

Tip 1 Diyabetli Hastalarda İnsülin Tedavisinde ve İnsülin Gen Terapisinde Güncel Gelişmeler

Ahter D. ŞANLIOĞLU,¹, ²Hasan Ali ALTUNBAŞ,¹, ³Mustafa Kemal BALCI,¹, ³Salih ŞANLIOĞLU^{1, 2},
¹Gen ve Hücre Tedavi Merkezi, ²Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, ³İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
Endokrinoloji ve Metabolizma Bölümü, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi

Özet:

Diyabet, insülin yetmezliği sonucunda gelişen hiperglisemi ile karakterize pandemik bir hastalıktır. Hastalık tek gen defektine bağlı olmayıp multifaktoriyel mekanizmaların etkisiyle pankreatik beta hücrelerinin fonksiyonel yetmezliği veya kaybı sonucu ortaya çıkar. Günümüzde Tip 1 Diyabet (T1D) hastalarında temel tedavi yöntemi insülin enjeksiyonudur. Bu yaklaşımla, hastaların görme bozukluğu, nöronal ve böbrek komplikasyonları geliştirmeleri önlenmesine rağmen, zaman zaman hipoglisemi, havale geçirmeleri ve hatta komaya girmeleri engellenememektedir. Bugün için diyabete karşı birçok farklı insülin analogunun geliştirilmiş olmasına karşın, yakın tarihli yapılan bir meta-analize göre, hızlı ve uzun etki süreli insülin analogları, glikemik kontrol açısından geleneksel insülinlere göre çok az miktarda yarar sağlamaktadır. Bu nedenle, diyabetik hastalarda doğal endojen insülin sentez profilinin geri kazandırılması amacıyla yeni gen ve hücre tedavi metodları geliştirilmektedir. Bizde bu yazımızda insülin tedavisi ve insülin gen terapisinde kaydedilen güncel gelişmeleri ele aldık.

Keywords: Diabetes, İnsulin, İnsulin Analogues, Gene Therapy

Abstract:

Diabetes, currently at pandemic proportions worldwide, is a disease characterized by insulin deficiency manifested as hyperglycemia, which is a common sequel of both Type 1 and Type 2 Diabetes. The disease, itself, does not result from a single genetic defect, but rather from the functional loss of pancreatic beta cells or insulin resistance through multifactorial mechanisms. Insulin injection is the main treatment modality especially for patients with Type 1 Diabetes. While this approach is effective in protecting patients from developing kidney, vision and neuronal complications, it does

not prevent the recurrence of hypoglycemic events, seizures, and coma. Despite the development of several insulin analogs, recent meta-analysis indicated that rapid and long acting insulin analogs provide little benefit compared to conventional insulins regarding to glycemic control. Therefore, gene and cell therapy methods are investigated to develop a novel treatment approach to generate a natural endogenous insulin expression profile in diabetic patients.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, İnsülin, İnsülin Analogları, Gen Tedavisi

Giriş

Sığır insülininin insan insülininden üç amino asit, domuz insülininin ise bir amino asit farklılık gösteriyor olması, insülin amino asit dizisinin omurgalılar arasında korunduğuna işaret eder. Bir türe ait insülin diğerinde biyolojik olarak aktif olduğundan, klinikte ilk başlarda inek, domuz, at, ve balık pankreaslarından elde edilen insülin peptidi kullanılmıştır. Bu bağlamda hayvan pankreaslarından izole edilen insülin yıllardır yaygın olarak kullanılıyor olsa da, şu an için oldukça az sayıda ilaç şirketi insanda kullanım için hayvan insülin üretimi yapmaktadır. Firmalar bunun yerine, rekombinant DNA teknolojisini kullanarak biyosentetik insan insülini üretmeyi tercih etmektedir. Biyosentetik insülin, halen dünya genelinde satılmakta olan insülinin %70'ini oluşturmaktadır. Ancak Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun, modern şartlarda yüksek oranda saflaştırılmış hayvan insülininin yerine rekombinant biyosentetik insan insülininin tercih edilmesi için bilimsel geçerli bir sebep bulunmadığını ifade etmesi, bugün dahi hayvan insülininin rekombinant insan insülinine mükemmel bir alternatif olduğunu kanıtlamaktadır.

İnsülin molekülü, B zincirlerinin C-terminalleri arasında oluşan H bağı nedeniyle, solüsyonda dimerler oluştur-

ma eğilimindedir. Ortamda çinko iyonlarının varlığı ise, insülin dimerlerini heksamerler oluşturmaya zorlar. İnsülin monomer ve dimerlerinin kana kolaylıkla karışması, heksamerlerin ise penetrasyonunun zayıf olması, diyabet tedavisinde açısından oldukça önemlidir. Örneğin, regüler insan insülini kullanılarak (örneğin Humulin R, Novolin R, Velosulin BR, Actrapid) yeterli glisemik kontrol sağlamak çok zordur, çünkü çinko molekülüne bağlı heksamer içeriği yüksek olan insülin rejimleri gerektiği gibi emilemez. Subkutan enjeksiyon sonrası, insülin heksamerlerinin kanda emilim için dimer ve monomerlerine ayrılması 60 ile 90 dakika sürer (1). Diyabetik hastalar insülin enjeksiyonlarının zamanlamasını her zaman doğru yapamayabildiğinden, kan glukozu ile insülin konsantrasyonu arasında kolaylıkla uyumsuzluk gelişebilir. Sonuçta yetersiz glukoz kontrolü, hastaları hipoglisemi ve uzun dönemde nöropati, nefropati, ve retinopati gibi diyabet ile ilişkili komplikasyonlara yatkın hale getirir (2, 3). Buna dayanılarak, bir dizi rekombinant insülin analogu geliştirilmiştir (4). Bu çalışmalarda insan insülin dizisinde küçük değişiklikler gerçekleştirilmiş, ve insülin reseptörüne bağlanma ve glukoz kontrol özellikleri iyileştirilmiştir.

İnsülin Analoglarının Moleküler

Etki Mekanizması:

Satışa sunulan hızlı etkili insülin analoglarının ilki, *insülin lispro*, B zincirinin C terminal ucundaki sondan bir önceki lizin amino asiti ile prolin amino asitinin yeri değiştirilerek oluşturulmuştur (5). Bu değişikliğin reseptör bağlanması üzerine herhangi bir etkisi yoktur, ancak insülin dimer ve heksamerlerinin oluşumunu etkin bir şekilde önler ve postprandial enjeksiyonlar için daha yüksek miktarlarda aktif monomerik insülinin hemen kullanılabilir olmasını sağlar. Etkisinin daha kısa süre içinde başlaması sayesinde insülin lispro, enjeksiyonu takiben yemeğe başlamadan önce daha uzun bir bekleme süreci gerektiren regüler insüline göre daha esnek bir doz tarifesi ile kullanılabilir. Dolayısıyla, *insülin lispro*, regüler insan insülinine göre daha hızlı subkutan emilim, daha erken ve daha yüksek insülin piki, ve fakat daha kısa etki süresi sağlar (6). Ancak hastaların *insülin lispro* alımını takiben 15 dakika içinde yemek yememesi durumunda, hipoglisemi gelişebilir. Yemeklerin gerektiği miktarlarda karbonhidrat içermemesi ise, postprandial hipoglisemi gelişimine neden olabilir. Dolayısıyla uygulamanın dozu, yemeğin içeriğine ve miktarına göre değişebilir (7). *İnsülin aspart* gibi diğer hızlı etkili insülin analogları da vardır (Novo Nordisk tarafından "NovoLog/NovoRapid, Novomix 30" olarak pazarlanmaktadır). *İnsülin aspart*'ta, B28'deki prolin amino asiti aspartik asit ile değiştirilmiştir. Böylece, yükler arası kuvvetli itme gücü sayesinde heksamer oluşumu önlenir (8). Hızlı etkili rekombinant insülin analogları sınıfına en son katılan molekül, *insülin glulizin*'dir (Apidra®, Sanofi-Aventis) (9). *Insulin glulizin* (3BLys29BGlu-insan insulini), insan insülininden B3 pozisyonundaki asparajin amino asitinin yerinde lizin bulunması ve B29 pozisyonundaki lizin amino asitinin yerinde bir

glutamik asit bulunması ile farklılık gösterir (10). *İnsülin aspart* ve *lispro*'da uzun raf ömrü için gerekli stabilizasyon çinko yardımıyla heksamerik form muhafaza edilerek sağlanırken (11), glulizinin oligomerik molekülleri çinko eklenmeksizin stabil kalabilmektedir; bu da B28 pozisyonunda değiştirilmemiş olan ve moleküler dimerizasyon sağlayan prolin sayesinde (12). Bu avantajlara rağmen, hızlı etkili insülin analoglarının, hipoglisemi ve özellikle enjeksiyon bölgesinde allerjik reaksiyonlar gibi birçok yan etkisi vardır. Hızlı etkiyen insülin analoglarında gerçekleştirilen amino asit değişikliklerinin amacı, subkutan enjeksiyon sonrası hızlı ayrışma ve emilim ile monomer stabilitesinin sağlanmasıdır. Bununla beraber, hızlı etkiyen insülin analogları, yeterli glisemik kontrolün sağlanabilmesi amacıyla daha uzun etki süreli insülinler ile birlikte önerilirler.

Öte yandan, insülin etkisinin uzatılması istendiğinde heksamer oluşumu arzu edilir. Örneğin, *insülin glarjin* (LANTUS®), T1D ve Tip 2 Diyabet (T2D) hastaları için uygun olan, günde bir kez enjekte edilen uzun etki süreli bir insülinidir. Bu molekülde A21 pozisyonundaki asparajinin yerine glisin yerleştirilmiş, ve B zincirinin karboksi terminaline iki arjinin birimi eklenmiştir. Bu sayede, enjeksiyonu takiben presipitat oluşumu gerçekleşir (heksamer mikro kristalleri). Günde sadece bir kez kullanımı onaylanmış olan tek 24 saat etkili insülin olan *insülin glarjinin* kullanımı sırasında enjeksiyon bölgesinde yağ doku kompozisyonunda değişiklikler, kaşıntı ve döküntü gibi allerjik reaksiyonlar ortaya çıkabilmektedir. Kullanımdaki diğer bir uzun etki süreli insan insülin analogu, *insülin detemir*'dir (Levemir, Novo Nordisk) (13). Bu molekül, B29 pozisyonunda bulunan lizin amino asitine bağlı bir yağ asiti birimi (miristik asit) sayesinde dolaşımdaki albumine bağlanabilir. Enjeksiyondan sonra hızlı bir şekilde emilmesine rağmen, kanda albuminden ayrılmasının nispeten yavaş olması, etki süresini uzatır.

Daha önce belirtildiği gibi, heksamer oluşumu insülin emilimini yavaşlatırken etki süresini artırır. Doğal olarak, çok daha uzun etki süresi olan insülin analoglarının oluşturulması için çözülebilir multiheksamerler formüle edilmiştir. Bunlardan biri, Novo Nordisk tarafından geliştirilen *insülin degludec*'tir (14). Subkutan enjeksiyonu takiben çözülebilir multiheksamerler oluşturan ve bu sayede çok uzun etkili olabilen bir bazal insülin (15). *Insulin degludec* ile, hastalar için optimal bazal insülin seviyelerinin sağlanması hedeflenmiştir. Etkisi, *insülin glarjin* ve *insülin detemir*'in 18 ila 26 saatlik etki süresinin aksine 40 saate kadar sürdüğünden, diyabetik hastaların kan şekeri seviyelerinin bir haftaya kadar kontrol edilebilmesi için üç kez subkutan enjeksiyon yeterlidir (16).

İnsülin Analoglarının Klinik Kullanımı ile İlişkili Mevcut Zorluklar:

İnsülin analoglarının emilimi, beta hücre insülininin etkisini kısmen taklit edecek ölçüde hızla (*lispro*, *aspart* ve *glulizin*'de olduğu gibi) veya kademeli olabilmesine rağmen (*insulin detemir* ve *insulin glarjin*'de olduğu gibi), bu ajan-

lar serum glukoz düzeyini iskelet kası ve yağ dokusuna glukoz girişini sağlayarak düşürür, ve aynı zamanda glukoneogenez, glikojenoliz, ve lipolizi engeller. Bu avantajlarına rağmen, mevcut insülin analogları özellikle yüksek dozlarda kullanıldıklarında fizyolojik bazal insülin sekresyon profilini oluşturmada yetersiz kalmaktadırlar (17). Alternatif olarak, bu ajanlar düşük dozlarda kullanıldıklarında, diyabetik hastalarda 24 saat yeterli insülin düzeyi sağlanamaz (18). Bireyler arasındaki metabolik değişkenlik düşünüldüğünde, insülin analogları kullanan diyabet hastalarında halen optimum düzeyde postprandial insülin seviyelerinin de sağlanabilmesi gerekmektedir. Bu hastalarda optimum glisemik kontrole ulaşılmasında en önemli sorunun tekrarlayan insülin indüklü hipoglisemi olduğu belirlenmiştir (19). Buna ek olarak, uzun etki süreli glarjin'in, insan osteosarkom hücre hattının mitotik hızını artırdığı belirlenen insülin-benzere büyüme faktörü (IGF) reseptörüne afinitesi olduğu saptanmıştır (20). Dolaşımdaki yüksek IGF-1 seviyeleri, solid tümör ve lösemi riski ile ilişkilendirildiğinden, bazı yeni insülin analoglarını kullanan hastalarda kanser riskinin artabileceğinden endişe duyulmaktadır (21). Avrupa Tıp Ajanlığı (EMA), insülin analogları ve kanser arasındaki potansiyel riski doğrulamamış olmakla birlikte, böyle bir ihtimalin olmadığını dışlayamamıştır. İnsülin replasman tedavisi ile ilişkili temel problemlerden biri, dışarıdan insülin enjeksiyonu ile endojen olarak pankreatik beta hücrelerinden üretilen doğal insülin salınımına tamamen uyan bir insülin profili oluşturmanın neredeyse mümkün olmamasıdır. Bu kısmen, ekzojen olarak verilen insülinin hepatik arter aracılığıyla karaciğere ulaşmadan önce ilk olarak venöz ve pulmoner dolaşıma girme gerekliliğinden kaynaklanır. Bunun aksine, pankreatik beta hücrelerinden salınan insülin portal ven aracılığıyla direkt olarak karaciğere gider. İnsülinin fizyolojik etkilerinin açığa çıkmasının, ve en azından insülin dinamiğinin, uygulanış şekline göre farklılık gösterebileceği barizdir.

Günümüzde birçok insülin analogu üretilmesine rağmen, yakın tarihli bir meta-analiz, hızlı ve uzun etkili insülin analoglarının glisemik kontrol açısından beklenenin aksine konvansiyonel insüline oranla oldukça az yarar sağladığını göstermiştir. Diyabet bir tek gen hastalığı olmasa da, diyabetin temel sekeli olarak bilinen insülin yetersizliğinin ortadan kaldırılabilmesi için gen tedavisi aracılığıyla insülin gen transferinin gerçekleştirilmesi, oldukça cazip bir tedavi yaklaşımı olarak ortaya çıkmaktadır. Sonuç olarak, diyabetik hastalarda bu engellerin aşılabilmesi için aşağıda açıkladığı gibi alternatif olarak yeni gen ve hücre tedavi yaklaşımlarına gereksinim vardır (22, 23).

Diyabette Gen Tedavisi

Günümüzde diyabet hastalarının tedavisi için deneysel gen terapi yaklaşımları geliştirilmektedir (24). Gen aktarımları iki farklı yolla yapılabilmektedir. Bunlardan birisi *eks vivo* yaklaşımdır. Bu yöntemde hastadan alınan hücreler vücudun dışında laboratuvar ortamında modifiye edilir ve tekrar has-

talara nakledilir. In vivo yöntemde ise, gen transfer vektörlerinin farklı yollarla hastalara direkt enjeksiyonu söz konusudur (intravenöz, subkutan, vb.). Basit ve daha uygun olması sebebiyle, in vivo gen tedavisi, gen aktarımlarında oldukça tercih edilen bir metottur. Kan glukozunun düşürülmesini hedefleyen gen tedavi yaklaşımları genel olarak glukoz kullanımını kolaylaştırırken, eş zamanlı olarak hepatik glukoz üretimini inhibe etmeyi amaçlamaktadır. Alternatif olarak, karaciğer gibi organlarda beta hücresi oluşturma potansiyeline sahip olan transkripsiyon faktörlerini kodlayan genlerin aktarımı da denenmiş çalışmalar arasındadır. Örneğin, karaciğere Pancreatic/Duodenal Homeobox Gene 1 (PDX1) ve NeuroD gibi transkripsiyon faktörlerini kodlayan genlerin transferi ile hepatositlerin insülin salgılayan hücrelere transdiferansiyasyonu, farelerde Streptozotosin (STZ) ile indüklenmiş diyabeti hafifletebilmiştir (25). Bunun yanında, NeuroD ve Betacellulin aracılı gen terapi yaklaşımlarının, adacık neogenezini indüklediği ve karaciğerde insülin üreten hücreleri oluşturulabildiği bildirilmiştir (26).

Gen transfer vektörleri aracılığıyla insülin gen aktarımının, diyabetik hastalarda endojen insülin ekspresyon profilini taklit edebilecek potansiyel bir yaklaşım olduğu açıktır. Bu nedenle, insülin gen tedavisinin ana hedefleri, insülin gen ekspresyonunun sağlanabilmesi, periferik dokulara glukoz alımının artırılması, glukagon sekresyonunun basılanması, ve hipergliseminin azaltılabilmesi için hepatik glukoz üretiminin inhibe edilmesi olarak tanımlanabilir (27). Bu hedeflere ulaşılırken, hipogliseminin engellenebilmesi amacıyla, hücre tipine spesifik regüle edilebilir insülin gen ekspresyonu da gereklidir. Sonuç olarak, insülin gen tedavisi, diyabetik ketoasidoz olarak bilinen hepatik ketogenez ve lipolizi etkin bir şekilde bloke edebildiğinden, bazal plazma insülin gereksiniminin karşılanabilmesi için gerekli çözümü sağlayabilir (28).

İnsülin Gen Tedavisinin Potansiyel

Uygulamaları

Proinsülinin kontrollü transkripsiyonu ve translasyonu, regüle edilebilir bir sekretuar yol ve indüktif sekresyon, pankreatik beta hücrelerinin belirgin temel özelliklerindedir. Hepatositlerde GK ve GLUT2'den oluşan bir glukoz algılama mekanizması bulunsa da, bu hücrelerde regüle edilebilir sekretuar yol bulunmamaktadır. Buna ek olarak, nöroendokrin hücreler sekretuar granüllerde insülin depolama yeteneğine sahiptir, ve regüle edilebilir sekretuar yol bulundurlar, ancak glukoz algılama mekanizmaları yoktur. Bu nedenle, ne hepatositler ne de nöroendokrin hücreler, beta hücrelerinin yerine geçebilecek ideal hücreler değildir. Buna karşın, duodenum ve jejunumda bulunan K hücrelerinin, aynen beta hücrelerindeki gibi GK, GLUT2, ve prohormon konvertaz ekspresyon etmeleri dolayısıyla, glukoz kontrollü insülin sentezi ve sekresyonu için ideal hedef hücreler olduğu düşünülmektedir (29). K hücrelerine spesifik promotorlar aracılığıyla insan proinsülin gen ekspresyonunun sağlandığı transgenik hayvanların STZ uygulamasına diren-

çli olması (30), beta hücrelerinin yokluğuna rağmen glukoz homeostazının başarılı bir şekilde kontrol edilebileceğini göstermektedir (31). Ancak, intestinal epitel hücrelerinin hızlı devinimi dolayısıyla, uzun süreli gen ekspresyonunu gerçekleştirebilmek için K hücre progenitör hücreleri hedef alınmalıdır. İntestinal epitel hücre popülasyonunun sadece %1 kadarının enteroendokrin hücrelerden oluşması dolayısıyla, insülin üretimi için hedeflenebilecek enteroendokrin hücreler henüz izole edilememiş ve tanımlanamamıştır. Bununla beraber, viral vektörlerin kullanıldığı çalışmalarda bu engelin aşılabilmesi yolunda umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, rAAV2 vektörü, enteroendokrin L-hücrelerini (NCI-H716) başarılı bir şekilde transdüksiyona uğratmış ve genetik yapılarını değiştirmiştir. Bu hücreler, bir kökültür ortamında çok sayıda enterositin varlığına rağmen (Caco-2 or T84) regüle edilebilir insülin cevabı sergilemiştir (32). İnsan insülin geninin kitozan nanopartikülleri içinde lavaj yoluyla gastrointestinal hücrelerine aktarılmasının STZ ile indüklenen diyabetik ratların açlık kan şekeri düşürmesi, bu bulguyu destekler niteliktedir (33).

Buna ek olarak, beta hücresi yerine geçebilecek hücrenin ideal olarak, glukoz varlığında postprandial insülin sekresyonunu regüle etmede önemli olan GLP-1 reseptörlerini eksprese etmesi beklenmektedir. Bilindiği gibi, metabolik stres altında glukoz metabolizmasının PACAP ve VIP tarafından indüklenen metabolik yollar aracılığıyla kontrolü için bir nöronal girdi gereklidir. En önemlisi, insülin, sitoplazmada mevcut olan sekretuar granüllerin boşaltılması ile, beta hücrelerinin stimülasyonunu takiben dakikalar içinde salınır. Bu nedenle insülin sekresyon kinetiğinin çok hızlı olduğu apaçık ortadadır. Ancak, transkripsiyonel aktivasyona bağlı insülin sekresyonu, dakikalar değil saatler sonra gerçekleşmektedir. Benzer şekilde preproinsülin mRNA'sının yarı ömrü, gerçek beta hücrelerinde 24 saat, beta hücrelerinin yerine geçme potansiyeli olan temsili hücrelerde ise daha kısa (6 saat) olmasına rağmen; transkripsiyonel inhibisyonla insülin sentezinin sonlandırılması yine oldukça yavaş gerçekleşen bir süreçtir. Her halükarda sinyalin sonlanmasını takiben insülin sekresyonunun da dakikalar içinde durması beklenmektedir. Preproinsülin mRNA'sının stabilitesinin ve işlenmesinin kontrolünde beta hücrelerine spesifik faktörler rol aldığından, preproinsülin cDNA'sı kodlayan gen tedavi vektörleri, beta hücrelerinin yerine geçme potansiyeli olan temsili hücrelerde yeterli regülatör kontrolün gerçekleştirilmesi için yukarıda belirtilen tüm durumlar gözönüne alınarak dikkatlice tasarlanmalıdır.

Hepatositlerde sürekli olarak protein sekresyonu gerçekleştirildiğinden, postprandial glukoz yükselmeleri ile başedebilmek için yeterli miktarlarda ani insülinin salınımını sağlayabilmek oldukça zordur. Bu nedenle, postprandial glukoz seviyelerini düzenlemek için dizayn edilen rekombinant insülin, sinyal tanınmasını takiben, beta hücrelerinden atımlar halinde (havai fişek patlaması gibi) hızlı bir şekilde salınmalıdır. İnsülin, salınımına dek beta hücreleri içindeki sekretuar granüllerde depolandığından, gen aktarımı

yoluyla fizyolojik olarak kontrol edilen insülin üretiminin başarılması için, bu granüllerden insülin sekresyonunun regülasyonu gereklidir. Dolayısıyla, sekresyonun direk kontrolü, transkripsiyonel yolla kan glukozunun kontrolünden daha hızlı bir ayar sağlar. İnsülin sekresyonunun Endoplazmik Retikulum'da (ER) kontrollü agregasyon aracılığıyla regülasyonu, insülinin kontrollü salınımının sağlanabilmesi için önerilen yeni bir tamamlayıcı yaklaşımdır (34). Bu modelde, yapısı değiştirilmiş proinsülin, konstitütif sekretuar hücrelerde ER içinde tutulur. Oral olarak verilen küçük bir molekül ile indüksiyonu takiben, insülin işlenir ve sonrasında nispeten büyük miktarlarda hızlıca salınır. Burada, proinsülinin genetik yapısı, koşullu agregasyon domainlerine (CAD) takılı olarak bir sinyal dizisi taşıyacak şekilde değiştirilmiştir. Koşullu agregasyon birimleri, hedef moleküllerin ER içinde tutulması için gereklidir. Buna ek olarak, proinsülinin posttranslasyonel modifikasyonunun mümkün olabilmesi için proinsülin kodlayan dizi içine furin kesim bölgeleri dahil edilmiştir. Bu senaryoda, ER'ın, normalde özelleşmiş hücrelerde sekretuar granüller tarafından gerçekleştirilen fonksiyonu gerçekleştirmesi amaçlanmaktadır. Sonrasında bir küçük ilacın uygulanması, proinsülin agregatlarının ayrışmasını, ve Golgi'ye translokasyonlarını sağlar. Proinsülinin Golgi'de işlenmesini takiben, olgun insülin nispeten kısa sürede yoğun bir şekilde salınır. Böylece, insülin, ilaç uygulamasını takiben 15 dakika içinde kanda belirlenebilir; 2 saat içinde de pik yaparak kan glukoz seviyelerinde %90 azalma sağlar. İlaç alımının durması ile, dolaşımdaki insülin azalır ve glukoz seviyeleri yine yükselmeye başlar. Dolayısıyla, bu modeldeki insülin sekresyonunun kinetiği, doğal insülin sekresyonundaki profile çok benzemektedir. Böylece, glukoz ile stimüle edilen insülin gen ekspresyonu ile birlikte, ilaçla indüklenabilen bir sistemin kullanımının, pankreatik beta hücre fonksiyonunu taklit etme potansiyeli yüksektir.

İnsülin gen naklinde kaydedilen son gelişmeler en azından bu yöntemin hastaların basal insülin ihtiyacını yıllarca karşılayabilecek düzeye geldiğini göstermektedir (35). Sonuç olarak, somatik hücre hedefli insülin gen tedavisinin, gelecekte kullanım potansiyeli yüksektir, ve insülin rejimleri ve adacık hücre transplantasyonu gibi mevcut tedavi yaklaşımlarına oranla etkinlik derecesinin belirlenebilmesi için daha ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir (36, 37).

Kaynaklar:

1. Ginsberg, B. H. 1994. The role of technology in diabetes therapy. *Diabetes Care* 17 Suppl 1: 50-55.
2. 1993. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 329: 977-986.
3. 1994. Effect of intensive diabetes treatment on the development and progression of long-term complications in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus: Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Control and Complications Trial Research Group. J Pediatr* 125: 177-188.
4. Hirsch, I. B. 2005. Insulin analogues. *N Engl J Med* 352: 174-183.
5. Zinman, B., H. Tildesley, J. L. Chiasson, E. Tsui, and T. Strack. 1997. Insulin lispro in CSII: results of a double-blind crossover study. *Diabe-*

- tes 46: 440-443.
6. Howey, D. C., R. R. Bowsher, R. L. Brunelle, and J. R. Woodworth. 1994. [Lys(B28), Pro(B29)]-human insulin. A rapidly absorbed analogue of human insulin. *Diabetes* 43: 396-402.
 7. Burge, M. R., K. R. Castillo, and D. S. Schade. 1997. Meal composition is a determinant of lispro-induced hypoglycemia in IDDM. *Diabetes Care* 20: 152-155.
 8. Rys, P., O. Pankiewicz, K. Lach, A. Kwaskowski, I. Skrzekowska-Baran, and M. T. Malecki. 2011. Efficacy and safety comparison of rapid-acting insulin aspart and regular human insulin in the treatment of type 1 and type 2 diabetes mellitus: A systematic review. *Diabetes Metab* 37: 190-200.
 9. Lih, A., E. Hibbert, T. Wong, C. M. Girgis, N. Garg, and J. N. Carter. 2010. The role of insulin glulisine to improve glycemic control in children with diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr Obes* 3: 403-412.
 10. Garnock-Jones, K. P., and G. L. Plosker. 2009. Insulin glulisine: a review of its use in the management of diabetes mellitus. *Drugs* 69: 1035-1057.
 11. Richards, J. P., M. P. Stickelmeyer, D. B. Flora, R. E. Chance, B. H. Frank, and M. R. DeFelippis. 1998. Self-association properties of monomeric insulin analogs under formulation conditions. *Pharm Res* 15: 1434-1441.
 12. Zoete, V., M. Meuwly, and M. Karplus. 2005. Study of the insulin dimerization: binding free energy calculations and per-residue free energy decomposition. *Proteins* 61: 79-93.
 13. Hermansen, K., M. Davies, T. Derezinski, G. Martinez Ravn, P. Clauson, and P. Home. 2006. A 26-week, randomized, parallel, treat-to-target trial comparing insulin detemir with NPH insulin as add-on therapy to oral glucose-lowering drugs in insulin-naive people with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 29: 1269-1274.
 14. Zinman, B. et al. 2011. Insulin degludec, an ultra-long-acting basal insulin, once a day or three times a week versus insulin glargine once a day in patients with type 2 diabetes: a 16-week, randomised, open-label, phase 2 trial. *Lancet* 377: 924-931.
 15. Birkeland, K. I. et al. 2011. Insulin degludec in type 1 diabetes: a randomized controlled trial of a new-generation ultra-long-acting insulin compared with insulin glargine. *Diabetes Care* 34: 661-665.
 16. Heise, T. et al. 2011. A new-generation ultra-long-acting basal insulin with a bolus boost compared with insulin glargine in insulin-naive people with type 2 diabetes: a randomized, controlled trial. *Diabetes Care* 34: 669-674.
 17. Heise, T., and T. R. Pieber. 2007. Towards peakless, reproducible and long-acting insulins. An assessment of the basal analogues based on isoglycaemic clamp studies. *Diabetes Obes Metab* 9: 648-659.
 18. Ashwell, S. G., J. Gebbie, and P. D. Home. 2006. Twice-daily compared with once-daily insulin glargine in people with Type 1 diabetes using meal-time insulin aspart. *Diabet Med* 23: 879-886.
 19. Mohn, A., M. Marcovecchio, and F. Chiarelli. 2005. Insulin analogues. *N Engl J Med* 352: 1822-4; author reply 1822-4.
 20. Kurtzhals, P. et al. 2000. Correlations of receptor binding and metabolic and mitogenic potencies of insulin analogs designed for clinical use. *Diabetes* 49: 999-1005.
 21. Hemkens, L. G. et al. 2009. Risk of malignancies in patients with diabetes treated with human insulin or insulin analogues: a cohort study. *Diabetologia* 52: 1732-1744.
 22. Sanlioglu, A. D. et al. 2008. Molecular mechanisms of death ligand-mediated immune modulation: a gene therapy model to prolong islet survival in type 1 diabetes. *J Cell Biochem* 104: 710-720.
 23. Dirice, E. et al. 2011. TRAIL and DcR1 expressions are differentially regulated in the pancreatic islets of STZ- versus CY-applied NOD mice. *Exp Diabetes Res* 2011: 625813.
 24. Chan, L., M. Fujimiya, and H. Kojima. 2003. In vivo gene therapy for diabetes mellitus. *Trends Mol Med* 9: 430-435.
 25. Ferber, S. et al. 2000. Pancreatic and duodenal homeobox gene 1 induces expression of insulin genes in liver and ameliorates streptozotocin-induced hyperglycemia. *Nat Med* 6: 568-572.
 26. Kojima, H. et al. 2003. NeuroD-beta cellulin gene therapy induces islet neogenesis in the liver and reverses diabetes in mice. *Nat Med* 9: 596-603.
 27. Bansal, P., and Q. Wang. 2008. Insulin as a physiological modulator of glucagon secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 295: E751-61.
 28. Marcin, J. P., N. Kuppermann, D. J. Tancredi, and N. S. Glaser. 2011. Insulin administration for treatment of pediatric diabetic ketoacidosis: Are lower rates of infusion beneficial? *Pediatr Crit Care Med* 12: 217-219.
 29. Dong, H., and S. L. Woo. 2001. Hepatic insulin production for type 1 diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 12: 441-446.
 30. Cheung, A. T. et al. 2000. Glucose-dependent insulin release from genetically engineered K cells. *Science* 290: 1959-1962.
 31. Corbett, J. A. 2001. K cells: a novel target for insulin gene therapy for the prevention of diabetes. *Trends Endocrinol Metab* 12: 140-142.
 32. Tang, S. C., and A. Sambanis. 2004. Differential rAAV2 transduction efficiencies and insulin secretion profiles in pure and co-culture models of human enteroendocrine L-cells and enterocytes. *J Gene Med* 6: 1003-1013.
 33. Niu, L., Y. C. Xu, Z. Dai, and H. Q. Tang. 2008. Gene therapy for type 1 diabetes mellitus in rats by gastrointestinal administration of chitosan nanoparticles containing human insulin gene. *World J Gastroenterol* 14: 4209-4215.
 34. Rivera, V. M. et al. 2000. Regulation of protein secretion through controlled aggregation in the endoplasmic reticulum. *Science* 287: 826-830.
 35. Elsner, M. et al. 2012. Reversal of Diabetes Through Gene Therapy of Diabetic Rats by Hepatic Insulin Expression via Lentiviral Transduction. *Mol Ther* (In Press)
 36. Dirice, E. et al. 2009. Adenovirus-mediated TRAIL gene (Ad5hTRAIL) delivery into pancreatic islets prolongs normoglycemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *Hum Gene Ther* 20: 1177-1189.
 37. Kahraman, S. et al. 2011. Tracing of islet graft survival by way of in vivo fluorescence imaging. *Diabetes Metab Res Rev* 27: 575-583.