik etkileri önler ya da tedavi eder.

İnsülinin başlıca etki mekanizmaları aşağıda özetlenmiştir:

- Glukozun hücrenin içine girişini sağlar.
- Hepatik glukoz çıkışını baskılar.
- Hepatik ve periferik insülin duyarlılığını artırır.
- Proteinlerin ve yağların yıkımını inhibe eder.
- Glikojenin depolanmasını artırır.

2.2. Growth Arrest Spesific Protein 6 (Gas6)

1988 yılında, Schneider ve ark.’nın yaptıkları çalışmada, serum açlığı ile büyümesi engellenmiş embriyonik fare NIH 3T3 fibroblast hücrelerinde yeni bir gen keşfedilmiştir. Bu çalışmada, hücrelerde büyüme durmasını upregüle edecek birkaç genden biri olarak tespit edildiği için bu genin adı “Growth Arrest Spesific gene 6” olarak tanımlanmıştır (Schneider and King 1988).

1995 yılında ise Wi38 hücre hattının uygun ortamından bir Axl uyarıcı faktör saflaştırılmış ve N-terminal dizileme yöntemiyle bulunan bu molekül Gas6 olarak tanımlanmıştır (Varnum ve ark., 1995).

678-amino asitli Gas6 proteini, daha sonrasında K vitaminine bağımlı protein ailesine dahil edilmiştir (Hafizi ve ark., 2006).

K vitaminine bağımlı protein ailesinin en çok bilinen üyeleri arasında koagülasyon faktörleri olan protrombin (Faktör II), Faktör VII, Faktör IX, Faktör X ve Protein Z ile doğal antikoagülanlar olan Protein S ve Protein C bulunmaktadır. Pıhtılaşma mekanizması dışında da K vitaminine bağımlı proteinler ailesinde yeni keşfedilenler ve işlevleri aydınlatılanlar her geçen gün daha da artmaktadır (Schneider and King 1988).

Gas6, protein S ile yapısal benzerlik gösterir. Her iki protein de çoklu karboksiglutamik asit kalıntısı (Gla) içeren bir N-terminal bölgesi, bir döngü bölgesi, dört EGF benzeri tekrar ve bir C-terminal seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG) İki globüler laminin G benzeri (LG) alandan oluşmaktadır (Villoutreix ve ark., 1997).



Şekil 4. Gas6 ve protein S'nin şematik organizasyonu

Gla bölgesi, K vitaminine bağımlı olan ve glutamat kalıntılarının, kofaktör olarak K vitamini gerektiren bir enzim olan γ - glutamil karboksilaz tarafından endoplazmik retikulumda post-translasyonel olarak modifiye edildiği bölgedir (Stafford 2005).

Negatif yüklü Gla kalıntıları, kendilerini negatif yüklü membran fosfolipitleriyle uyumlu olarak spesifik bir şekilde koordine edebilen kalsiyum iyonu ile kompleksler oluşturabilir (Perera ve ark., 1997).

Gas6; farede 673 aminoasitten, insanda ise 678 aminoasitten oluştuğu gösterilmiştir.

Gas6 proteinin amino terminal ucunda, 11 adet Gla kalıntısı ve hidrofobik sinyal peptid dizisi bulunmaktadır. Bu bölge K vitaminine bağımlı, γ -karboksilasyon ile aktive olan Glutamik asit kalıntıları içerir. Gas6 ve Protein S, *in vivo* olarak apoptotik hücrelerin fagositozunda önemli role sahip Gla bölgelerine fosfatidilserinin bağlanması önemlidir. Gla bölgesini, 4 tane EGF ve onları da Seks Hormon Bağlayıcı Globulin (SHBG) ile ilişkili olan 2 laminin G bölgesi izler. TAM reseptörlerinin bağlanması ve aktivasyonu için SHBG bölgeleri gereklidir (Kim ve ark., 2011).

Sadece C-terminal globüler tekrarlarına sahip olarak geliştirilen Gas6 ve uç kısımları koparılmış Gas6'nın, reseptörlerin aktivasyonu için yeterli olabildiği yapılan çalışmalarda göstermiştir. Bu nedenle Gas6'nın, C-terminal bölgesinin biyolojik aktivitesinde; N-terminal bölgesinin ise γ -karboksilasyonda önemli olduğu bilinmektedir (Fisher ve ark., 2005).

Gas6'nın reseptörü, C-terminalindeki hidrofobik kısım ve kalsiyum bağlayıcı kısım ile ilişkisinde rol oynar. Hidrofobik kısımda meydana gelen çeşitli mutasyonlar, reseptöre bağlanmayı azaltır. Bu yüzden, Gas6'nın reseptör bağlayıcı kısmının LG2 bölgesindeki hidrofobik kısım olduğu kabul edilir (Fisher ve ark., 2005).

Protein S'nin döngü bölgesi, pıhtılaşma sistemindeki rolünü düzenlemenin bir yolu olan trombine duyarlı bölünme bölgelerini içerir. Ancak bu bölgeler Gas6'da mevcut değildir (Villoutreix 2005).

Protein S ayrıca düz kas hücrelerinde mitojenik etki göstermektedir ve aralarındaki benzerlikten dolayı Gas6'nın da hücre çoğalmasında etkili olduğu düşünülmektedir (Manfioletti ve ark., 1993).

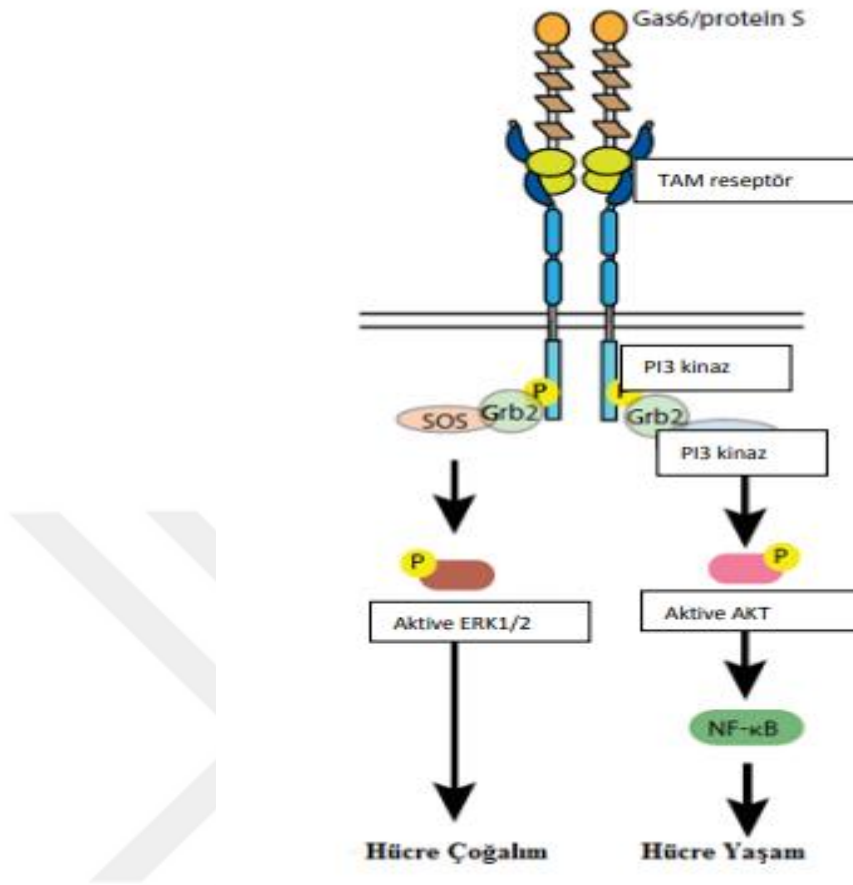
Manfioletti ve ark. nın yaptıkları çalışmada Gas6'nın, hücre G0 fazına girdiği zaman yaklaşık olarak 30 kat arttığı bildirilmiştir (Manfioletti ve ark., 1993).

Gas6, hücrelerde proliferasyon, yer değiştirme, farklılaşma ve yapışma dahil olmak üzere çeşitli biyolojik süreçleri düzenlemektedir (Sasaki ve ark., 2006).

Son araştırmalarda, Gas6/TAM sinyal yolunun aktivasyonunun çok çeşitli insan kanserlerinin oluşumunda ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur (Ammoun ve ark., 2014).

Ek olarak, GAS6'nın yukarı regülasyonu, üst kanal ürotelyal karsinom, oral skuamöz hücreli karsinom, akciğer adenokarsinomu ve renal hücreli karsinom dahil olmak üzere genellikle daha kötü klinik sonuçlarla da önemli ölçüde ilişkilidir (Hattori ve ark., 2016).

Gas6, TAM reseptörlerinin (Tyro3, Axl ve Mer) ligandıdır. Gas6, TAM reseptörlerine karboksi ucundan bağlanarak otofosforilasyon ile aktivasyonlarını sağlar (Angelillo-scherrer ve ark., 2005).



Şekil 5: Tam reseptörlerinin aktivasyonu

2.3. Reseptör Tirozin Kinazlar (RTK) ve TAM (Tyr^o3, Axl, Mer) Reseptörleri

Tirozin kinazlar iki sınıfta incelenmektedir:

- 1) Reseptör tirozin kinazlar
- 2) Reseptör olmayan tirozin kinazlar

Reseptör tirozin kinazlar ligand bağlayan hücre dışı bir domaine ve katalitik hücre içi bir domaine sahip olan transmembran reseptörlerdir. Stoplazmik uzantıları protein tirozin kinaz aktivitesi gösterir ve substratı olan proteinleri tirozin kalıntılarından fosforiller (Lemke ve ark., 2008).

Hücre dışı ligandı ile bağlanması sonucunda dimerize olur ve aktifleşir. RTK aktivasyonu, reseptörün kendi kendini fosforile etmesiyle başlar. Fosforilasyon sonrasında hücrede çeşitli değişiklikler meydana gelir (Hafizi and Dahlbäck 2006).

İnsanlarda RTK'lar ekstraselüler bölgelerindeki ortak aminoasit sekanslarına ya da yapısal benzerliklerine göre 20 alt grupta incelenmektedir (Rankin ve ark., 2010).

Bu alt gruplardan biri olan TAM reseptörleri (Tyro3, Axl ve Mer) 1991 yılında tanımlanmıştır (Prasad ve ark., 2006). TAM reseptörleri, hücre dışındaki N-terminal ucunda 2 adet immunglobulin benzeri bölgeye ve 2 adet fibronektin III benzeri bölgeye sahiptir. Bu bölgeler bir transmembran bölüm ile sitoplazmik tirozin kinaz bölgesine bağlanır (Douglas K Graham ve ark., 1994; Bryan ve ark., 1991).

TAM ailesinin adı, üç bileşeninin (Tyro3, Axl ve Mer) ilk harfinden türetilmiştir (Ohashi ve ark., 1995).

Bu reseptör tirozin kinaz (RTK) ailesinin üyeleri, birkaç farklı araştırma grubu tarafından bağımsız olarak tanımlanmıştır ve literatürde ilk zamanlar birçok alternatif isim altında görülmektedir. Bununla birlikte, Tyro3, Axl ve Mer (resmi olarak protein için c-Mer veya MerTK, gen için *Mertk*) NCBI tarafından tanımlamaları benimsenmiştir. Mer ve Tyro3 için tam uzunluktaki cDNA'larının izolasyonu ile bunların yapısal olarak diğer RTK'lardan farklı olduğu ve bağımsız RTK ailesinde yer alması gerektiği bildirilmiştir (Sasaki ve ark., 2006).

TAM'ların ortaya çıkışından kısa süre sonra da TAM'ları bağlayan ve aktive eden iki ligand olan Gas6 ve Protein S (Pros1) tanımlanmıştır (Stitt ve ark., 1995).

TYRO3 (SKY, TIF, DTK, RSE ve BRT olarak da bilinir), Axl (UFO, TYRO7 ve ARK olarak da bilinir) ve MER (TYRO12, NYM ve EYK olarak da bilinir), eksprese edilen reseptör protein tirozin kinazlardır (Lemke ve ark., 2013).

TAM reseptörleri; Tyro3, Axl ve Mer farklı bir reseptör tirozin kinaz ailesini oluşturmaktadır. Çünkü bunlar grup olarak embriyonik gelişimde önemli bir rol oynamazlar. Diğer RTK'lardan farklı olarak TAM ailesinin üyelerinin sentezi postnatal dönemde artış gösterir ve erişkin döneme gelindiğinde en yüksek seviyeye ulaşır. TAM reseptörleri merkezi sinir sistemi, üreme sistemi, immün sistem ve kardiyovasküler sistemde yaygın olarak sentezlenir. TAM reseptörlerini sentezleyen birçok hücre ligandlarını da sentezler. TAM'lar ve bunların ligandları olan Gas6 ve Protein S bulundukları dokularda apoptotik hücrelerin fagositozu için gereklidir. Bağışıklık sisteminde, TAM sinyalindeki eksikliklerin insanlarda kronik inflamatuvar ve otoimmün hastalıklarda etkili olduğu düşünülmektedir (Lemke ve ark., 2013).

TAM reseptörlerini kodlayan cDNA'lar, tümör hücrelerinde daha fazla kodlandığı kanıtlanmıştır. TAM reseptörlerinden özellikle Axl'in, kanser progresyonu ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir. TAM reseptör sinyalizasyonunun; multipl skleroz etiolojisinden patogenezinde sorumlu olabileceğine dair bilgiler gün geçtikçe artmaktadır (Binder ve ark., 2011).

TAM reseptörleri olmayan “knock-out” transgenik farelerin üretildiği bir çalışmada, yenidoğan döneminde farelerin fotoreseptörlerinin apoptoza uğradığı; 2-3 aylık olduklarında ise bu fotoreseptörleri hiç kalmadığı görülmüştür. Aynı farelerin, doğumdan sonraki 3. haftada germ hücre sayılarında azalma belirgindir. Her ne kadar ayrı olaylar gibi görünse de bu iki dejeneratif olay, TAM reseptörlerinden yoksun örneklerde apoptotik hücre ve membranlarının fagositozunun düzgün yapılmamasının bir sonucudur (Lemke ve ark., 2008).

Gas6 TAM reseptörlerinin üçüne de bağlanabilir ve otofosforilasyonla reseptör aktive olur. GAS6'nın TAM reseptörlerine bağlanma affinitesi farklıdır. Gas6 nin TAM ailesi reseptörlerine bağlanma afinitesi $Axl \geq Tyro3 \geq Mer$ şeklindedir (Nagata ve ark., 1996).

2.4. Axl reseptörü

İlk olarak 1991 yılında kronik miyeloid lösemi (KML) hastalarında, sebebi belli olmayan transforming genin ürünü olarak izole edilmiştir. Daha sonra KML ve kronik miyeloproliferatif bozukluğa sahip hastalardan klonlanmıştır. Axl ismi Yunanca'da kontrolsüz anlamına gelen “anaxelekto” nun kısaltmasıdır (Bryan ve ark., 1991).

İnsan Axl geni 19. kromozomda bulunmakta ve moleküler ağırlığı post translasyonel modifikasyona bağlı olarak 100-140 kD arasında olan bir proteini kodlamaktadır. Axl proteinin N terminal ucu hücre dışında yer alırken, tirozin kinaz aktivitesine sahip C terminal bölgesi hücre içinde yer almaktadır (Korshunov 2012).

Tüm tirozin kinazlar gibi Axl da ekstrasellüler bölge, transmembran ve hücre içi bölgesinden oluşmaktadır. Hematopoezin normal gelişimi sırasında TAM reseptörleri, dendritik hücreler ve makrofajlardaki inflamasyonu azaltır ve apoptotik hücrelerin ve membranoz organellerin fagositozunu sağlar. Bunun yanında “Natural Killer” (NK) hücrelerin olgunlaşması için gereklidir (Carau ve ark., 2006).

Makrofajlarda, dendritik hücrelerde, NK hücreleri, trombositlerde TAM reseptörleri ekspresyonu olmasına rağmen olgun T ve B lenfositlerde; granülositlerde bulunmaz (Brandão ve ark., 2011).

Ancak hematolojik malign vakalarda T ve B lenfositlerde TAM reseptörlerinin ekspresyonu vardır (Brandão ve ark., 2011).

TAM reseptörleri üyesi olan Axl, hipokampus, serebellum, monosit, makrofaj, trombosit, endotelial hücre, kalp, iskelet kasları, karaciğer, böbrek ve testisler olmak üzere birçok organ ve hücrede eksprese edilen bir proteindir (Angelillo-Scherrer ve ark., 2001; Graham ve ark., 1994; Neubauer ve ark., 1994)

Ayrıca kolon, özofagus, meme, akciğer, karaciğer, tiroid ve astrositoma-glioblastomada da fazla miktarda ekspresyonunun yapıldığı gösterilmiştir (Craven ve ark., 1995; Vajkoczy ve ark., 2006)

Stres altındaki endotelial hücrelerde, tümör anjiyogenezindeki proliferasyon sırasında ve hasar sonrasındaki vasküler remodelling safhasında Axl sentezindeki artışı belirgindir (Hafizi ve ark., 2006).

Axl'in fazla sentezi glioma ve böbrek kanseri için kötü prognoz göstergesidir (Ekman ve ark., 2011).

Tümör hücrelerinde Axl sinyalizasyonu hücrel invazyon ve migrasyonunda önemli role sahiptir. Düşük metastatik potansiyele sahip kanser hücrelerinde Axl'in sentezinin artması sonucunda migrasyon ve invazyon yetenekleri artar (Hafizi and Dahlbäck 2006).

Axl sinyalizasyonunun engellenmesi ile metastatik tümör hücrelerinde migrasyonu azalttığı in vitro olarak gösterilmiştir. Axl reseptörünün meme ve glioma tümör modellerindeki invazyon ve metastazdaki rolü son yıllarda in vivo çalışmalarda gösterilmiştir. Normal over epitel hücrelerinde Axl sentezi hiç yokken; over tümörlü olguların epitel hücrelerinin %73'ünde Axl sentezine rastlanmıştır. Bu çalışma ile over tümörlerinde Axl reseptörü normal over epiteline göre anlamlı düzeyde fazla sentezlendiği kanıtlanmıştır (Rankin ve ark., 2010).

2.5. Solubl Axl reseptörü

Membrana bağlı olarak bulunan reseptörler plazmada çözünmüş olarak bulunan reseptörlerin üretiminden sorumludur. Bu üretim reseptörün transmembran parçasının alternatif mRNA splicingi sayesinde reseptörün plazmaya salınması ile gerçekleşir. Çözünmüş halde bulunan reseptörler tam boyuttaki proteinlerden kopan parçalardır ve bu parçalar, reseptörlerin ligandlarını bağlayıp hapseder. Böylece hücreye bağlı reseptöre ligandı bağlanıp aktivitesini gösteremez. Belirli klinik durumlarda oluşan bu bağlanma ile ligandların aktivitesi engellenerek posttranslasyonel bir modifikasyon gerçekleşir (Hafizi and Dahlbäck 2006).

Membrana bağlı Axl, proteoliz sonucunda hücre zarından dökülebilir ve bu nedenle Axl, proteinin hücre dışı bölgesinden oluşan çözünür bir formda (sAxl) dolaşımda bulunur (Budagian ve ark., 2011).

sAxl, Axl reseptörünün dolaşımdaki çözünmüş fraksiyonudur ve konsantrasyonu çok düşük seviyededir (0,3-0,9 nM). Plazmada sAxl varlığı farelerde ve insanlarda 65-80 kDa arasındadır. Son zamanlarda yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda; sAxl'in normalde Gas6'dan fazla olduğu ve Gas6'nın normal insan serumu ve plazmasında sAxl'a bağlı olduğunu bulunmuştur (Ekman ve ark., 2010).

Dolaşımda çözünmüş olarak bulunan Axl ve Mer reseptörleri de Gas6 biyoaktivitesini bu şekilde engeller (Tsiperson ve ark., 2010).

sAxl'ın plazmada düşük seviyelerde saptanması (0,2 nM), plazmada Gas6 ve sAxl'in kompleks oluşturması sonucu olabileceği düşünülmektedir (Ekman ve ark., 2010).

2.6.TAM reseptörlerinin aktivasyonu

Gas6 tirozin kinaz ailesinden Tyro3, Axl ve Mer reseptörlerine bağlanarak sinyal iletimini başlatır. Yapılan çalışmalarda, GAS6'nın reseptörlere bağlanabilmesi için SHBG bölgesinin gerekli olduğu gösterilmiştir. LG bölgesi, hidrofobik bir yüzeye ve iç kısmında Ca^{+2} bağlayıcı bölgelere sahiptir (Sasaki ve ark., 2002).

LG1 bölgesi, Gas6 reseptörünün immunglobulin 1 ve 2 bölgelerine çapraz bağlanmasında majör bağlanma bölgesidir. K vitaminine bağımlı gamma karboksillenmiş Gla bölgesi, onun esas fonksiyonel bölgesidir. K vitaminine bağımlı gamma karboksillenmiş Gla bölgesi hücre hücre etkileşimlerinde etkili olmaktadır (Alciato ve ark., 2010).

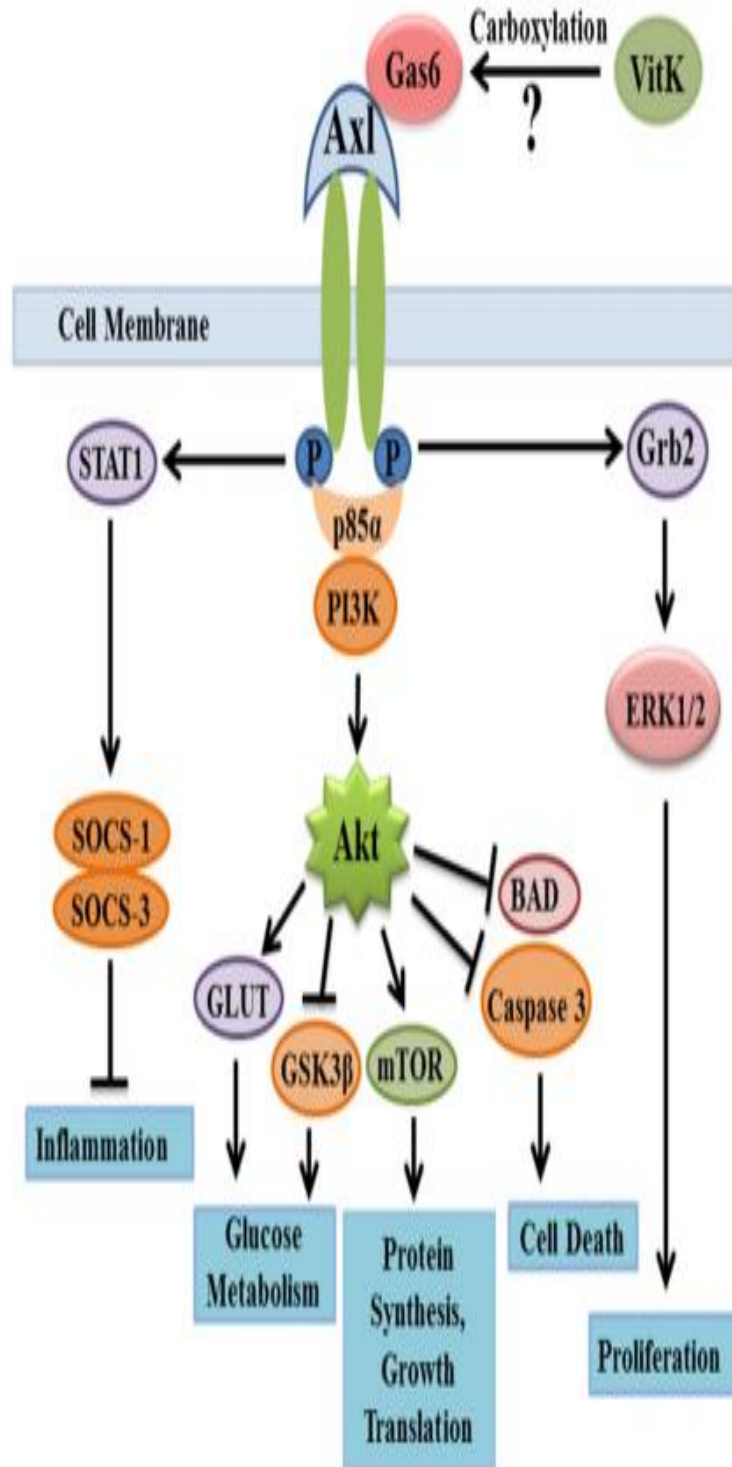
2.7. Gas6/Axl Sinyal Yolağı

Gas6 tarafından aktive edilen Axl reseptörü aracılığı ile hücre içinde PI3K, RAS, mitojen tarafından aktiflenen protein kinaz-MAPK gibi birçok sinyal yolları uyarılır (Rankin ve ark., 2010).

Axl, potansiyel olarak PI3K / AKT / mTOR, RAS / RAF / MEK / ERK, JAK / STAT ve NF- κ B sinyal yollarındaki efektör moleküller aracılığıyla hücre çoğalmasını yönlendirir (Linger ve ark., 2008).

Axl, NF- κ B nükleer translokasyonunu düzenleyerek, anti-apoptotik belirteçlerin (survivin, BCL-2 ve BCL-XL) ekspresyonunu artırarak ve pro-apoptotik proteinlerin (BAD ve kaspaz-3) aktivitesini azaltarak hücre sağkalımını teşvik eder (May ve ark., 2015; Linger ve ark., 2008)

Gas6/Axl Sinyal yolağı, PI3K/AKT, MAPK, GSK3, TRAIL gibi sinyal yollarının down-regülasyonu ve NF κ B, BAD, BCL2, Kaspaz 3 gibi spesifik moleküllerin aktivasyonu, hücre proliferasyonu, hücre sağkalımı, invazyon, migrasyon, metastaz, EMT ve anjiyogenezin düzenlenmesini etkinleştirir.



Şekil 6. Gas6/Axl Sinyal Yolağı (Dihingia ve ark., 2017)

Axl yoluyla sinyalleşmesinin, inorganik fosfat, tümör nekroz faktörü ve adenovirüs tip 5 E1A proteini dahil olmak üzere çoklu pro apoptotik uyaranlara yanıt olarak hayatta kalmanın teşviki için yeterli olduğunu gösteren kanıtlar vardır (Shankar ve ark., 2006).

Apoptozdan kaçınma, PI3K/Akt yolunun aktivasyonunu takiben birkaç aşağı akış efektörün aktivasyonuna dayanır. Öncelikle, S6K'nın aktivasyonunun, ve aynı şekilde bir pro-apoptik Bcl-2 protein ailesinden olan Bad'ın fosforilasyonu ve takibindeki inaktivasyonun da hücrenin hayatta kalmasını desteklediği gösterilmiştir (S Goruppi ve ark., 1997).

Ayrıca, nükleer faktör κ -B kinaz alt birimi olan α (IKK- α) inhibitörünün Akt güdümlü fosforilasyonu, B-hücreleri inhibitörü alfa'da (I κ B α) kappa hafif polipeptit gen arttırıcısının nükleer faktörünün fosforilasyonunu ve degradasyonunu tetikler (Sandro Goruppi ve ark., 1999; S Goruppi ve ark., 1997).

I κ B α 'nın bozunması, aktif B hücrelerinin (NF- κ B) nükleer faktör kappa-hafif-zincir-arttırıcısının kısıtlanmasını ortadan kaldırırken çekirdeğe translokasyonuna ve ardından Bcl-2 ve Bcl-xL adlı ileri anti-apoptik proteinlerin kısıtlanmasına izin verir (Demarchi ve ark., 2001; Pérez ve ark., 2017)

Gas6 ile ön koşullandırmanın, Gas6/Axl sinyalleşmesinin anti-apoptotik özelliklerini teyit ederek HUVEC hücrelerindeki Kaspaz 3'ün aktivasyonunu baskıladığı görülmüştür (Hasanbasic ve ark., 2004).

PI3K tarafından aktive edilen bir başka potansiyel hayatta kalma yolağı, PI3K aktivasyonu tarafından başlatılan bir kaskad içeren c-Jun N-terminal Kinaz (JNK) yoludur. JNK'nın aktivasyonuna yol açtığı bilinen PAK p21 aktive kinaz ile bu süreç ilerler (Linger ve ark., 2008).

Proliferatif etki Axl sinyalizasyonun bir sonucu olarak bazı hücre hatlarında gözlemlenir, ancak, bu durum hayatta kalma etkisi kadar yaygın gözlemlenmemiştir (Y. W. Fridell ve ark., 1996).

PI3K'nın proliferatif sinyalizasyondaki rolü değişkenlik göstermektedir, bu durum bazı çalışmalarda gerekliken diğerlerinde ihmal edilebilir (Fridell ve ark., 1996).

Ancak, Ras/ERK yolağının Axl'in mitojenik kabiliyetinin yönetiminde hayati öneme sahip bir faktör olduğu ifade edilmiştir. Ras, Raf-1, MEK-1 ve ERK dahil olmak üzere bu yolun çeşitli bileşenlerinin aktivasyonu, Axl/Grb2 etkileşimi yoluyla gerçekleşir ve

mitojenik bir tepki ortaya çıkarmak için tüm bu bileşenlerin eşzamanlı aktivasyonu gereklidir (Fridell ve ark., 1996).

Axl'in malign hücrelerin invaziv potansiyelini desteklemedeki rolü, Axl ekspresyonu ve invazivlik arasında pozitif korelasyonu gösteren bir dizi çalışma ile belgelenmiştir (Zhang ve ark., 2008). Ayrıca, shRNA yoluyla Axl sinyalizasyonunun bozulması deneysel modellerde hücresel motiliteyi ve invazyonu azaltır (Gjerdrum ve ark., 2010).

Axl, epitelyal hücrelerin hücre-hücre etkileşimi, polarite ve daha hareketli bir mezankimal fenotipe geçtikleri epitelyal mezankimal geçişin (EMT) desteklenmesiyle hücresel hareketliliği ve dağılımı artırır. Bu işlem genellikle Twist, Snail ve Slug gibi EMT'yi indükleyen transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu ile ilişkilidir. Bu fenotipik değişikliklerin altında yatan kesin moleküler özellikler tam olarak karakterize edilmemesine rağmen, Axl, pozitif öze dayalı EMT transkripsiyon faktörlerinin birçoğunun hem indüklediği hem de kendilerinin Axl ekspresyonunu indükleyebileceği için bir pozitif geri besleme döngüsüne dahil olduğu görülmektedir (Gjerdrum ve ark., 2010).

İlginç bir şekilde, mezenkimal hücrelerde bulunan bir ara filament olan Vimentinin de Axl ekspresyonunu upregüle ettiği gösterilmiştir (Fridell ve ark., 2011).

Daha ileri çalışmalar, Epitel hücrelerinde ekspresyonu E-kaderin aşağı regüle edebildiği ve N-kaderin, Slug ve Snail'in yukarı regülasyonuna yol açabileceğinden Axl'in EMT'nin ilk indüksiyonunda rol oynayabileceğini göstermiştir (Asiedu ve ark., 2014). Bu, Axl'in EMT sinyalizasyonunun hem uyarılması hem de sürdürülmesi ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir.

Normal bir hücresel ortamda Axl vasküler hasarın onarımı ile ilişkilidir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) varlığı ile birlikte Gas6 ekspresyonu, vasküler düz kas hücrelerinde Axl'i aktive eder, bu da apoptoza ve bu hücrelerin göçüne karşı artan direnç yol açar (Asiedu ve ark., 2014; Melaragno ve ark., 2004).

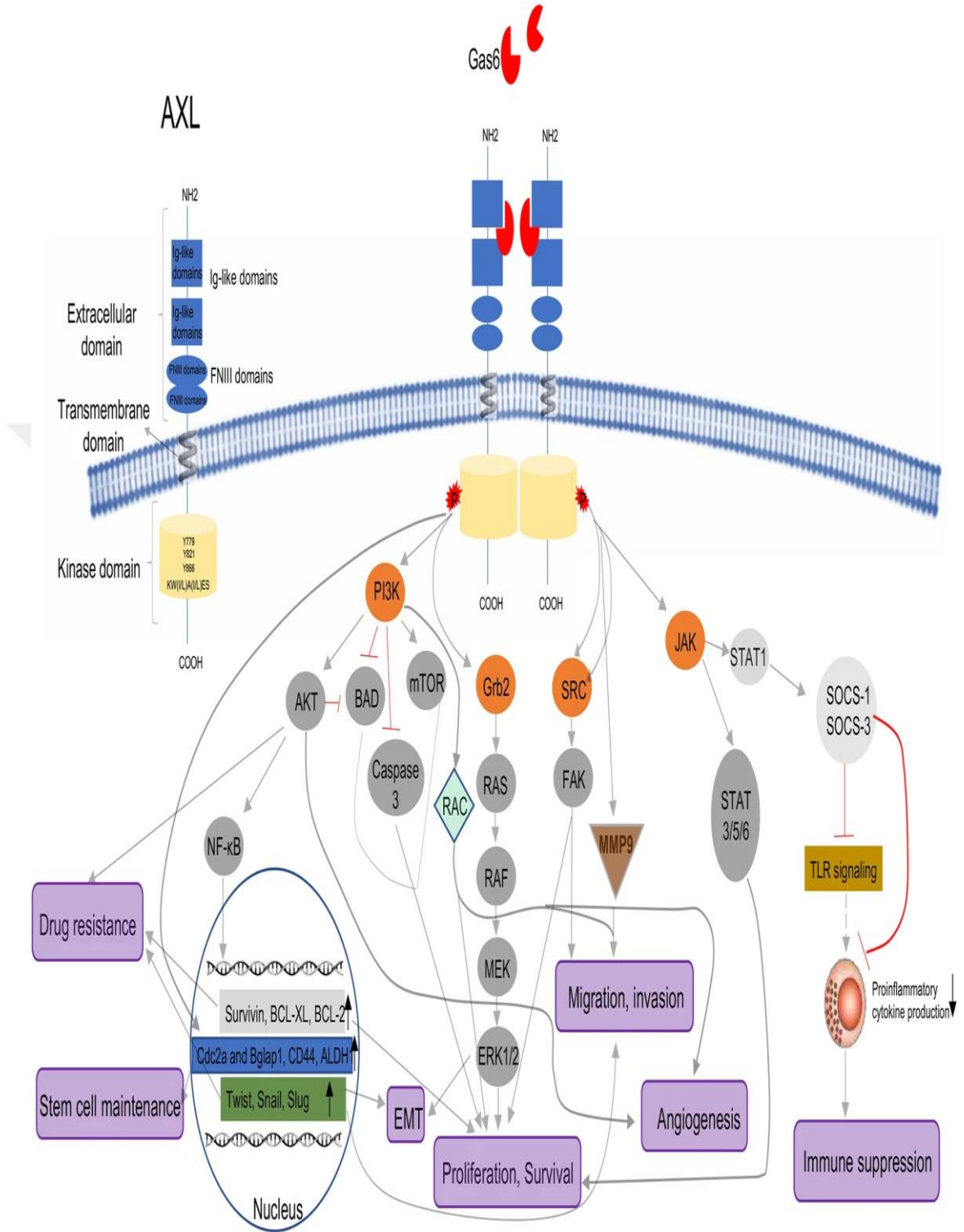
Neoplastik bir ortamda, Axl aşırı ekspresyonu artmış anjiyogenez ile ilişkilendirilmiştir. Tümör mikro çevresi Axl aktivasyonunu artırabilecek ROS açısından zengin olması sebebiyle bu şaşırtıcı bir durum olmamalıdır (Ahmed ve ark., 2015). Sonuç olarak, birçok çalışma Axl yıkımının hem in vitro hem de in vivo endotelial damar oluşumunda azalmaya yol açtığını göstermiştir.

Kanserde TAM reseptörleri ve Gas6' nın rolü TAM reseptör ailesinden olan Axl ve Mer birçok tümör hücresinde ekspresyonu vardır ve onkogenik rolleri belirlenmiştir. Proto-onkogen olan TAM reseptörleri gen amplikasyonu, mutasyon, proteolitik kesim veya farklı protein ekspresyonu sebebiyle aktive olabilir (McHenry ve ark., 2004).

Solid tümörlerde yapılan araştırmalara bakınca “Pancreatic Ductal Adenocarcinoma” (PDA) hücre hatlarında ve insan PDA örneklerinde Axl ve Gas6 ekspresyonu genellikle artmıştır. Bu artış ayrıca anti-apoptotik etkili ve pankreas kanserinin metastazından da sorumludur (Koorstra ve ark., 2009; Wang ve ark., 2011)

Bazı akciğer kanser türlerinde ve osteosarkom hücrelerinde Axl sentezi kanser hücrelerinin adezyon yeteneği ile korelasyon gösterir. Adezyon yeteneğinin fazla olması tümör hücrelerinin metastatik özelliğinin de fazla olmasına neden olabilir (Hafizi and Dahlbäck 2006).

In vitro deneylerde kemoterapiye direnç gösteren akut miyeloid lösemi (AML) vakalarında, kemoterapi Axl ekspresyonunun artmasına ve ilaç direncinin oluşmasına sebep olmuştur. AML vakalarında, kemoterapik ilaç direncinin Gas6/Axl sinyal yolağını inaktive ederek üstesinden gelinebileceği bildirilmiştir (Hong ve ark., 2008).



Şekil 7: Gas6/Axl Etki Mekanizması (Zhu ve ark., 2019)

2.8. Çoğalma-Hayatta Kalma ve Axl İlişkisi

Axl sinyalizasyonunun, inorganik fosfat, tümör nekroz faktörü ve adenovirüs tip 5 E1A proteini dahil olmak üzere çoklu proapoptotik uyaranlara yanıt olarak hayatta kalmanın teşviki için yeterli olduğunu gösteren kanıtlar vardır (Tsiperson ve ark., 2010).

Apoptozdan kaçınma, PI3K/Akt yolunun aktivasyonunu takiben birkaç aşağı akış efektörün aktivasyonuna dayanır. Öncelikle, S6K'nın aktivasyonu, aynı şekilde bir proapoptik Bcl-2 protein ailesinden olan Bad'ın fosforilasyonu sonucunda inaktivasyonun da hücrenin hayatta kalmasını desteklediği gösterilmiştir (Korshunov 2012).

Ayrıca, nükleer faktör κ -B kinaz alt birimi olan α (IKK- α) inhibitörünün Akt aracılığıyla fosforilasyonu, B-hücreleri inhibitörü alfa (IkB α) kappa hafif polipeptit gen ekspresyonunun artması, nükleer faktörünün fosforilasyonunu ve degradasyonunu tetikler. IkB α 'nın bozunması, aktif B hücrelerinin (NF- κ B) nükleer faktör kappa-hafif-zincir-artırıcısının kısıtlanmasını ortadan kaldırırken, çekirdeğe translokasyonuna ve ardından Bcl-2 ve Bcl-xL adlı ileri anti-apoptik proteinlerin ekspresyonlarının azalmasına neden olur (Demarchi ve ark., 2001).

Gas6/Axl sinyalleşmesinin anti-apoptotik özelliklerini nedeniyle HUVEC hücrelerindeki Kaspase 3'ün aktivasyonunu baskıladığı görülmüştür (Hasanbasic ve ark., 2004).

PI3K tarafından aktive edilen bir başka potansiyel hayatta kalma yolu, PI3K aktivasyonu tarafından başlatılan bir kaskad içeren c-Jun N-terminal Kinaz (JNK) yoludur. JNK'nın aktivasyonuna yol açtığı bilinen PAK p21 aktive kinaz ile bu süreç ilerler (Sandro Goruppi ve ark., 1999).

Proliferatif etki, Axl sinyalizasyonunun bir sonucu olarak bazı hücre hatlarında gözlemlenir, ancak, bu durum hayatta kalma etkisi kadar yaygın gözlemlenmemiştir. PI3K'nın proliferatif sinyalizasyondaki rolü değişkenlik göstermektedir, bu durum bazı çalışmalarda gerekliken diğerlerinde ihmal edilebilir (Sandro Goruppi ve ark., 1999).

Ancak, Ras/ERK yolunun Axl'in mitojenik kabiliyetinin yönetiminde hayati öneme sahip bir faktör olduğu ifade edilmiştir. Ras, Raf-1, MEK-1 ve ERK dahil olmak üzere bu yolun çeşitli bileşenlerinin aktivasyonu, Axl / Grb2 etkileşimi yoluyla gerçekleşir ve

mitojenik bir tepki ortaya çıkarmak için tüm bu bileşenlerin eşzamanlı aktivasyonu gereklidir (Wang ve ark., 2011).

2.9. İnvazyon-Metastaz ve Axl İlişkisi

Axl'ın malign hücrelerin invaziv potansiyelini desteklemedeki rolü, Axl ekspresyonu ve invazivlik arasında pozitif korelasyonu gösteren bir dizi çalışma ile desteklenmiştir. Ayrıca, shRNA yoluyla Axl sinyalizasyonunun bozulması deneysel modellerde hücre motiliteyi ve invazyonu azaltır (May ve ark., 2015).

Axl epitelyal hücrelerin hücre-hücre etkileşimi, polarite ve daha hareketli bir mezankimal fenotipe geçtikleri epitelyal mezankimal geçişin (EMT) desteklenmesiyle hücre hareketliliği ve dağılımı artırır. Bu işlem genellikle Twist, Snail ve Slug gibi EMT'yi indükleyen transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu ile ilişkilidir. Bu fenotipik değişikliklerin altında yatan kesin moleküler özellikler tam olarak karakterize edilmemesine rağmen, Axl, pozitif etkiye dayalı EMT transkripsiyon faktörlerinin birçoğunun hem indüklediği hem de kendilerinin Axl ekspresyonunu indükleyebileceği için bir pozitif geri besleme döngüsüne dahil olduğu görülmektedir (Gjerdrum ve ark., 2010).

İlginç bir şekilde, mezenkimal hücrelerde bulunan bir ara filament olan Vimentinin de Axl ekspresyonunu upregüle ettiği gösterilmiştir. Daha ileri çalışmalar, Epitel hücrelerinde ekspresyonu E-kaderin aşağı regüle edebildiği ve N-kaderin, Slug ve Snail'in yukarı regülasyonuna yol açabileceğinden Axl'ın EMT'nin ilk indüksiyonunda rol oynayabileceğini göstermiştir. Bu, Axl'in EMT sinyalizasyonunun hem uyarılması hem de sürdürülmesi ile ilgili olabileceğini düşündürmektedir (Fridell ve ark., 2011)

2.10. Anjiyogenez ve Axl İlişkisi

Normal bir hücre ortamında Axl, vasküler hasarın onarımı ile ilişkilidir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) varlığı ile birlikte Gas6 ekspresyonu, vasküler düz kas hücrelerinde Axl'i aktive eder, bu da apoptoza ve bu hücrelerin göçüne karşı artan dirence yol açar (Fridell ve ark., 2011).

Neoplastik bir ortamda, Axl'in aşırı ekspresyonu, artmış anjiyogenez ile ilişkilendirilmiştir. Tümör mikro çevresi, Axl aktivasyonunu artıracak ROS açısından zengin olması sebebiyle bu şaşırtıcı bir durum değildir (Ahmed ve ark., 2015).

Sonuç olarak, birçok çalışma Axl yıkımının hem in vitro hem de in vivo endotelial damar oluşumunda azalmaya yol açtığını göstermiştir.

Axl yıkımı sırasında mRNA ekspresyonundaki değişikliklerin sınıflandırılması potansiyel iki aşağı akış yoluyla tanımlanmıştır. Birincisi, genellikle Wnt sinyalizasyonu yapan Dickkopf ailesinin bir üyesi olan DKK3'ün aşağı regüle edilmesi (Untergasser ve ark., 2008). DKK3'ün endotel tüp oluşumunu düzenler, C57/BL6 melanoma modelinde bu proteinin aşırı ekspresyonunu stabilize ettiği gösterilmiştir (Untergasser ve ark., 2008).

İkinci yol, anjiopietin yolunun bir parçası olan Ang-2'nin yukarı regülasyonu ile tanımlanmıştır. Ang-2, birlikte endotelial hücre sağkalımını destekleyen Ang-1 ve Tie2 etkileşimini inhibe eder. Bu nedenle Axl aktivasyonu, Ang-1 ve Tie2'yi serbest bırakarak Ang-2'nin aşağı regülasyonuna yol açar, bu da anjiyojenik aktivitelere izin verir (Li ve ark., 2009).

2.11. Axl'in Kanserdeki Rolü

Axl'in hücrel sinyalizasyonunun çeşitli yollara geniş katılımı ve çok çeşitli kanser özelliklerinde uygulanması göz önüne alındığında, Axl aktivasyonunun farklı katı ve hematopoetik maligniteler arasında klinik olarak anlamlı bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca, metastatik hastalığa ilerlemesini ve tedaviye direnç gibi fenotipik olayları etkileme derecesi, hastalar için ölümcül olabilir ve bu Axl'i klinik ortamda prognostik olarak önemli bir moleküler marker yapar (Wu ve ark., 2014).

2.11.1. Akciğer Kanseri ve Axl İlişkisi

Axl ekspresyonu, insanlarda küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC) hücre hatlarının, yaklaşık %60'ında görülür ve aşırı ekspresyonu hücre göçü ve invazyon kapasitesi ile doğrudan bağlantılıdır (Axelrod and Pienta 2014).

Axl'in aşağı akış hedefinin kaybı yoluyla hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesinin modüle edilmesi, Rac1'in hücre hareketliliğini antikanser tedavisine duyarlılıkla ilişkilendirmiştir (Linger ve ark., 2008).

Elde edilen verilere, Axl ekspresyonunun daha ileri klinik evre olgularında ve akciğer adenokarsinomunda daha zayıf sağkalım ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

109 vakayla ilgili bir çalışmada, Axl'in aşırı ekspresyonun prevalansı Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü (EGFR) yabani tipli hastalarda %60 ve EGFR-mutant hastalarda % 50'dir (Wang ve ark., 2011).

Özellikle, NSCLC'de Axl, erlotinib ve gefitinib'in de dahil olduğu EGFR inhibitörlerine duyarlılığın moleküler belirleyicisidir ve mekanik kanıtlar, Axl ekspresyonunun indüksiyonu, Vimentin ve N-kaderin ile pozitif, E-kaderin ekspresyonu ile negatif korelasyon olduğunu gösterir, bu da Axl inhibisyonunun ilaç direncini ve EMT'nin tersine çevrilmesini modüle etmek için bir mekanizma olduğunu gösterir (Axelrod and Pienta 2014).

2.11.2. Meme kanseri ve Axl ilişkisi

Gas6 / Axl sinyal yolunun aktivasyonu, meme kanserinde karmaşık klinik çıkarımlara sahiptir. İnsan meme kanseri hücre hatları dizilerinin analizi, lüminal ya da bazal A hücreleriyle, üçlü negatif-bazal B fenotipi kıyaslandığında önemli seviyede Axl ekspresyonunun arttığını göstermiştir (Zhang ve ark., 2008).

Endokrin duyarlı hastalıkta, ilk raporlar Gas6'nın progesteron reseptörünün transkripsiyonel regülasyonu altında olduğunu ve daha yüksek bir lenf nodu negatifliği, daha düşük dereceli ve daha küçük tümör boyutu da dahil olmak üzere bir dizi uygun prognostik faktörle ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Villoutreix ve ark., 1997).

Ancak, başka bir çalışmada, Axl ekspresyonunun östrojen reseptörü pozitifliği, daha yüksek proliferasyon indeksi ve daha ileri aşama ile pozitif korelasyon gösterdiği, bu da Axl'in liganddan bağımsız yukarı regülasyonunun ilerleyen ER + malign klonlarına hayatta kalma avantajı sağlayabileceğini düşündürmektedir (Ammoun ve ark., 2014).

Üçlü negatif meme kanserinde Axl, EGFR aracılı hücre hareketliliğini her iki yolun birleşik transaktivasyonu yoluyla çeşitlendirmek için fonksiyonel olarak gereklidir, bu da hedeflenen yaklaşımların eksik olduğu reseptör-negatif meme kanserinde Axl ekspresyonunun zenginleştirilmesinin terapötik olarak dikkat çekici olduğunu gösterir (Fridell ve ark., 1996).

Her-2 pozitif hastalıkta Axl, lapatinib-direnç gelişimini etkiler ve Her-2 ile heterodimerizasyonu sayesinde Her-2 güdümlü sinyalizasyonun bir kısmına aracılık

eden bir RTK üyesi olan Her-3'ün ekspresyonunu modüle eder (Anisimov ve ark., 2010).

Bir meme kanseri hücre hattında, Axl ekspresyonu invazivlik ile ilişkilendirilmiştir ve sonraki çalışmalar hastanın hayatta kalmasını olumsuz yönde etkilenmesinin Axl'dan bağımsız olduğunu göstermiştir (Anisimov ve ark., 2010).

Diğer tümör tiplerinden elde edilen bulgulara paralel olarak, Axl ekspresyonu, invazyon ve daha zayıf klinik sonuçlar arasındaki bağlantının kanser hücrelerindeki Axl'in EMT-düzenleyici etkilerinden meydana geldiğini göstermektedir (Asiedu ve ark., 2014).

Vimentin'in Axl ekspresyonunu doğrudan indüklediği ve invazivliği arttırdığı gösterilmiştir. Son yapılan çalışmalar, Axl'in meme kanseri kök hücreleri bölmesinin kendi kendini yenileme ve kemorezistansını düzenlemede rol oynadığını göstermektedir (Anisimov ve ark., 2010).

2.11.3. Gastrointestinal Maligniteler ve Axl İlişkisi

Axl sinyalizasyonunun anormal aktivitesi, çeşitli gastrointestinal kanserlerde gösterilmiştir. 223 kolorektal kanser hastası üzerinde yapılan büyük bir çalışmada, Axl ve Gas6'nın aşırı ekspresyonu örneklerin %70'ten fazlasında olduğu görülmüştür. Bu, kötü diferansiye fenotip, nodal tutulum ve ileri tümör evresi ile Gas6 ekspresyonu ile korelasyon gösterdiği ileri sürülmüştür (Korshunov 2012).

Dunne ve arkadaşları, istila edebilen ve kolonize olabilen kolorektal kanser hücre hatlarında Axl ekspresyonunun arttığını ileri sürmüşlerdir ve tümör içindeki daha yüksek Axl mRNA veya protein seviyesinin genel hayatta kalma oranını düşürdüğünü doğrulamışlardır (Dunne ve ark., 2014). Önemli olarak, floropirimidin tedavisinin, Axl'in yukarı regülasyonu ile tümör hücrelerinin invaziv potansiyelini artırabileceğini, bu hedefin genetik ve farmakolojik inhibisyonu, deneysel modellerde fenotipi tersine çevirebildiğini bildirmişlerdir (Dunne ve ark., 2014).

Axl ekspresyonu özofagus adenokarsinomunda (EAC) ve skuamöz hücreli karsinomda (ESCC) da tanımlanmıştır. Axl'in aşırı ekspresyonu, insan EAC'sinin % 50'sinde yaygındır ve in vitro olarak sisplatine daha düşük duyarlılık ile ilişkilidir. Son zamanlarda, Axl'nin çeşitli ESCC hücre hatlarında aşırı eksprese edildiği bulunmuştur. Tümörün çoğalma, yer değiştirme, istila ve büyümesi Axl'in siRNA ile genetik

susturulmasıyla önlenebileceğini bildirmişlerdir. Mekanik olarak, bu özellikler NF- κ B yolunda yer alan bir dizi anahtar genin inhibisyonu, glikojen kinaz sentaz 3 β aktivitesinin indüksiyonu ve EMT'nin tersine çevrilmesi ile ilgilidir ve Axl inhibisyonunun kanser terapisinde potansiyel bir rolü olduğu vurgulamaktadır (Hong ve 2013).

Hepatobiliyer malignitelerde Axl için benzer roller belirlenmiştir. Hücre proliferasyonu ve invazyonunun korunmasında kilit rol oynayan Axl pozitifliği prevalansı, pankreatik duktal adenokarsinomların (PDAC) %50-70 oranında görülür. Birincil ve metastatik PDAC hücre hattının proteomik profili, Axl yukarı regülasyonunu metastatik difüzyonu tetiklediği gösterilmiştir (Kim ve ark., 2014).

Hepatoselüler kanserde, Axl yıkımı sadece hücre göçünü, istilasını ve metastatik kolonizasyonu azaltmakla kalmaz, aynı zamanda kanser hücrelerinin hücre içi kinaz aktivitesinin ana düzenleyicisi olan TGF aracılı büyüme baskılanmasına direnme yeteneğini bozduğu bildirilmiştir. (Axelrod and Pienta 2014).

Hasta örneklerinde Axl ekspresyonu klinik olarak daha yüksek oranda mikrovasküler invazyon, daha kısa rekürrensiz ve genel hayatta kalma ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Gjerdrum ve ark., 2010).

2.11.4. Yumurtalık Kanseri ve Axl İlişkisi

Axl ekspresyonu normal yumurtalık epitelinde bulunmamakla birlikte, metastatik ilerleme ve yumurtalık kanserinde kötü prognoz ile bağlantılıdır. Axl ekspresyonunun, tümör baskılayıcı miR-34a'nın ekspresyon seviyeleri yoluyla sıkı epigenetik düzenleme altında olduğu bir hastalıktır (Rankin ve ark., 2010).

Klinik çalışmalar, daha yüksek Gas6 ve Axl immüno etiketlemesinin, integrin β 3 ile ilişkili bir adaptör proteini olan p130Cas ile birlikte ekspresyon yoluyla hastaların prognozunu bozduğunu ve bu nedenle hücre dışı matriks adezyonu ve invazyonu içerdiğini göstermiştir (Rea ve ark., 2015).

2.11.5. Böbrek Kanseri ve Axl İlişkisi

Renal hücreli kanserin (RCC) ilerlemesi, Von-Hippel-Lindau (VHL) lokusundaki kalıtsal veya edinsel fonksiyonel kaybı izler ve bu da istenmeyen pro-anjiyojenik

sinyalizasyonu mümkün kılar. Axl'ın, hipoksiye bağı faktörler yoluyla dolaylı olarak VHL'nin transkripsiyonel kontrolü altında olduğu bilinmektedir (Rankin ve ark., 2014).

Son çalışmalar, Axl'in antianjiyogenik tedaviye direnç kazanmasında rol oynadığını, metastatik yayılımı ve hayatta kalımını daha da kötüleştirdiğini ortaya koymuştur (Zhou ve ark., 2016).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, 18/07/2018 tarihli 2018/370 sayılı Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu onayı ile Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne 1 Ağustos 2018-1 Mart 2020 tarihleri arasında başvuran, yeni teşhis T2DM hastaları ve daha önce T2DM tanısı konulmuş metformin tedavisi yeterli gelmeyen hastalar prospektif olarak incelendi.

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

ELISA okuyucu (BioTek)

Derin Dondurucu (Bosch)

Santrifüj (Beckman Counter)

Vorteks (Heidolph)

3.1.1. Kullanılan Ticari Kitler

- 1) Gas6 (Human Growth Arrest Specific Gene-6) ELISA Kit (Biont),
- 2) Human Tyrosine protein kinase receptor UFO (AXL) ELISA Kit (Biont),
- 3) Human Soluble Tyrosine protein kinase receptor UFO (Soluble AXL) ELISA Kit (Biont).

3.2. Çalışmanın Tasarımı

Çalışmaya, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'ne başvuran hasta veya hasta yakınlarından oluşan bireyler dahil edildi.

1. **Grup: Kontrol grubu;** rutin kontrol amacı ile polikliniğe başvurup herhangi bir kronik hastalığı olmayan veya hasta yakınlarından oluşan gönüllü bireyler
2. **Grup: Prediyabetik grup (preDM);** yeni T2DM tanısı alan, ilaç kullanmayan, diyet ve egzersiz önerilen gönüllü bireyler

3. **Grup: Metformin grubu (Met);** T2DM tanısı alan ve Metformin tedavisi uygulanacak gönüllü bireyler
4. **Grup: Metformin+ İnsülin grubu (Met+İns);** T2DM tanısı alan, Metformin tedavisi uygulanan fakat bu tedavi yeterli gelemeyip, metformin ile kombine olarak İnsüline yeni başlanmış gönüllü bireyler

3.3. Hastaların Değerlendirilmesi

3.3.1. Kontrol Grubundaki Gönüllülerin Araştırmaya Dâhil Edilme Kriterleri

1. 20-65 yaş arası kadın ve erkek bireyler
2. VKİ'si 18-30 arasında olan bireyler
3. Diabetes Mellitus hastalığı olmayan bireyler ($HbA_{1c} < \% 5.7$)
4. Alkol ve sigara kullanmayan bireyler
5. Statin grubu ilaç kullanmayan bireyler

3.3.2. Hasta Grubundaki Gönüllülerin Araştırmaya Dâhil Edilme Kriterleri

1. 20-65 yaş arası kadın ve erkek hastalar
2. VKİ'si 18-30 arasında olan hastalar
3. Diyabet süresi 15 yılı geçmeyen hastalar ($HbA_{1c} \geq \% 5.7$)
4. Alkol ve sigara kullanmayan hastalar
5. Statin grubu ilaç kullanmayan hastalar

3.4. Diyabet tanısı için kullanılan kriterler

Türkiye Diyabet Vakfı'nın 2017 yılında 'Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi'nde belirlenen karar sınırları aşağıda belirtilmiştir.

Karar sınırları

- < %5.7 (39 mmol/mol) Normal,
- %5.7 - 6.4 (39 - 46 mmol/mol) Prediyabet,
- $\geq \%6.5$ (48 mmol/mol) Diyabet.

3.5. Laboratuvar çalışmaları ve deneysel prosedürler

Çalışma rutin tetkik ve tedavi işlemleri sırasında elde edilen materyallerle yapıldı ve ayrıca kan alınmadı. Bu çalışmalar sırasında hastalara hekimin uygun gördüğü rutin tedavi uygulanmış olup, ekstra ilaç verilmedi.

Çalışma gruplarındaki gönüllü bireylerin, çalışma başlangıcında ve 6 ay sonra rutin tetkik ve tedavi işlemleri sırasında elde edilen kanlarıyla çalışma yapıldı. Gas6, Axl ve sAxl düzeyleri ELISA tekniğiyle göre belirlendi. Çalışma gruplarında açlık kan glukozu değerleri ve hastaların glisemik durumunu daha iyi değerlendirebilmek için HbA_{1C} değerlerine bakıldı.

3.5.1. Gas6, Axl ve sAxl Analizi

Kontrol grubu ve hasta gruplarında yer alan gönüllülerden alınan kan örnekleri 10-12 saatlik açlığı takiben sabah, jel ayırıcı 13×100 mm'lik vakumlu tüplere (Vacutainer SST, Becton Dickinson) alındı. Kan örnekleri, 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra Eppendorf tüplere alınıp, -80 °C'de çalışma gününe kadar saklandı. Kitlerdeki standart çözeltileri prosedüre uygun şekilde dilüe edilerek farklı konsantrasyonlarda standartlar oluşturuldu. 96'lık ELISA plağı üzerinde standart, kör ve örnek kuyucukları belirlendi.

Gas6 ELISA kiti (Katalog No: YLA1896HU, Biont), Axl ELISA kiti (Katalog No: YLA3680HU Biont) ve sAxl ELISA kiti (Katalog No: YLA4070HU Biont) kullanılarak, üretici protokollerine uygun şekilde ELISA yöntemi ile yapıldı. Standart çözeltilerin hazırlanması dışındaki deney prosedürü Gas6, Axl ve sAxl için aynı basamaklarla gerçekleştirildi.

Deney öncesi serum örnekleri ve tüm çözeltiler oda sıcaklığına getirildi. Yıkama tamponu distile su kullanılarak seyreltilti. 96 kuyucuklu ELISA plağının ilk 6 kuyucuğuna standart çözeltileri ve kör çözeltisi ilave edildi. Her bir kuyucuğa serum örneği eklendi, üzerine Biotin çözeltisi ilave edildi. Numune ve standart eklenmiş kuyucuklara streptavidin HRP çözeltisi eklendi. Plak 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan alınan plağın kuyucukları 5 defa yıkama tamponu ile yıkandı. Her bir kuyucuğa önce kromojen A çözeltisi, daha sonra kromojen B çözeltisi eklendi. Plak, 10 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi. Her bir kuyucuğa stop çözeltisi eklendi ve 450 nm dalga boyunda absorbanı ölçüldü.

Human Gas6 ELISA kitinin ölçüm aralığı: 0.5-200 ng/mL

Çalışma içi: CV değeri <8%

Çalışmalar arasında: CV değeri <10%

Sensitivitesi: 0.25 ng/mL

Human Axl ELISA kitinin ölçüm aralığı: 10-3000 ng/L

Çalışma içi: CV değeri <8%

Çalışmalar arasında CV değeri <10%

Sensitivitesi: 5.19 ng/L

Human sAxl ELISA kitinin ölçüm aralığı: 0.2-60 pg/mL

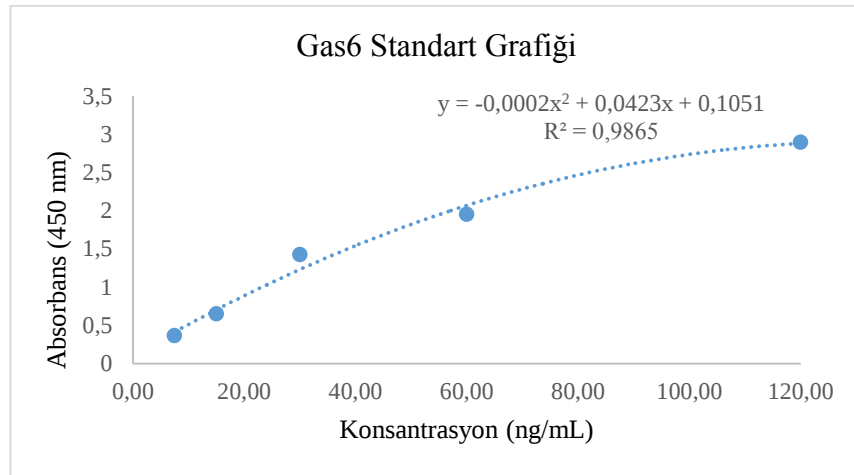
Çalışma içi: CV değeri <8%

Çalışmalar arasında: CV değeri <10 %

Sensitivitesi: 0.08 pg/mL

3.5.1.1. Serum Gas6 Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

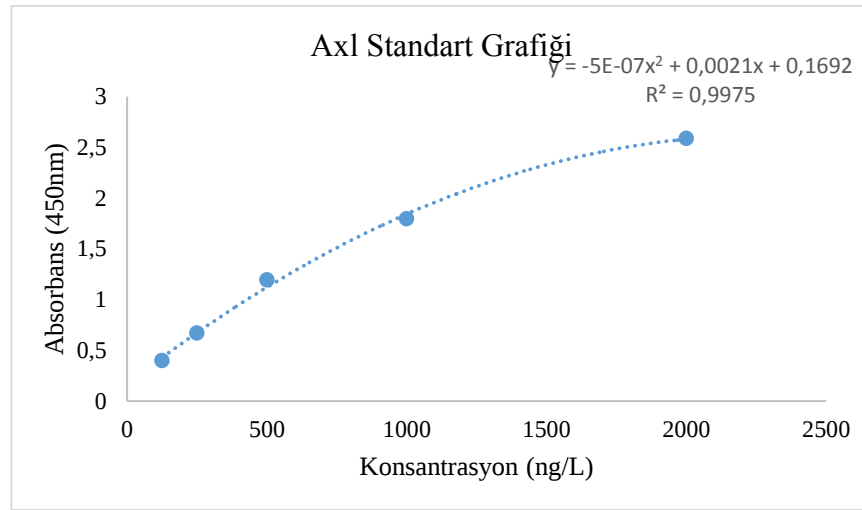
- Standart stok solüsyonu (240 ng/ mL) kullanılarak 5 adet standart solüsyonu hazırlandı.
- Standart stok solüsyonundan 120 µL alınıp, 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 5 numaralı standart solüsyonu (120 ng/mL) hazırlandı.
- 5 numaralı standart solüsyonundan 120 µL alınıp, 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 4 numaralı standart solüsyonu (60 ng/mL) hazırlandı.
- 4 numaralı standart solüsyonundan 120 µL alınıp, 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 3 numaralı standart solüsyonu (30 ng/mL) hazırlandı.
- 3 numaralı standart solüsyonundan 120 µL alınıp, 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 2 numaralı standart solüsyonu (15 ng/mL) hazırlandı.
- 2 numaralı standart solüsyonundan 120 µL alınıp, 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 1 numaralı standart solüsyonu (7,5 ng/mL) hazırlandı.



Şekil 8. Serum Gas6 Standart Grafiği

3.5.1.2. Serum Axl Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

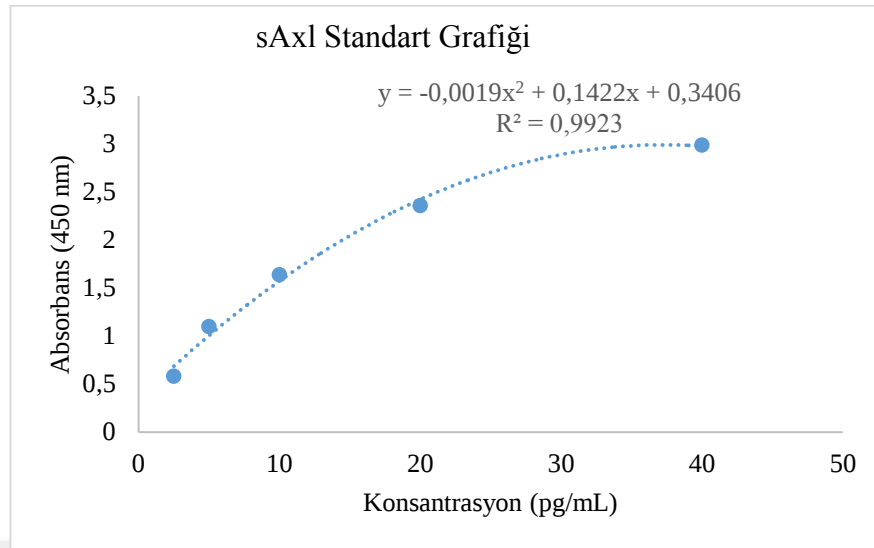
- Standart stok solüsyonu (4000 ng/ L) kullanılarak 5 adet standart solüsyonu hazırlandı.
- Standart stok solüsyonundan 120 µL alınıp 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 5 numaralı standart solüsyonu (2000 ng/L) hazırlandı.
- 5 numaralı standart solüsyonundan 120 µL alınıp 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 4 numaralı standart solüsyonu (1000 ng/L) hazırlandı.
- 4 numaralı standart solüsyonundan 120 µL alınıp 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 3 numaralı standart solüsyonu (500 ng/L) hazırlandı.
- 3 numaralı standart solüsyonundan 120 µL alınıp 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 2 numaralı standart solüsyonu (250 ng/L) hazırlandı.
- 2 numaralı standart solüsyonundan 120 µL alınıp 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 1 numaralı standart solüsyonu (125 ng/L) hazırlandı.



Şekil 9. Serum Axl Standart Grafiği

3.5.1.3. Serum sAxl Standart Çözeltilerinin Hazırlanması

- Standart stok solüsyonu (80 pg/ mL) kullanılarak 5 adet standart solüsyonu hazırlandı.
- Standart stok solüsyonundan 120 µL alınıp 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 5 numaralı standart solüsyonu (40 pg/mL) hazırlandı.
- 5 numaralı standart solüsyonundan 120 µL alınıp 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 4 numaralı standart solüsyonu (20 pg/mL) hazırlandı.
- 4 numaralı standart solüsyonundan 120 µL alınıp 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 3 numaralı standart solüsyonu (10 pg/mL) hazırlandı.
- 3 numaralı standart solüsyonundan 120 µL alınıp 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 2 numaralı standart solüsyonu (5 pg/mL) hazırlandı.
- 2 numaralı standart solüsyonundan 120 µL alınıp 120 µL standart dilüent ile seyreltilerek 1 numaralı standart solüsyonu (2.5 pg/mL) hazırlandı.



Şekil 10. Serum sAxl Standart Grafiği

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler, IBM SPSS Statistics® 21.0 ve MS-Excel® 2010 kullanılarak istatistiksel analizler gerçekleştirildi. Kategorik değişkenler için Pearson'ın ki-kare testi kullanıldı. Sayısal değişkenler, normallik dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edildikten sonra, bağımlı ve bağımsız örneklemeler için uygun olan (Wilcoxon testi, Kruskal-Wallis H testi veya Mann-Whitney U testi) testlerle karşılaştırıldı. Sonuçlar ortanca (çeyrekler arası genişlik) olarak verildi. İki taraflı p değerleri <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Kruskal-Wallis H ve ki-kare testlerinden sonra gerekli olan durumlarda post-hoc analiz için p değerinde Bonferonni düzeltmesi yapıldı.

4.BULGULAR

4.1.T2DM'li Grupların ve Kontrol Grubunun Demografik Bilgileri

Çalışmamızda yer alan gruplara ait demografik bilgiler (yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi) Tablo 2’de sunulmuştur. Kontrol grubu ve diğer gruplardaki kişiler yaş ve cinsiyet bakımından özdeşti (Sırasıyla $p=0.245$, $p=0.362$). Ayrıca vücut kitle indeksi (VKİ) verileri gruplar arasında istatistiksel olarak fark göstermedi ($p=0.132$).

Tablo 2: Çalışma gruplarına ait bazı temel bilgiler

		Kontrol (n: 21)	PreDM (n: 22)	Met (n:24)	Met+İns (n:25)	p-değeri
Cinsiyet (E/K)	Hasta sayısı	10/11	8/14	8/16	14/11	0.362
Yaş (Yıl)	Ortanca(ÇAG)	49 (10)	53 (13)	54 (12)	53 (18)	0.245
VKİ (kg/m²)	Ortanca(ÇAG)	26.1 (5.0)	28.3 (5.5)	28.7 (5.5)	26.7 (3.8)	0.132
ÇAG: Çeyrekler arası genişlik, PreDM: Prediabetik grubu, Met: Metformin grubu, Met+İns: Metformin+İnsülin grubu, E: Erkek K: Kadın VKİ: Vücut kitle indeksi. Veriler ortanca (ÇAG) olarak verildi. Kruskal-Wallis H ve Pearson ki-kare testleri kullanıldı.						

4.2.Çalışma Gruplarına Ait Gas6, Axl, sAxl Parametrelerinin 0. ay ve 6. ay Değerlerinin Karşılaştırılması

Çalışma gruplarına ait Gas6, Axl, sAxl parametrelerinin 0. ay ve 6. ay değerlerinin karşılaştırılması Tablo 3’te verilmiştir. Buna göre ilaç tedavisi olmayan (Kontrol grubu ve PreDM grubu) gruplarda Gas6, Axl, sAxl’nin ortalama sıralama puanlarında istatistiksel olarak anlamlı değişim görülmedi. Ancak T2DM tanısı almış, diyet ve egzersiz yeterli olmayıp tedaviye metformin eklenen Met grubunda ve metformin tedavisi yeterli gelmeyip insülin eklenen Met+İns grubunda Gas6 ve Axl değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş tespit edilirken; sAxl değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı değişim görülmedi.

Çalışma gruplarına ait 0. ve 6. aylarda araştırılan parametreler (Gas6, Axl, sAxl) değerlendirildiğinde; gruplar arasında 0. ayda anlamlı bir farklılık görülmedi. 6. ayda gruplar arasında Gas6 ve sAxl parametrelerinde anlamlı bir farklılık görülmezken sadece Axl değerinde anlamlı olarak azalma görüldü.

Tablo 3. Gas6, Axl, sAxl parametrelerinin 0. ay ve 6. aya ait karşılaştırılması

Gruplar	Parametreler	0. ay	6.ay	p-değeri
Kontrol (n=13)	Gas6 (ng/mL)	10,854 (15)	9,164 (17)	0.547
	Axl (ng/mL)	145,139 (207)	160,033 (429)	0.916
	sAxl (pg/mL)	3,056 (4)	3,773 (14)	0.109
PreDM (n=15)	Gas6 (ng/mL)	10,598 (7)	9,558 (8)	0.137
	Axl (ng/mL)	162,777 (99)	167,611 (117)	0.380
	sAxl (pg/mL)	4,018 (3)	4,226 (3)	0.581
Met (n=12)	Gas6 (ng/mL)	10,786 (5)	7,476 (3)	0.028
	Axl (ng/mL)	147,74 (88)	107,571 (53)	0.003
	sAxl (pg/mL)	3,249 (2)	3,129 (1)	0.424
Met+İns (n=13)	Gas6 (ng/mL)	10,675 (2)	8,143 (2)	0.009
	Axl (ng/mL)	170,206 (49)	95,003 (43)	0.005
	sAxl (pg/mL)	2,910 (1)	2,592 (1)	0.382
p-değeri	Gas6 (ng/mL)	0.823	0.107	-
	Axl (ng/mL)	0.360	0.001 ^{c,d,e}	-
	sAxl (pg/mL)	0.222	0.240	-

ÇAG: Çeyrekler arası genişlik, **PreDM:** Prediabetik grubu, **Met:** Metformin grubu, **Met+İns:** Metformin+İnsülin grubu **Gas6:** Growth Arrest Spesifik Protein 6; **Axl:** Axl; **sAxl:** Solubl Axl

Satır karşılaştırmalarında Wilcoxon testi, **sütun karşılaştırmalarında** Kruskal-Wallis H testi kullanıldı. Kruskal-Wallis H testi sonrası post-hoc analiz Mann-Whitney U testi ile yapıldı ve Bonferroni düzeltmesi uygulandı. Anlamlı sonuçlar kalın yazıldı.

a: Kontrol grubu ile PreDM grubu arasındaki fark için $p < 0.05$

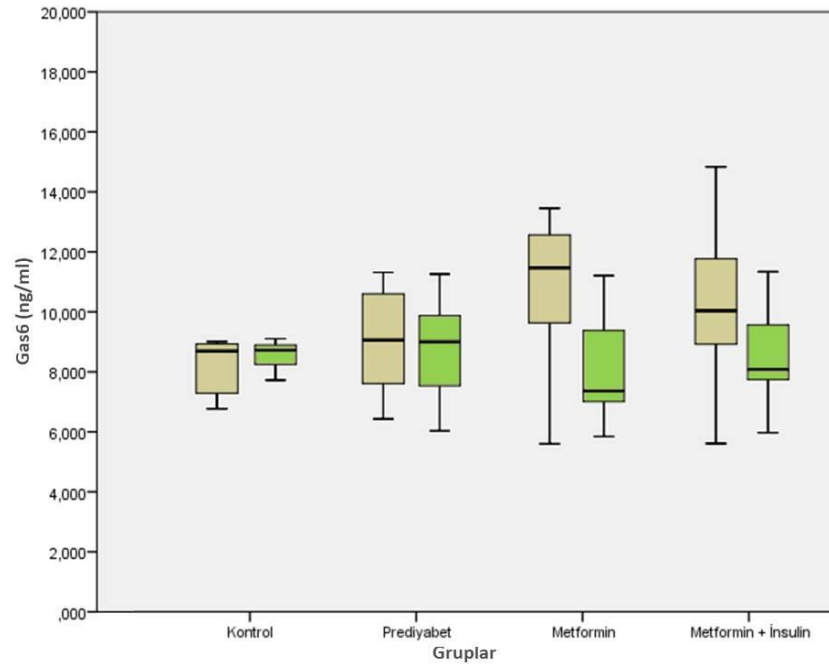
b: Kontrol grubu ile Met grubu arasındaki fark için $p < 0.05$

c: Kontrol grubu ile Met + İns grubu arasındaki fark için $p < 0.05$

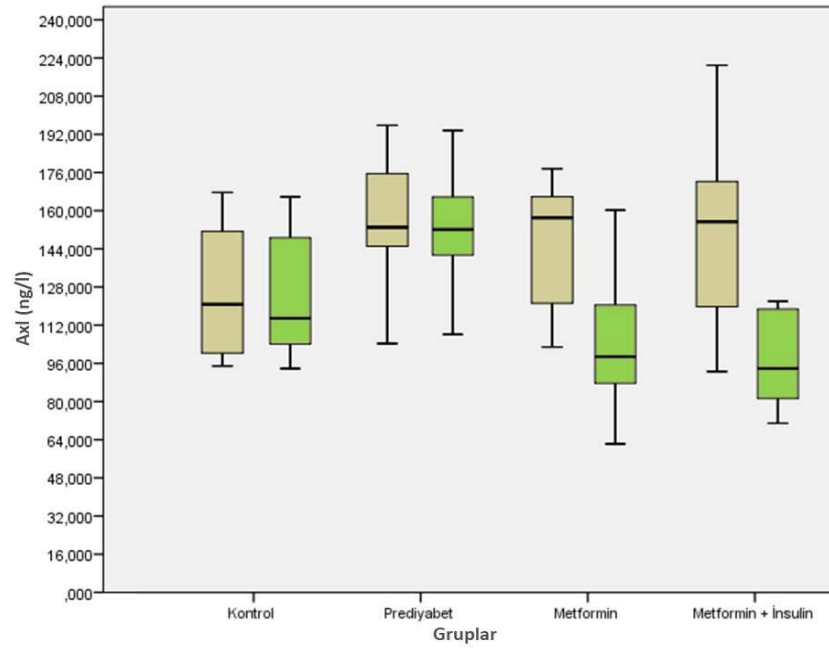
d: PreDM grubu ile Met grubu arasındaki fark için $p < 0.05$

e: PreDM grubu ile Met+İns grubu arasındaki fark için $p < 0.05$

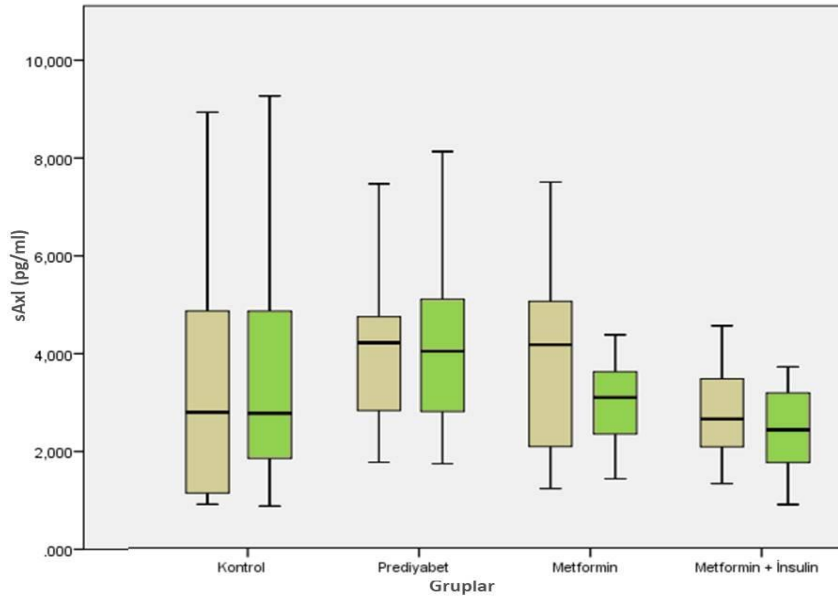
f: Met grubu ile Met+İns grubu arasındaki fark için $p < 0.05$



Grafik 1. Çalışma gruplara ait Gas6 değerlerinin 0. ay ve 6. ay karşılaştırması “Boxplot” grafiği



Grafik 2. Çalışma gruplara ait Axl değerlerinin 0. ay ve 6. ay karşılaştırması “Boxplot” grafiği



Grafik 3. Çalışma gruplara ait sAxI değerlerinin 0. ay ve 6. ay karşılaştırması “Boxplot” grafiği.

4.3.Açlık Kan Glukozu ve HbA1c Parametrelerinin 0. ay ve 6. aya Ait Gruplar Arası Karşılaştırılması

Çalışma gruplarına ait 0. ay ve 6. ay açlık kan glukozunun (AKG) gruplar arasındaki karşılaştırılması Tablo 4’te verilmiştir. Buna göre Met ve Met+İns gruplarının 0. ay ve 6. aydaki AKG düzeyleri; kontrol grubu ve PreDM grubunun 0. ay ve 6. aylardaki AKG değerlerine göre istatistiksel olarak yüksek olduğu tespit edildi. Ancak 6. ay AKG düzeyleri ise PreDM ve Met grupları arasındaki farkın anlamsızlaştığı tespit edildi.

Çalışma gruplarının 0. ay HbA1c düzeyleri karşılaştırıldığında; kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken; 6. ay HbA1c düzeyleri incelendiğinde ise; Met ve Met+İns grupları arasındaki farkın anlamsızlaştığı tespit edildi.

Tablo 4. Açlık Kan Glukozu ve HbA1c parametrelerinin 0. ay ve 6. ay gruplar arası karşılaştırılması

Ortanca (ÇAG)					
	Kontrol (n: 21)	PreDM (n: 22)	Met (n: 24)	Met+İns (n: 25)	p-değeri
Açlık glukozu (mg/dL) (0. ay)	93 (13)	98 (15)	129 (39)	226 (141)	<0.001 ^{b,c,d,e}
Açlık glukozu (mg/dL) (6. ay)	95 (12)	102 (14)	113 (31)	137 (169)	<0.001 ^{b,c,e}
HbA1c (%) (0. ay)	5.4 (0.4)	5.9 (0.1)	7.2 (1.1)	10.0 (2.8)	<0.001 ^{a,b,c,e,f}
HbA1c (%) (6. ay)	5.4 (0.4)	6.0 (0.2)	6.5 (0.7)	8.0 (2.0)	<0.001 ^{a,b,c,e}
ÇAG: Çeyrekler arası genişlik, PreDM: Prediabetik grubu Met: Metformin grubu Met+İns: Metformin+İnsülin grubu Veriler ortanca (ÇAG) olarak ifade edildi. Çoklu grup karşılaştırmasında Kruskal-Wallis H testi ve post-hoc analiz için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kruskal-Wallis H testi sonrası post-hoc analizde Bonferroni düzeltmesi uygulandı. Anlamlı sonuçlar kalın yazıldı. a: Kontrol grubu ile PreDM grubu arasındaki fark için $p < 0.05$ b: Kontrol grubu ile Met grubu arasındaki fark için $p < 0.05$ c: Kontrol grubu ile Met + Ins grubu arasındaki fark için $p < 0.05$ d: PreDM grubu ile Met grubu arasındaki fark için $p < 0.05$ e: PreDM grubu ile Met+İns grubu arasındaki fark için $p < 0.05$ f: Met grubu ile Met+İns grubu arasındaki fark için $p < 0.05$					

4.4.Açlık Kan Glukozu ve HbA1c düzeylerinin 0. ay ve 6. ay eş düzeyli Gas6, Axl ve sAxl parametreleri ile korelasyonu

Çalışma gruplarında ait AKG ve HbA1c değerlerinde özellikle ilaç kullanan gruplarda (Met grubu ve Met+İns grubu) anlamlı olarak azalma görüldü. Ayrıca Gas6 ve Axl değerlerinde de azalma görüldü. Fakat çalışma gruplarına ait 0. ay ve 6. ay AKG ve HbA1c düzeylerinin eş düzeyli Gas6, Axl ve sAxl parametreleri ile anlamlı korelasyon göstermediği tespit edildi (Tablo 5).

Tablo 5. Açlık Kan Glukoz ve HbA1c düzeylerinin 0. ay ve 6. ay eş düzeyli Gas6, Axl ve sAxl parametreleri ile korelasyonu

	Grup	n	Gas6		Axl		sAxl	
			r	p-değeri	r	p-değeri	r	p-değeri
AKG (0. ay)	Met+İns†	25	0.140	0.078	-0.095	0.650	0.275	0.183
HbA1c (0. ay)	Met+İns†	25	0.291	0.158	-0.308	0.134	-0.013	0.950
AKG (6. ay)	Kontrol	13	0.359	0.228	0.337	0.260	0.519	0.069
	PreDM	15	-0.414	0.125	-0.293	0.289	0.104	0.703
	Met	12	0.224	0.484	0.056	0.863	0.392	0.208
	Met+İns	13	-0.527	0.064	-0.253	0.405	0.138	0.654
HbA1c (6. ay)	Kontrol	13	-0.210	0.491	-0.285	0.345	-0.229	0.451
	PreDM	15	0.114	0.687	-0.234	0.400	-0.279	0.314
	Met	12	-0.359	0.252	-0.085	0.794	0.317	0.316
	Met+İns	13	-0.352	0.239	-0.357	0.231	-0.146	0.635
ÇAG: Çeyrekler arası genişlik, PreDM: Prediabetik grubu Met: Metformin grubu Met+İns: Metformin+İnsülin grubu Gas6: Growth Arrest Spesifik Protein 6; Axl: Axl; sAxl: Solubl Axl † Dikkat: 0. ayda, Met + İns grubuna dahil olan hastalar kan analizi sırasında sadece metformin kullanıyordu. Spearman's rho korelasyon analizi uygulandı.								

4.5. Gas6, Axl ve sAxl Parametrelerinin Antidiabetik İlaç Kullanma Durumuna Göre Eş Düzeyli Korelasyonları

Çalışma gruplarına ait Gas6, Axl ve sAxl parametrelerinin antidiabetik ilaç kullanma durumuna göre eş düzeyli korelasyonları Tablo 6'da verilmiştir. İlaç kullanmayan gruplar incelendiğinde Gas6 ile Axl arasında ileri derecede anlamlı yüksek düzeyde pozitif korelasyon saptanırken; sAxl ile orta düzeyde istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon tespit edildi (r: 0.725, p<0.001; r: 0.541, p<0.001; sırasıyla). Axl ve sAxl arasında da orta düzeyde pozitif korelasyon olduğu tespit edildi (r:0.597, p<0.001). 6 ay boyunca metformin kullanan Met grubunda Gas6 ile Axl arasında anlamlı orta düzeyde

pozitif korelasyon tespit edilirken ($r:0.664$, $p<0.05$); metformine kombine olarak İnsülin kullanan Met+İns grubunda Axl ve sAxl arasında anlamlı orta düzeyde pozitif korelasyon tespit edildi ($r:0.587$, $p<0.05$).

Tablo 6. Gas6, Axl ve sAxl parametrelerinin antidiabetik ilaç kullanma durumuna göre eş düzeyli korelasyonları

Gruplar		n	Axl		sAxl	
			R	p-değeri	r	p-değeri
0. ay (İlaçsız gruplar)†	Gas6	67	0.725	<0.001	0.541	<0.001
	Axl		-	-	0.597	<0.001
0. ay (Met+İns grubu)‡	Gas6	25	0.208	0.319	0.170	0.416
	Axl		-	-	0.370	0.069
6. ay (Met grubu)‡	Gas6	12	0.664	0.018	0.371	0.236
	Axl		-	-	0.587	0.045
6. ay Met+İns grubu	Gas6	13	0.385	0.194	-0.281	0.353
	Axl		-	-	-0.437	0.135

ÇAG: Çeyrekler arası genişlik, **Met:** Metformin grubu **Met+İns:** Metformin+İnsülin grubu
Gas6: Growth Arrest Spesifik Protein 6; **Axl:** Axl; **sAxl:** Soluble Axl
†Kontrol, prediabetik, Met grubuna dahil edilen hastalar 0. ayda herhangi bir antidiabetik ajan kullanmıyordu.
‡ Met + İns grubundaki hastalar 0. ayda ve Met grubundaki hastalar ise 6. ayda kan analizi sırasında sadece metformin kullanıyordu.
6. ayda Met + İns grubundaki hastalar ise metformine ek olarak 6 aydır insülin tedavisi kullanıyordu.
Spearman's rho korelasyon analizi uygulandı. Anlamlı sonuçlar kalın yazıldı.

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, T2DM’li hastalarda kullanılan Metformin ve Metformin ile kombine olarak kullanılan İnsülin’in Gas6, Axl ve sAxl düzeyleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Literatür çalışmaları incelendiğinde Metforminin Gas6/Axl yolağı üzerine etkisini araştıran çalışmalar genellikle in vitro olarak gerçekleştirildiği görülmüştür. Yaptığımız bu çalışma klinik olarak yapılan ilk çalışmalardandır. Bu çalışmada metformin tedavisi alan T2DM’li hastalarda Gas6 ve Axl düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu tespit edildi.

Diabetes mellituslu hastalar, kansere yatkınlık açısından yüksek risk altındadır. T2DM'deki insülin direnci ve hiperinsülinemisinin, doğrudan veya dolaylı olarak malign dönüşümü teşvik ettiği ileri sürülmüştür (Joshi ve ark., 2015; Morales ve Morris, 2015).

Metformin, T2DM tedavisi için yaygın kullanılan farmakolojik bir ajandır. T2DM’li hastalarda metformin kullanımının kanser riskini azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Currie ve ark., 2009; DeCensi ve ark., 2010; Kim ve ark., 2018; Morales ve Morris, 2015).

Diyabetli hastalarda metformin kullanımı kan glukozunu düzenlerken; başta pankreas kanseri olmak üzere, karaciğer, akciğer, kolorektal ve meme kanseri olgularında kanser riskini azalttığını gösteren epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur (Gandini ve ark., 2014; Kim ve ark., 2018; Morales ve Morris, 2015).

Axl, biyolojik süreçlerdeki ve tümör oluşumundaki rolü nedeniyle yeni bir biyobelirteç olarak ortaya çıkmıştır. Gas6, yüksek bağlanma afinitesi ile Axl için bir ligand görevi görür. Gas6, K vitaminine bağlanan bir proteindir ve TAM ailesinin reseptör tirozin kinazları ile etkileşime girer (Hafizi, 2006).

Gas6/Axl sistemi çok sayıda hücre tipinde eksprese edilir ve bu sistemin farklı işlevleri vardır; hücrenin hayatta kalması ve proliferasyonu, hücre adezyonu ve migrasyonu,

homeostaz ve inflamatuvar sitokin salınımının düzenlenmesine katkıda bulunur ve Axl'ı kanser tedavisinde potansiyel bir hedef haline getirir.(Linger ve ark., 2008);(Nagata ve ark., 1996)

Gas6/Axl sisteminin enflamasyon, homeostaz, otoimmün hastalık, sinir sistemi, üreme sistemi, vasküler sistemler üzerinde ve kanserde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Gjerdrum ve ark., 2010).

Yapılan çalışmalar, Gas6/TAM sinyal yolağının T2DM ile ilişkili kardiyovasküler hastalıklar, böbrek disfonksiyonu, amputasyonlar, sinir hasarı, erektil disfonksiyon gibi komplikasyonlar için patolojik mekanizmalarda rol oynadığını göstermiştir (Hafizi ve Dahlbäck, 2006; Currie ve ark., 2009).

Hung ve ark'ları, T2DM'li hastalarda plazma Gas6 konsantrasyonu ile değişen glukoz toleransı ve insülin duyarlılığı arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Yaptıkları bu çalışma, normal glukoz toleransı (NGT), bozulmuş glukoz toleransı (IGT) ve T2DM'li olan yetişkin hastalardan oluşmaktadır. Çalışmanın sonucunda T2DM'li hastaların NGT'li hastalara kıyasla önemli ölçüde düşük plazma Gas6 konsantrasyonlarına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Elde ettikleri verilere göre plazma Gas6 / TAM sinyalinin T2DM için önemli bir risk faktörü olduğunu ve Gas6'nın bozulmuş glukoz metabolizması ve insülin direnci için potansiyel bir belirteç olarak düşünülebileceğini belirtmişlerdir (Hung ve ark., 2010).

Lee ve ark'ları, NGT'li, IGT'li ve T2DM'li bireylerde Gas6 gen polimorfizmi (c.834+7G>A) ile T2DM patogenezi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Çalışma grubundaki bireyleri ayrıca AA, GA ve GG gibi Gas6 genotiplerine göre farklı alt gruplara ayırmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda; AA genotipli deneklerin, GG genotipli deneklere kıyasla daha yüksek Gas6 seviyelerine ve daha düşük glukoz, HbA1c, HOMA-IR ve trigliserit seviyelerine sahip olduğunu göstermişlerdir. Gas6 c.834+7G>A polimorfizminin AA genotipinin T2DM'ye karşı koruyucu bir rolü olabileceğini bildirmişlerdir (Lee ve ark., 2012).

Nagai ve ark., Gas6'nın yüksek glukoz ile indüklenebildiğini, Akt / mTOR yolağının, Gas6 aracılı mezanjiyal ve glomerüler hipertrofide anahtar bir sinyal kaskadı olduğunu ve diyabetik nefropatinin gelişiminde Gas6/Axl ve Akt / mTOR yolunun önemli rolünü ortaya koymuşlardır (Nagai ve ark., 2005).

Yuan ve ark., yüksek glukozun Axl ekspresyonunu düşürdüğünü ve aşırı Axl ekspresyonunun azalmış anjiyogenez ve yüksek glukoz konsantrasyonu altında hipoksiye yanıt olarak PI3K/Akt/mTOR / p70S6K sinyal yolu aracılığıyla HIF - 1 α ekspresyonunu indüklediğini ileri sürmüşlerdir (Pei-Yuan ve ark., 2019).

Hsiao ve ark., aşırı kilolu ve obez ergenlerde yağlanma ve insülin direncinin gelişmesinde, dolaşımdaki Gas6 ve çözünür Axl'ın (sAxl) işlevini incelemiştir. Yaptıkları çalışma sonucunda; aşırı kilolu ve obez ergenlerde dolaşımdaki Gas6 ve sAxl düzeylerinin zayıf gruba göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (Hsiao ve ark., 2013).

Lee ark. yaptıkları diğer bir çalışmada; mikro vasküler endotel hücrelerinde (HMEC-1), değişen glukoz konsantrasyonlarının Gas6/Axl sinyali üzerindeki etkilerini incelemiştir. HMEC-1 hücrelerinde Axl reseptörünün aşırı ekspresyonunun, endotel disfonksiyonunda ve vasküler hücrelerde önemli rol oynayan VEGF ve VEGFR2 gibi çeşitli sinyal moleküllerinin yüksek glukoz ile indüklenen Gas6 /Axl/Akt bağımlı aktivitesini arttığını bildirmişlerdir (Lee ve ark., 2016).

Cavet ve ark. vasküler düz kas hücrelerinde, değişen glukoz konsantrasyonunun Gas6/Axl sinyali üzerinde önemli bir etkisinin olduğunu göstermişlerdir. Düşük glukoz seviyeleri ile Gas6/Axl'ın uyarıldığı, kaspaz 3 ekspresyonunun azaldığı, PI3K/Akt/mTOR yolu etkinleştirilir, bu yolla Gas6/Axl'ın anti-apoptotik etki göstererek hücre canlılığında artışı bildirmişlerdir (Cavet ve ark., 2008).

Axelrod ve Pienta, Axl'ın, immün sistem yanıtında ve kanserde kritik bir rol oynadığını; Axl'ın genellikle normal dokuya kıyasla hastalık durumunda daha yüksek seviyelerde eksprese edildiğini, dolayısıyla reseptör için onkogenik bir rolünün olduğunu ileri sürmüşlerdir (Axelrod ve Pienta, 2014).

Yapılan çalışmalarda, metforminin mide, özefagus, karaciğer, prostat, meme ve kolon kanseri hücrelerinde mitojenik sinyali baskılayarak proliferasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir (Anisimov ve ark., 2010; Fujihara ve ark., 2015; Kato ve ark., 2012; Kobayashi ve ark., 2013; Miyoshi ve ark., 2014).

Metformin, mammalian target of rapamycin'i (mTOR) inhibe ederek antikanser aktiviteye sahip olduğu bilinen bir anti-diyabetik ilaçtır; ancak diğer moleküler mekanizmalara da dahil olabilir. Glukoz metabolizması üzerindeki birincil etkiye ek

olarak, çeşitli kanserlerde hücre proliferasyonu ve tümör büyümesi üzerinde antikanser etkilerinin olabileceği bildirilmiştir (Gotlieb ve ark., 2008).

Metforminin antikanser mekanizmaları, protein sentezi ve hücre proliferasyonunda önemli bir rol oynayan rapamisin kompleks I (mTORC1) aktivitesinin inhibisyonu ile sonuçlanan, AMP ile aktive edilmiş protein kinazı (AMPK) aktive etme kabiliyetinden dolayı olabileceği bildirilmiştir (Xiang ve ark., 2004). Metforminin ayrıca, AMPK'dan bağımsız olarak mTORC1'i doğrudan inhibe ettiği ve antiapoptotik sinyallere aracılık eden epidermal büyüme faktörü reseptörünü (EGFR) ve Akt / mitojen aktifleştirilmiş protein kinazı (MAPK) hedeflediği bildirilmiştir.

Dowling ve ark., metforminin, hücrel büyüme ve proliferasyonun ana düzenleyicisi olan mTOR aracılığıyla, translasyonun başlama adımını inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ayrıca, mTOR'u düzenleyen fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) / Akt sinyal yolağının, çok sayıda kanser türünde aşırı aktive olduğu, bu da mTOR aktivitesinde bir artışa yol açarak büyüme için gerekli proteinlerin mRNA'sının artmasına ve hücrel proliferasyonun artmasına neden olduğu bildirilmiştir. Metformin aracılı AMPK aktivasyonunun mTOR inhibisyonuna ve translasyonun başlamasında azalmaya yol açtığını ve böylece kanser hücrelerinin büyümesinin inhibisyonunda metforminin olası bir etki mekanizmasının olduğunu bildirmişlerdir (Dowling ve ark., 2007).

Zakikhani ve ark., metforminin meme kanseri hücreleri için AMP kinaza bağlı büyüme inhibitörü olduğunu bildirmişlerdir (Zakikhani ve ark., 2006).

Xiang ve ark., prostat kanseri hücrelerinde AMPK'nın aktive edildiğini ve de novo yağ asidi sentezini düzenleyen mTOR'un inhibe edilerek prostat kanseri hücrelerinin büyümesinin engellenebileceğini bildirmişlerdir (Xiang ve ark., 2004).

Ota ve ark., metforminin kısmen Axl aktivitesini azaltarak lösemi hücrelerinin büyümesini inhibe ettiğini; bir Axl inhibitörü olan TP-0903'ün büyümeyi baskılayıcı etkisini artırdığını; doksorubisin tarafından indüklenen Axl/Akt/mTor sinyal yolunu bloke ettiğini bildirmişlerdir. Lösemi hücrelerine sahip hastalarda Axl ve diğer TAM proteinlerinin yanı sıra aktive mTOR için metforminin, klinik bir potansiyele sahip olduğunu ve Axl eksprese eden lösemi hücrelerine sahip hastalarda yardımcı olarak kullanılabileceğini önermişlerdir (Ota ve ark., 2009).

Kim ve ark., metforminin Axl ve Tyro3 ekspresyonu, ardından Erk ve STAT3

aktivasyonu üzerinde inhibe edici etkilere sahip olduğunu ve bunun hem parental hem de kemoterapiye dirençli over kanseri hücrelerinde antiproliferatif aktivitesi ile sonuçlandığını göstermişlerdir. Axl ve Tyro3 ve / veya bunların aktivasyonunun azalmasıyla, over kanseri hücrelerinin proliferasyonunu ve kemorezistansını kontrol etmek için metforminin terapötik hedeflerinden biri olduğunu bildirmişlerdir (Kim ve Lee 2015).

Çalışmamızda; metformin tedavisi almayan (Kontrol grubu ve PreDM grubu) gruplarda serum Gas6, Axl, sAxl değerlerinde 0. ay değerlerine göre 6. ay değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmedi. Ancak Met grubunda ve Met+İns grubunda serum Gas6 ve Axl değerlerinde 0. ay değerlerine göre 6. ay değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüş tespit edildi. Bu sonuca göre metformin kullanımı Gas6/Axl seviyelerini düşürürken, İnsülin kullanımıyla bu etkinin sürdüğü görülmektedir.

sAxl, Gas6'yı bağlayan; Axl sinyalini ve Gas6'nın neden olduğu mitojenik etkileri ortadan kaldıran bir "tuzak reseptörü" olarak işlev görür. Çalışmamızda serum sAxl değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı değişim görülmedi. Bunun nedeni Gas6, tuzak reseptörü olarak görev yapan sAxl'a benzer düzeylerde bağlanmasıyla gerçekleşmiş olabilir. Buna bağlı olarak gruplar arası parametrelerin değerlendirilmesinde sadece Axl düzeylerinde anlamlı olarak farklılığın nedeni Gas6'nın sAxl'a bağlanmasından kaynaklanmış olabilir.

RTK'lerin TAM ailesinin, Tyro3, Axl ve Mer'in, hücre hayatta kalması, proliferasyonu, apoptozis ve adezyonda kritik roller oynadığı bildirilmiştir. Bu RTK'lerin ve bunların Gas6 dahil ligandlarının düzensizliği birçok kanser türünde gösterilmiştir. Klinik olarak, Gas6 ve TAM ekspresyonu kötü prognozu öngörür. Bu bulgular, Gas6 hedefli tedavilerin geliştirilmesinde önem kazanmaktadır.

Günümüzde gittikçe artan diyabetik olgular ve bu olgularda görülen kanser sıklığı göz önüne alındığında metformin kullanımının önemli olduğu gösterilmiştir.

Çalışmamızın Gas6/Axl hedeflenerek geliştirilecek antikor, siRNA, miRNA, aptamer veya farmakolojik ajan gibi teröpatik yaklaşımlara faydalı olacağını düşünmekteyiz. PI3K / Akt / mTOR sinyal yolu, antikanser tedavileri için ana hedeftir.

AMPK aktivasyonu ve mTOR inhibisyonu yoluyla translasyonun inhibisyonu,

metformin ve potansiyel olarak diğer AMPK aktivatörleri tarafından kanser hücresi büyümesinin azaltılmasına yönelik bir hedef mekanizmayı temsil eder. Ayrıca Gas/Axl etkileşimiyle PI3K-Akt sinyal yolu üzerinden proapoptik protein olan Bad ve kaspaz 3'ün inhibe olduğunda apoptoz da inhibe olur. Metformin kullanımıyla diyabet hastalarında Gas6 ve Axl seviyelerindeki azalmayla Gas6/Axl etkileşimi azalır ve bu yolun inhibisyonu apoptoz sinyalinin aktive olacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda serum Gas6 düzeylerini etkileyebilecek durumlar göz önüne alındığında gruplar; cinsiyet, yaş ve BMI bakımından özdeşti. Ayrıca T2DM dışında kronik hastalığı olan, sigara ve alkol kullanan T2DM'li hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Bu durum da örneklem sayısının az olmasına sebep oldu.

Grupların kendi içinde Met ve Met+İns grubunda ilaç kullanımına bağlı olarak Gas6 ve Axl düzeylerinin azaldığı görüldü. Fakat gruplar arasında sadece Axl düzeyleri arasında bir azalma görülmesi örneklem sayısının az olmasından ve örneklem grubumuzun bireysel farklılıklarından (AA, AG, GG polimorfizmi) kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, T2DM'li hastalarda metformin kullanımıyla glukoz intoleransı ve Gas6/Axl yolağında meydana gelen/gelebilecek değişikliklerin olası mekanizmaları açıklanmaya çalışılmıştır. Çalışmamız sonucunda metformin kullanımıyla kan glukoz seviyeleri düzenlenirken; Gas6/Axl yolağının inhibe olduğu görülmüştür. Ayrıca metformin, insülin direnci, hipertansiyon, hiperlipidemi düzenlerken; Gas6/Axl yolağı üzerine olan inhibe edici etkisi ile metforminin pleiotropik etkilerine yenisinin eklendiğini düşünmekteyiz. Bulduğumuz sonuçlara dayanarak T2DM'li kişilerde görülen ya da görülebilecek kanser olgularının azaltılmasında ve daha iyi bir prognoz için metformin kullanımının etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Yapmış olduğumuz çalışmanın gelecekte yapılacak in vivo çalışma ve klinik araştırmalar ile Gas6/Axl yolağını hedefleyen yeni tedavi yöntemleri araştırmalarına ışık tutacağı kanaatindeyiz. Gelecekteki çalışmalar, kanser, metabolik hastalıklar, nörodejenerasyon ve yaşa bağlı hastalıkların tedavisinde metformin içeren kombinasyon terapilerinin faydasını araştırmalıdır.

Gelecekteki terapötik stratejilerin geliştirilmesi ayrıca metforminin AMPK'yi aktive edip etmediğini ve hücre ATP seviyesi aracılığıyla mTORC1'i inhibe edip etmediğini veya hücre ATP durumundan bağımsız olarak ve her iki mekanizmanın farklı hücre

tiplerinde bir arada bulunup bulunmadığının aydınlatılmasındaki ilerlemeye bağlı olacaktır. Bu çabalar, mitokondriyal olarak hedeflenmiş versiyonlar da dahil olmak üzere yeni, daha verimli ve spesifik metformin analoglarının geliştirilmesi ile kolaylaştırılacaktır.



6.KAYNAKLAR

- Aggarwal N, Singla A, Mathieu C, Montanya E, Pfeiffer AFH, Johnsson E, Zhao J, Iqbal N, Bailey C. Metformin extended-release versus immediate-release: An international, randomized, double-blind, head-to-head trial in pharmacotherapy-naïve patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2018; 20(2):463-467.
- Ahmed L, Nalwoga H, Arnes JB, Wabinga H, Micklem DR, Akslen LA. Increased tumor cell expression of Axl is a marker of aggressive features in breast cancer among African women. *APMIS*. 2015; 123(8):688-96.
- Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*. 1998; 15(7):539-53.
- Alciato, F., Sainaghi, P.P., Sola, D., Castello, L. and Avanzi, G.C. TNF- α , IL-6, and IL-1 expression is inhibited by GAS6 in monocytes/macrophages. *Journal of Leukocyte Biology*, 2010; 87: 869-875.
- American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2010; 33: 62-9
- World Health Organization - Technical Report Series*. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. 2003; 916.
- Ammoun S, Provenzano L, Zhou L, Barczyk M, Evans K, Hilton DA, Hafizi S, Hanemann CO. Axl/Gas6/NF κ B signalling in schwannoma pathological proliferation, adhesion and survival. *Oncogene*. 2014; 33(3): 336-46.
- Anderson JW, Kendall CW, Jenkins DJ. Importance of weight management in type 2 diabetes: review with meta-analysis of clinical studies. *J Am Coll Nutr*. 2003; 22(5):331-9.
- Angelillo-Scherrer A, Burnier L, Flores N, Savi P, DeMol M, Schaeffer P, Herbert JM,

- Lemke G, Goff SP, Matsushima GK, Earp HS, Vesin C, Hoylaerts MF, Plaisance S, Collen D, Conway EM, Wehrle-Haller B, Carmeliet P. Role of Gas6 receptors in platelet signaling during thrombus stabilization and implications for antithrombotic therapy. *J Clin Invest*. 2005; 115(2):237-46.
- Angelillo-Scherrer A, de Frutos P, Aparicio C, Melis E, Savi P, Lupu F, Arnout J, Dewerchin M, Hoylaerts M, Herbert J, Collen D, Dahlbäck B, Carmeliet P. Deficiency or inhibition of Gas6 causes platelet dysfunction and protects mice against thrombosis. *Nat Med*. 2001; 7(2):215-21.
- Anisimov VN, Egormin PA, Piskunova TS, Popovich IG, Tyndyk ML, Yurova MN, Zabezhinski MA, Anikin IV, Karkach AS, Romanyukha AA. Metformin extends life span of HER-2/neu transgenic mice and in combination with melatonin inhibits growth of transplantable tumors in vivo. *Cell Cycle*. 2010; 9(1):188-97.
- Aroda VR, Edelstein SL, Goldberg RB, Knowler WC, Marcovina SM, Orchard TJ, Bray GA, Schade DS, Tempresa MG, White NH, Crandall JP; Diabetes Prevention Program Research Group. Long-term Metformin Use and Vitamin B12 Deficiency in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016; 101(4):1754-61.
- Asiedu, M. K., Beauchamp-Perez, F. D., Ingle, J. N., Behrens, M. D., Radisky, D. C., & Knutson, K. L. AXL induces epithelial-to-mesenchymal transition and regulates the function of breast cancer stem cells. *Oncogene*, 2014; 33(10), 1316-1324.
- Axelrod H, Pienta KJ. Axl as a mediator of cellular growth and survival. *Oncotarget*. 2014; 5(19):8818-52.
- Binder MD, Xiao J, Kemper D, Ma GZ, Murray SS, Kilpatrick TJ. Gas6 increases myelination by oligodendrocytes and its deficiency delays recovery following cuprizone-induced demyelination. *PLoS One*. 2011; 10;6(3):e17727.
- Brandão L, Migdall-Wilson J, Eisenman K, Graham DK. TAM receptors in leukemia: expression, signaling, and therapeutic implications. *Crit Rev Oncog*. 2011; 16(1-2): 47-63.
- O'Bryan JP, Frye RA, Cogswell PC, et al. axl, a transforming gene isolated from primary human myeloid leukemia cells, encodes a novel receptor tyrosine

- kinase. *Molecular and Cellular Biology*. 1991;11(10):5016-5031
- Budagian V, Bulanova E, Orinska Z, Duitman E, Brandt K, Ludwig A, Hartmann D, Lemke G, Saftig P, Bulfone-Paus S. Soluble Axl is generated by ADAM10-dependent cleavage and associates with Gas6 in mouse serum. *Mol Cell Biol*. 2005; 25(21):9324-39.
- Caraux, A., Lu, Q., Fernandez, Nadine F., Sylvain R., James P., Di S., David H. R. Natural killer cell differentiation driven by Tyro3 receptor tyrosine kinases. *Nat Immunol* 2006; (7)747–754.
- Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, Malanda B. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018; 138:271-281.
- Craven RJ, Xu LH, Weiner T, Fridell YW, Dent GA, Srivastava S, Varnum B, Liu ET, Cance WG. Receptor Tyrosine Kinases Expressed in Metastatic Colon Cancer. *International Journal of Cancer*. 1995; 60 (6): 791–97.
- Dahlbäck B, Villoutreix BO. Regulation of blood coagulation by the protein C anticoagulant pathway: novel insights into structure-function relationships and molecular recognition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005; 25(7):1311-20.
- Demarchi F, Verardo R, Varnum B, Brancolini C, Schneider C. Gas6 anti-apoptotic signaling requires NF-kappa B activation. *J Biol Chem*. 2001; 276(34):31738-44.
- Demarchi F, Verardo R, Brian Varnum, Claudio Brancolini, Claudio Schneider, Mohsen Naghavi, Amanuel Alemu Abajobir. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Journal of Biological Chemistry*. 2011; 33 (6): 1207–13.
- Dihingia A, Kalita J, Manna P. Implication of a novel Gla-containing protein, Gas6 in the pathogenesis of insulin resistance, impaired glucose homeostasis, and inflammation: A review, *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2017; 128: 74-82,
- Dowling RJ, Zakikhani M, Fantus IG, Pollak M, Sonenberg N. Metformin inhibits mammalian target of rapamycin-dependent translation initiation in breast cancer

- cells. *Cancer Res.* 2007; 67(22):10804-12.
- Dunne PD, McArt DG, Blayney JK, Kalimutho M, Greer S, Wang T, Srivastava S, Ong CW, Arthur K, Loughrey M, Redmond K, Longley DB, Salto-Tellez M, Johnston PG, Van Schaeybroeck S. AXL is a key regulator of inherent and chemotherapy-induced invasion and predicts a poor clinical outcome in early-stage colon cancer. *Clin Cancer Res.* 2014; 20(1):164-75.
- Ekman C, Stenhoff J, Dahlbäck B. Gas6 is complexed to the soluble tyrosine kinase receptor Axl in human blood. *J Thromb Haemost.* 2010 Apr;8(4):838-44.
- Ekman C, Jönsen A, Sturfelt G, Bengtsson AA, Dahlbäck B. Plasma concentrations of Gas6 and sAxl correlate with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 2011; 50(6):1064-9.
- Ekman C, Linder A, Akesson P, Dahlbäck B. Plasma concentrations of Gas6 (growth arrest specific protein 6) and its soluble tyrosine kinase receptor sAxl in sepsis and systemic inflammatory response syndromes. *Crit Care.* 2010;14(4):R158.
- Ekman C, Site DF, Gottsäter A, Lindblad B, and Dahlbäck B. Plasma Concentrations of Growth Arrest Specific Protein 6 and the Soluble Form of Its Tyrosine Kinase Receptor Axl as Markers of Large Abdominal Aortic Aneurysms. *Clinical Biochemistry* 2010; 43 (1–2): 110–14.
- Evans Josie MM, Donnelly Louise A, Emslie-Smith Alistair M, Alessi Dario R, Morris Andrew D. Metformin and Reduced Risk of Cancer in Diabetic Patients.” *British Medical Journal* 2005; 330 (7503): 1303–4.
- Fisher PW, Brigham-Burke M, Wu SJ, Luo J, Carton J, Staquet K, Gao W, Jackson S, Bethea D, Chen C, Hu B, Giles-Komar J, Yang J. A novel site contributing to growth-arrest-specific gene 6 binding to its receptors as revealed by a human monoclonal antibody. *Biochem J.* 2005; 387(3):727-35.
- El-Mir MY, Nogueira V, Fontaine E, Avéret N, Rigoulet M, Leverve X. Dimethylbiguanide inhibits cell respiration via an indirect effect targeted on the respiratory chain complex I. *J Biol Chem.* 2000; 275(1):223-8.
- Fridell YW, Jin Y, Quilliam LA, Burchert A, McCloskey P, Spizz G, Varnum B, Der C,

- Liu ET. Differential activation of the Ras/extracellular-signal-regulated protein kinase pathway is responsible for the biological consequences induced by the Axl receptor tyrosine kinase. *Mol Cell Biol.* 1996;16(1):135-45.
- Fridell YW, Villa J Jr, Attar EC, Liu ET. GAS6 induces Axl-mediated chemotaxis of vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem.* 1998; 273(12):7123-6.
- Foretz M, Guigas B, Bertrand L, Pollak M, Viollet B. Metformin: from mechanisms of action to therapies. *Cell Metab.* 2014; 20(6):953-66.
- Fullerton MD, Galic S, Marcinko K, Sikkema S, Pulinilkunnil T, Chen ZP, O'Neill HM, Ford RJ, Palanivel R, O'Brien M, Hardie DG, Macaulay SL, Schertzer JD, Dyck JR, van Denderen BJ, Kemp BE, Steinberg GR. Single phosphorylation sites in Acc1 and Acc2 regulate lipid homeostasis and the insulin-sensitizing effects of metformin. *Nat Med.* 2013;19(12):1649-54.
- Garber AJ, Duncan TG, Goodman AM, Mills DJ, Rohlf JL. Efficacy of metformin in type II diabetes: results of a double-blind, placebo-controlled, dose-response trial. *Am J Med.* 1997; 103(6):491-7.
- Gjerdrum C, Tiron C, Høiby T, Stefansson I, Haugen H, Sandal T, Collett K, Li S, McCormack E, Gjertsen BT, Micklem DR, Akslen LA, Glackin C, Lorens JB. Axl is an essential epithelial-to-mesenchymal transition-induced regulator of breast cancer metastasis and patient survival. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(3):1124-9.
- Goruppi S, Ruaro E, Varnum B, Schneider C. Requirement of phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway and Src for Gas6-Axl mitogenic and survival activities in NIH 3T3 fibroblasts. *Mol Cell Biol.* 1997; 17(8):4442-53.
- Goruppi S, Ruaro E, Varnum B, Schneider C. Gas6-mediated survival in NIH3T3 cells activates stress signalling cascade and is independent of Ras. *Oncogene.* 1999; 18: 4224–4236.
- Graham DK, Dawson TL, Mullaney DL, Snodgrass HR, Earp HS. Cloning and mRNA expression analysis of a novel human protooncogene, c-mer. *Cell Growth Differ.* 1994 Jun;5(6):647-57. Erratum in: *Cell Growth Differ.* 1994;5(9):1022.

- Graham DK, Dawson TL, Mullaney DL, Snodgrass HR, Earp HS. Cloning and mRNA expression analysis of a novel human protooncogene, c-mer. *Cell Growth Differ.* 1994; 5(6):647-57.
- Griffin SJ, Leaver JK, Irving GJ. Impact of metformin on cardiovascular disease: a meta-analysis of randomised trials among people with type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2017; 60(9):1620-1629.
- Griss T, Vincent EE, Egnatchik R, Chen J, Ma EH, Faubert B, Viollet B, DeBerardinis RJ, Jones RG. Metformin Antagonizes Cancer Cell Proliferation by Suppressing Mitochondrial-Dependent Biosynthesis. *PLoS Biol.* 2015;13(12):e1002309.
- Hafizi S, Dahlbäck, B. Gas6 and Protein S Vitamin K-Dependent Ligands for the Axl Receptor Tyrosine Kinase Subfamily. 2006; 273: 5231–44.
- Hasanbasic I, Cuerquis J, Varnum B, and Blostein MD. Intracellular Signaling Pathways Involved in Gas6-Axl-Mediated Survival of Endothelial Cells. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology.* 2004; 287 (3): 1207–13.
- Hattori S, Kikuchi E, Kosaka T, Miyazaki Y, Tanaka N, Miyajima A, Mikami S, Oya M. Relationship Between Increased Expression of the Axl/Gas6 Signal Cascade and Prognosis of Patients with Upper Tract Urothelial Carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2016; 23(2):663-70.
- Hong CC, Lay JD, Huang JS, Cheng AL, Tang JL, Lin MT, Lai GM, Chuang SE. Receptor tyrosine kinase AXL is induced by chemotherapy drugs and overexpression of AXL confers drug resistance in acute myeloid leukemia. *Cancer Lett.* 2008; 268(2):314-24.
- Hong J, Peng D, Chen Z, Sehdev V, Belkhiri A. ABL regulation by AXL promotes cisplatin resistance in esophageal cancer. *Cancer Res.* 2013;73(1):331-40.
- Hundal RS, Krssak M, Dufour S, Laurent D, Lebon V, Chandramouli V, Inzucchi SE, Schumann WC, Petersen KF, Landau BR, Shulman GI. Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes.* 2000; 49(12):2063-9.

- Hung YJ, Lee CH, Chu NF, Shieh YS. Plasma protein growth arrest-specific 6 levels are associated with altered glucose tolerance, inflammation, and endothelial dysfunction. *Diabetes Care*. 2010; 33(8):1840-4.
- Ilkova H, Damci T, Oşar Siva Z, Özyazar M, Yumuk V, Görpe EU, and Hatipoğlu E. The Relation of Changes in Prescribing Patterns of Anti-diabetic Drugs and HbA1c Levels Among Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: Systematic Analysis of Studies From the the Past 20 Years in Turkey. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2011; 15 (4): 77–105.
- Inzucchi SE, Maggs DG, Spollett GR, Page SL, Rife FS, Walton V, Shulman GI. 1998. Efficacy And Metabolic Effects Of Metformin And Troglitazone In Type II Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*. 1998; 338(13):867-72
- Inzucchi, SE. Oral Antihyperglycemic Therapy for Type 2 Diabetes: Scientific Review. *Journal of the American Medical Association*. 2002; 287 (3): 360–72.
- Inzucchi SE, Lipska KJ, Mayo H, Bailey CJ, McGuire DK. Metformin in patients with type 2 diabetes and kidney disease: a systematic review. *JAMA*. 2014; 312(24): 2668-75.
- Iyidir Turhan Ö, and Eroğlu Altinova A. Vitamin D and Diabetes Mellitus. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2012; 16 (4): 89–94.
- Johanns M, Lai YC, Hsu MF, Jacobs R, Vertommen D, Van Sande J, Dumont JE, Woods A, Carling D, Hue L, Viollet B, Foretz M, Rider MH. AMPK antagonizes hepatic glucagon-stimulated cyclic AMP signalling via phosphorylation-induced activation of cyclic nucleotide phosphodiesterase 4B. *Nat Commun*. 2016 8;7:10856.
- Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. 2005. Pathophysiology and Treatment of Diabetes. *Nutrition and Diabetes*. 2005; 383 (9922): 136–37.
- Kanigür-Sultuybek, Gönül, Mehmet Güven, İlhan Onaran, Vecdet Tezcan, Asim Cenani, and Hüsrev Hatemi. The Effect of Metformin on Insulin Receptors and Lipid Peroxidation in Alloxan and Streptozotocin Induced Diabetes. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 1995 ;6 (3–4): 271–80.

- Kasuga M. Insulin Resistance and Pancreatic β Cell Failure. *Journal of Clinical Investigation* 2006; 116 (7): 1756–60.
- Kim KH, Kim EY, Kim Y, Kim E, Lee HS, Yoon SY, Lee KA. Gas6 downregulation impaired cytoplasmic maturation and pronuclear formation independent to the MPF activity. *PLoS One*. 2011; 6(8):e23304.
- Kim MS, Zhong Y, Yachida S, Rajeshkumar NV, Abel ML, Marimuthu A, Mudgal K, Hruban RH, Poling JS, Tyner JW, Maitra A, Iacobuzio-Donahue CA, Pandey A. Heterogeneity of pancreatic cancer metastases in a single patient revealed by quantitative proteomics. *Mol Cell Proteomics*. 2014;13(11):2803-11.
- Kim N, Lee H and Lee C: Metformin targets Axl and Tyro3 receptor tyrosine kinases to inhibit cell proliferation and overcome chemoresistance in ovarian cancer cells. *Int J Oncol* 47: 353-360, 2015
- Koorstra JB, Karikari CA, Feldmann G, Bisht S, Rojas PL, Offerhaus GJ, Alvarez H, Maitra A. The Axl receptor tyrosine kinase confers an adverse prognostic influence in pancreatic cancer and represents a new therapeutic target. *Cancer Biol Ther*. 2009; 8(7): 618-26.
- Korshunov, VA. Axl-Dependent Signalling: A Clinical Update. *Clinical Science*. 2012; 122 (8): 361–68.
- Lee M, Hsu C, Wahlqvist ML, Tsai H, Chang Y and Huang Y. 2011. Type 2 Diabetes Increases and Metformin Reduces Total, Colorectal, Liver and Pancreatic Cancer Incidences in Taiwanese: A Representative Population Prospective Cohort Study of 800 , 000 Individuals. *BMC Cancer* 11 (1): 20.
- Lei Y, Yi Y, Liu Y, Liu X, Keller ET, Qian CN, Zhang J, Lu Y. Metformin targets multiple signaling pathways in cancer. *Chin J Cancer*. 2017; 36(1):17.
- Lemke G, Rothlin CV. Immunobiology of the TAM Receptors. *Nat Rev Immunol* 2008; 8 (5): 327–336.
- Lemke, G. Biology of the TAM Receptors. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2013; 5 (11): 1–17.
- Li Y, Ye X, Tan C, Hongo JA, Zha J, Liu J, Kallop D, Ludlam MJ, Pei L. Axl as a

- potential therapeutic target in cancer: role of Axl in tumor growth, metastasis and angiogenesis. *Oncogene*. 2009; 1;28(39):3442-55.
- Linger RM, Keating AK, Earp HS, Graham DK. TAM receptor tyrosine kinases: biologic functions, signaling, and potential therapeutic targeting in human cancer. *Adv Cancer Res*. 2008;100:35-83.
- Malhan S, Öksüz E, Babineaux SM, Ertekin A, and Palmer JP. Assessment of the Direct Medical Costs of Type 2 Diabetes Mellitus and Its Complications in Turkey. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*.2014; 18 (2): 39–43.
- Manfioletti G, Brancolini C, Avanzi G, Schneider C. The Protein Encoded by a Growth Arrest-Specific Gene (Gas6) Is a New Member of the Vitamin K-Dependent Proteins Related to Protein S , a Negative Coregulator in the Blood Coagulation Cascade. *Molecular And Cellular Biology* 1993; 13 (8): 4976–85.
- May CD, Garnett J, Ma X, Landers SM, Ingram DR, Demicco EG, Al Sannaa GA, Vu T, Han L, Zhang Y, Kivlin CM, Bolshakov S, Kalam AA, Liu J, Zhou F, Broccoli D, Wang WL, Lazar AJ, Pollock RE, Lev D, Torres KE. AXL is a potential therapeutic target in dedifferentiated and pleomorphic liposarcomas. *BMC Cancer*. 2015; 14;15:901.
- Mazière JC, Mazière C, Mora L, Gardette J, Salmon S, Auclair M, and Polonovski J. The Antidiabetic Drug Metformin Decreases Cholesterol Metabolism in Cultured Human Fibroblasts. *Atherosclerosis*. 1988; 71 (1): 27–33.
- McHenry CL, Liu Y, Feng W, Nair AR, Feathers, KL, Ding X, Gal A, Vollrath D, Sieving, PA, Thompson, DA. MERTK arginine-844-cysteine in a patient with severe rod-cone dystrophy: Loss of mutant protein function in transfected cells. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 2004; 45(5), 1456-1463.
- Melaragno MG, Cavet ME, Yan C, Tai LK, Jin ZG, Haendeler J, Berk BC. Gas6 inhibits apoptosis in vascular smooth muscle: role of Axl kinase and Akt. *J Mol Cell Cardiol*. 2004; 37(4):881-7.
- Miller RA, Chu Q, Xie J, Foretz M, Viollet B, and Birnbaum MJ. Biguanides Suppress Hepatic Glucagon Signalling by Decreasing Production of Cyclic AMP. *Nature* 2013; 494: 256–60.

- Nagata K, Ohashi K, Nakano T, Arita H, Zong C, Hanafusa H, and Mizuno K. Identification of the Product of Growth Arrest-Specific Gene 6 as a Common Ligand for Axl, Sky, and Mer Receptor Tyrosine Kinases. *Journal of Biological Chemistry* 1996. 271 (47): 30022–27.
- GBD 2016 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2017; 390(10100):1151-1210.
- Narayan KM, Venkat, Boyle JP, Thompson TJ, Gregg EW and Williamson DF. Effect of BMI on Lifetime Risk for Diabetes in the U.S. *Diabetes Care*. 2007; 30 (6): 1562–66.
- Neubauer A, Fiebeler A, Graham DK, O'Bryan JP, Schmidt CA, Barckow P, Serke S, Siegert W, Snodgrass HR, Huhn D, et al. Expression of axl, a transforming receptor tyrosine kinase, in normal and malignant hematopoiesis. *Blood*. 1994; 15;84(6):1931-41.
- Nishida C, Uauy R, Kumanyika S, and Shetty P. The Joint WHO/FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases: Process, Product and Policy Implications. *Public Health Nutrition* 2007; 7 (1a): 245–50.
- Ohashi K, Nagata K, Toshima J, Nakano T, Arita H, Tsuda H, Suzuki K and Mizuno K. Stimulation of Sky Receptor Tyrosine Kinase by the Product of Growth Arrest-Specific Gene 6. *Journal of Biological Chemistry*. 1995; 270 (39): 22681–84.
- Shinichi Ota, Kazuhiko Horigome, Takayuki Ishii, Michio Nakai, Koji Hayashi, Takao Kawamura, Akiyoshi Kishino, Mutsuo Taiji, Toru Kimura,
- Ota S, Horigome K, Ishii T, Nakai M, Hayashi K, Takao Kawamura, Akiyoshi Kishino, Mutsuo Taiji, and Toru Kimura. Metformin Suppresses Glucose-6-Phosphatase Expression by a Complex I Inhibition and AMPK Activation-Independent Mechanism. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2009; 388 (2): 311–16.
- Owen, Mark R., Elena Doran, and Andrew P. Halestrap. Evidence That Metformin Exerts Its Anti-Diabetic Effects through Inhibition of Complex 1 of the

- Mitochondrial Respiratory Chain. *Biochemical Journal* 348 (3): 607–14.
- Palmer JP, Asplin CM, Clemons, Lyen K, Raghu PK, and Paquette TL. Insulin Antibodies in Insulin-Dependent Diabetics before Insulin Treatment Published by: American Association for the Advancement of Science Stable. *Advancement Of Science* 1983; 222 (4630): 1337–39.
- Paolisso, G., M. R. Tagliamonte, M. R. Rizzo, and D. Giugliano. Advancing Age and Insulin Resistance: New Facts about an Ancient History. *European Journal of Clinical Investigation* 1999; 29 (9): 758–69.
- Perera L, Li L, Darden T, Monroe DM, Pedersen LG. Prediction of solution structures of the Ca²⁺-bound gamma-carboxyglutamic acid domains of protein S and homolog growth arrest specific protein 6: use of the particle mesh Ewald method. *Biophys J.* 1997 Oct;73(4):1847-56.
- Paccez JD, Duncan K, Vava A, Correa RG, Libermann TA, Parker MI, Zerbini LF. Inactivation of GSK3 β and activation of NF- κ B pathway via Axl represents an important mediator of tumorigenesis in esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Biol Cell.* 2015; 26(5):821-31.
- Pollak MN. Investigating Metformin for Cancer Prevention and Treatment : The End of the Beginning. *Cancer Discovery.* 2012; 2(9); 778–90
- Prasad D, Rothlin CV, Burrola P, Burstyn-Cohen T, Lu Q, Frutos PG and Lemke G. TAM Receptor Function in the Retinal Pigment Epithelium. *Molecular and Cellular Neuroscience.* 2006; 33 (1): 96–108.
- Rankin EB, Fuh KC, Castellini L, Viswanathan K, Finger EC, Diep AN, LaGory EL, Kariolis MS, Chan A, Lindgren D, Axelson H, Miao YR, Krieg AJ, Giaccia AJ. Direct regulation of GAS6/AXL signaling by HIF promotes renal metastasis through SRC and MET. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111(37):13373-8.
- Rankin EB, Fuh KC, Taylor TE, Krieg AJ, Musser M, Yuan J, Wei K, Kuo CJ, Longacre TA, Giaccia AJ. AXL is an essential factor and therapeutic target for metastatic ovarian cancer. *Cancer Res.* 2010; 70(19):7570-9.
- Rea K, Pinciroli P, Sensi M, Alciato F, Bisaro B, Lozaneanu L, Raspagliesi F, Centritto

- F, Cabodi S, Defilippi P, Avanzi GC, Canevari S, Tomassetti A. Novel Axl-driven signaling pathway and molecular signature characterize high-grade ovarian cancer patients with poor clinical outcome. *Oncotarget*. 2015; 6(31):30859-75.
- Rena GD, Hardie G, and Pearson ER. The Mechanisms of Action of Metformin. *Diabetologia* 2017; 60 (9): 1577–85.
- Salman S, Satman İ, Yılmaz C, İmamoğlu Ş and Dinççağ N. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. 2020. 14. Baskı.
- Saravanamuttu S, Sudarsanam D. Antidiabetic Plants and Their Active Ingredients: A Review. Article in *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2012; 3 (10): 3639–50.
- Sasaki T, Knyazev PG, Cheburkin Y, Göhring W, Tisi D, Ullrich A, Timpl R, Hohenester E. Crystal Structure of a C-Terminal Fragment of Growth Arrest-Specific Protein Gas6: Receptor Tyrosine Kinase Activation by Laminin G-like Domains. *Journal of Biological Chemistry* 2002; 277 (46): 44164–70.
- Sasaki T, Knyazev PG, Clout NJ, Cheburkin Y, Göhring W, Ullrich A, Timpl R, Hohenester E. Structural basis for Gas6-Axl signalling. *EMBO J*. 2006; 25(1):80-7.
- Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, Karsidag K, Genc S, Telci A, Canbaz B, Turker F, Yilmaz T, Cakir B, Tuomilehto J; TURDEP-II Study Group. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol*. 2013; 28(2):169-80.
- Satman I, Yilmaz T, Sengül A, Salman S, Salman F, Uygur S, Bastar I. Population-Based Study of Diabetes and Risk Characteristics in Turkey: Results of the Turkish Diabetes Epidemiology Study (TURDEP). *Diabetes Care* 2002; 25 (9): 1551–56.
- Schneider C and King RM. Genes Specifically Expressed at Growth Arrest of Mammalian Cells. 1988; 54: 787–93.
- Shankar SL, O'Guin K, Kim M. Gas6/Axl signaling activates the phosphatidylinositol

- 3-kinase/Akt1 survival pathway to protect oligodendrocytes from tumor necrosis factor α -induced apoptosis. *The Journal of Neuroscience : the Official Journal of the Society for Neuroscience*. 2006; 26(21):5638-5648.
- Shaw RJ, Lamia KA, Vasquez D, Koo SH, Bardeesy N, Depinho RA, Montminy M, Cantley LC. The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin. *Science*. 2005; 310(5754):1642-6.
- Song R. Mechanism of Metformin: A Tale of Two Sites. *Diabetes Care* 2016; 39 (2): 187–89.
- Stafford, DW. The Vitamin K Cycle. 2005; 3(8):1873–78.
- Stitt TN, Conn G, Gore M, Lai C, Bruno J, Radziejewski C, Mattsson K, Fisher J, Gies DR, Jones PF, et al. The anticoagulation factor protein S and its relative, Gas6, are ligands for the Tyro 3/Axl family of receptor tyrosine kinases. *Cell*. 1995; 80(4):661-70.
- Song X, Wang H, Logsdon CD, Rashid A, Fleming JB, Abbruzzese JL, Gomez HF, Evans DB, Wang H. Overexpression of receptor tyrosine kinase Axl promotes tumor cell invasion and survival in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer*. 2011; 117(4):734-43.
- Sun X, Yu W, Hu C. Genetics of type 2 diabetes: insights into the pathogenesis and its clinical application. *Biomed Res Int*. 2014; 2014:926713.
- Thanabalasingham G, Owen KR. Diagnosis and Management of Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY).” *BMJ* 2011; 343 (7828): 9–18.
- Tsiperson V, Li X, Schwartz GJ, Raine CS, Shafit-Zagardo B. GAS6 Enhances Repair Following Cuprizone-Induced Demyelination. *PLoS ONE* 2010; 5(12): e15748.
- Untergasser G, Steurer M, Zimmermann M, Hermann M, Kern J, Amberger A, Gastl G, Gunsilius E. The Dickkopf-homolog 3 is expressed in tumor endothelial cells and supports capillary formation. *Int J Cancer*. 2008; 122(7):1539-47.
- Unwin N. IDF Diabetes Atlas Fourth Edition. International Diabetes Federation. 2009.
- Vajkoczy P, Knyazev P, Kunkel A, Capelle HH, Behrndt S, von Tengg-Kobligk H, Kiessling F, Eichelsbacher U, Essig M, Read TA, Erber R, Ullrich A. Dominant-

negative inhibition of the Axl receptor tyrosine kinase suppresses brain tumor cell growth and invasion and prolongs survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(15):5799-804.

Varnum, B., Young, C., Elliott, G. et al. Axl receptor tyrosine kinase stimulated by the vitamin K-dependent protein encoded by growth-arrest-specific gene 6. *Nature* 1995; 373: 623–626

Verhulst MJL, Loos BG, Gerdes VEA, Teeuw WJ. Evaluating All Potential Oral Complications of Diabetes Mellitus. *Front Endocrinol*. 2019; 10:56.

Villoutreix BO, García de Frutos P, Lövenklev M, Linse S, Fernlund P, Dahlbäck B. SHBG region of the anticoagulant cofactor protein S: secondary structure prediction, circular dichroism spectroscopy, and analysis of naturally occurring mutations. *Proteins*. 1997; 29(4):478-91.

Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, Leclerc J, Foretz M, Andreelli F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci*. 2012;122(6):253-70.

Wahdan-Alaswad RS, Edgerton SM, Salem HS, Thor AD. Metformin Targets Glucose Metabolism in Triple Negative Breast Cancer. *J Oncol Transl Res*. 2018;4(1):129.

Wang DS, Jonker JW, Kato Y, Kusuvara H, Schinkel AH, Sugiyama Y. Involvement of organic cation transporter 1 in hepatic and intestinal distribution of metformin. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;302(2):510-5.

Wang YW, He SJ, Feng X, Cheng J, Luo YT, Tian L, Huang Q. Metformin: a review of its potential indications. *Drug Des Devel Ther*. 2017; 11:2421-2429.

Wu X, Liu X, Koul S, et al. AXL kinase as a novel target for cancer therapy. *Oncotarget*. 2014; 5(20):9546-9563.

Xiang X, Saha AK, Wen R, Ruderman NB, Luo Z. AMP-activated protein kinase activators can inhibit the growth of prostate cancer cells by multiple mechanisms. *Biochem Biophys Res Commun*. 2004; 321(1):161-7.

Zakikhani M, Dowling R, Fantus IG, Sonenberg N, Pollak M. Metformin is an AMP

- kinase-dependent growth inhibitor for breast cancer cells. *Cancer Res.* 2006; 66(21):10269-73.
- Zhang CS, Li M, Ma T, Zong Y, Cui J, Feng JW, Wu YQ, Lin SY, Lin SC. Metformin Activates AMPK through the Lysosomal Pathway. *Cell Metabolism.* 2016; 24(4): 521–22.
- Zhang YX, Knyazev PG, Cheburkin YV, Sharma K, Knyazev YP, Orfi L, Szabadkai I, Daub H, Kéri G, Ullrich A. AXL is a potential target for therapeutic intervention in breast cancer progression. *Cancer Res.* 2008; 15;68(6):1905-15.
- Zhao Y, Zeng X, Tang H, Ye D, Liu J. Combination of metformin and paclitaxel suppresses proliferation and induces apoptosis of human prostate cancer cells via oxidative stress and targeting the mitochondria-dependent pathway. *Oncol Lett.* 2019; 17(5):4277-4284
- Zhou L, Liu XD, Sun M, Zhang X, German P, Bai S, Ding Z, Tannir N, Wood CG, Martin SF, Karam JA, Tamboli P, Sircar K, Rao P, Rankin EB, Laird DA, Hoang AG, Walker CL, Giaccia AJ, Jonasch E. Targeting MET and AXL overcomes resistance to sunitinib therapy in renal cell carcinoma. *Oncogene.* 2016 May;35(21):2687-97.
- Zhu C, Wei Y, Wei X. AXL receptor tyrosine kinase as a promising anti-cancer approach: functions, molecular mechanisms and clinical applications. *Mol Cancer.* 2019; 18(1):153.



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 96681246/
Konu :

10.07.2018

Sayın Prof. Dr. Gulden Bektol
Tıbbi Biyokimya

Erciyes Üniversitesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu tarafından 18.07.2018 tarihinde yapılan toplantıda çalışmanız ile ilgili alınan Etik Kurul Kararı ekte gönderilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

Eki: adet

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Tip 2 Diyabetli Hastalarda Kullanılan Değişik Antidiyabetiklerin Growth Arrest Spesifik Protein 6 ve AXL Yolağı Üzerine Etkilerinin Araştırılması
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	BELGE ADI	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	BELGE ADI	Açıklama				
	SİGORTA					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ					
	BIYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU					
	İLAN					
	YILLIK BİLDİRİM					
	SONUÇ RAPORU					
	GÜVENLİK BİLDİRİMLERİ					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2018/370	Tarih : 18.07.2018				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekeceği, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.					

KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Sami Aydoğan

Unvanı / Adı Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyeti	Araştırma ile İlişki	Katılım (*)
Prof. Dr. Sami AYDOĞAN	Fizyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Prof. Dr. Ahmet ÖZTÜRK	Halk Sağlığı	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Prof. Dr. Kemal DENİZ	Patoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Doç. Dr. Güven KAHRİMAN	Radyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Doç. Dr. Kemal ÖZYURT	Dermatoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Doç. Dr. Emin Murat CANGER	Ağız, Diş ve Çene Radyolojisi	Kayseri Eğitim Hast.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Doç. Dr. Cihangir BİÇER	Anest. ve Rean.	E.Ü. Diş Hek.Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Doç. Dr. Fatih KARDAŞ	Çocuk Sağ. ve Hast.	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Doç. Dr. Serpil TAHERİ	Tıbbi Biyoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Doç. Dr. Zafer SEZER	Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Doç. Dr. Murat SİPAHIOĞLU	İç Hastalıkları	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Dr.Öğr.Üyesi Gökmen ZARARSIZ	Biyostatistik	E.Ü. Tıp Fak.	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Av. Serhat ÖSTÜNEL	Avukat	Hukuk Müşaviri	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Ecz. Şükran TERZİ	Eczacı	Serbest Eczacı	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐
Servet Koçer	Sivil Üye	Serbest	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐

* Toplamda Bulunma

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU (2011 - KAEK-80)				
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Tip 2 Diyabetli Hastalarda Kullanılan Değişik Antidiyabetiklerin Growth Arrest Spesifik Protein 6 ve AXL Yolu Üzerine Etkilerinin Araştırılması		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU				
ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	ERCIYES ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
	AÇIK ADRES	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Melikgazi/KAYSERİ		
	TELEFON	0 352 437 49 10 - 11		
	FAKS	0 352 437 52 65		
	E-POSTA	sulniye@erciyes.edu.tr		
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR / SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI / ADI / SOYADI	Prof.Dr.Gülden Başkol		
	KOORDİNATÖR SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya		
	KOORDİNATÖR / SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Kayseri		
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ ADI SOYADI			
	DESTEKLEYİCİ			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	☐	
		FAZ 2	☐	
		FAZ 3	☐	
FAZ 4		☐		
Gözlemsel ilaç çalışması		☐		
Tıbbi cihaz klinik araştırması		☐		
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		☐		
İlaç dışı klinik araştırma		☒		
Diğer ise belirtiniz	Doktora Tezi			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEKMERKEZ ☒	ÇOKMERKEZ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐

TİP 2 DİYABETLİ HASTALARDA KULLANILAN DEĞİŞİK ANTİDİYABETİKLERİN GROWTH ARREST SPESİFİK PROTEİN 6 VE AXL YOLAĞI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORIJINALLIK RAPORU

%12	%11	%2	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	openaccess.maltepe.edu.tr İnternet Kaynağı	%3
2	temd.org.tr İnternet Kaynağı	%3
3	acikerisim.pau.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%2
4	zehirlenme.blogspot.com İnternet Kaynağı	%1
5	acikerisim.aku.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Yayın	<%1
7	www.ichastaliklaridergisi.org İnternet Kaynağı	<%1

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı soyadı: Yasemin ATICI

Uyruğu: T.C.

EĞİTİM

Derece	Fakülte/Bölüm	Üniversite	Yıl
Lisans	Fen Edebiyat Fakültesi/ Kimya	Dumlupınar Üniversitesi	2007-2011
1.Yüksek Lisans	Fen Edebiyat Fakültesi/Analitik Kimya	Dumlupınar Üniversitesi	2011-2013
2.Yüksek Lisans	Tıp Fakültesi/Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Mustafa Kemal Üniversitesi	2012-2015
Doktora	Tıp Fakültesi/Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Erciyes Üniversitesi	2017-2020