

## ***Diyabette Yeni Terapotik Hedef Biyobelirteç İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Proteinler***

**Burcu OKUTUCU\***

*Ege Üniversitesi Fen Fakültesi*

*burcu.okutucu@ege.edu.tr*

ORCID : 0000-0002-0907-4175

**Zeynep ERİM**

*Trakya Üniversitesi*

*erimzeynep@hotmail.com*

ORCID : 0000-0003-4412-0875

### **ÖZ**

Diyabet giderek artan global bir sağlık sorunudur. Bu nedenle teşhis ve tedavi yöntemlerine alternatif, etkili, kolay kullanımlı terapotik biyobelirteç çalışmaları oldukça önemlidir. İnsülin benzeri büyüme faktörleri (IGF'lerin) potansiyel terapotik olarak değerlendirilmektedir. IGF ailesinin; diyabet, kanser, büyüme geriliği, kas-iskelet sistemi hastalıkları ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanım alanları mevcuttur. IGF'ler yapısal olarak insüline benzer ve biyolojik sıvıda, insülin benzeri bağlayıcı protein (IGFBP)'lere bağlanmış halde bulunur. Şu ana kadar karakterize edilmiş yedi memeli IGFBP'i bulunur.IGFBP'ler, IGF'lere Tip-1 IGF reseptörlerinden daha yüksek afinitede bağlanırlar. IGFBP-3 diğer IGFBP'ler ile sürekli ilişkisi olan bir proteindir. Karaciğer, adipositler, böbrekler ve bağırsaklar gb bir çok dokuda bulunur. IGF-1; IGFBP-3 ve ALS (acid labile subunit) ile birlikte yüksek moleküler kütleli üçlü bir kompleks halinde bulunur. IGFBP-3, diyabetik hastalarda glukoz homeostazında çok önemli rol oynamaktadır. Yapılan klinik çalışmalar, IGFBP-3'ün diyabette anahtar bir modülatör olabileceğini gösterir.

**Anahtar kelimeler:** *diyabet, insülin benzeri büyüme faktörü, insülin benzeri bağlayıcı protein*

### **ABSTRACT**

Diabetes is a growing global health problem. Therefore, effective, easy-to-use therapeutic biomarker studies are very important as an alternative to diagnosis and treatment of diabetes. Insulin-like growth factors (IGFs) are being evaluated as potential therapeutics. IGFs family; can be used in the treatment of diabetes, cancer, growth retardation, musculoskeletal system diseases and neurodegenerative diseases. IGFs are structurally similar to insulin and are found in biological fluids bound to insulin-like binding proteins (IGFBPs). Recently, there are seven mammalian IGFBPs have been characterized. IGFBPs bind to IGFs with higher affinity than Type-1 IGF receptors. IGFBP-3 is a protein that is in constant association with other IGFBPs. It is found in many tissues such as liver, adipocytes, kidneys and intestines. IGF-1; exists as a high molecular mass ternary complex with IGFBP-3 and ALS (acid labile subunit). IGFBP-3 plays a very important role in glucose homeostasis in diabetic patients. Clinical studies show that IGFBP-3 may be a key modulator in diabetes.

\*Sorumlu Yazar

Makale Geliş Tarihi: 27.07.2021 Makale Kabul Tarihi: 04.06.2022

**Keywords:** *diabetes, insulin-like growth factors, insulin-like binding protein*

## GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM) global bir sağlık sorunudur. 2030 yılına kadar yaklaşık 300 milyon kişi bu hastalığa sahip olacaktır (Wild et al., 2004). Beslenme bozukluğu, yetersiz fiziksel aktivite ve yaşam süresinin uzamasıyla prevalansı artan bir metabolik hastalıktır. Diyabet pankreatik  $\beta$  hücrelerinin insulin salgılanmasında hasara bağlı olarak insulin eksikliği veya salgılanan insülinin etkisini gösterememesi nedeniyle glukozun hatalı kontrolü sonucu oluşan bir hastalıktır. İnsülin karbohidrat metabolizmasında önemli bir role sahiptir. Ayrıca, insülinin protein ve yağ metabolizmaları üzerinde de önemli etkileri vardır. Dolaşımında insülin derişimi değişmesi, tüm vücutta etkiye neden olur. Tanımlanan 4 tip diyabet mevcuttur. En yaygın olan ve tedavi alanı araştırmaları ile ilgi çekenler Tip 1 ve Tip 2 diyabetdir. Tip 1 diyabet, otoimmün aracılı pankreatik beta hücrelerinin olmamasıyla, mutlak insülin eksikliğidir. Tip 2 diyabet ise insülin direncini telafi etmek için yetersiz olan insülin sekresyonundan kaynaklanır. Tip 2 diyabet (T2DM) oluşumundaki risk faktörleri; birinci derece yakınlarında diyabet hastalığı olanlar (genetik yatkınlık), aşırı kilo, yüksek tansiyon ve kalp damar hastalığı geçmişi olanlar, gebelikte diyabet tanısı konulan hamileler, dört kilo ve üzerinde doğum yapan anneler, fiziksel olarak aktif olmayanlar, prediyabeti bulunanlar, kırkbeş yaş ve üstünde olanlar, polikistik over sendromu bulunan kadınlar, sağlıksız beslenenler ve trigliserid miktarı 250mg/dl ve üzerinde ya da yüksek yoğunluklu lipoprotein kolestrol 35mg/dl ve altında olarak sıralanabilir.

Diyabetin oluşum mekanizmasında görev alan birçok protein, protein ailesi ve reseptör aileleleri mevcuttur. Diyabete bağlı komplikasyonların erken teşhisi ve tedavi için biyokimyasal belirteçler çok önemlidir. Bunlar; adiponektin, C-peptid, fruktozamin, insulin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), insulin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 3 (IGFBP-3), insulin, piruvat ve laktattır.

İnsülin/IGF-1 sinyal yolu, vücut homeostazında, glukoz regülasyonunda önemli bir rol oynar ve beyinde parakrin/otokrin fonksiyonlara sahiptir; her iki peptidin de birincil kaynağı çoğunlukla periferik dolaşımdır. İnsülin ve IGF-1, biyolojik aktivite ve sekans dizilimleri bakımından birbirine yakındır. İnsülin, kan şekeri düzeylerinin yüksek olduğu algılandığında öncelikle pankreastan salgılanırken, IGF-1 esas olarak pankreas tarafından salgılansa da karaciğer ve beyinde lokal olarak da sentezlenir. İnsülin/IGF-1 sinyal yolağının periferik etkileri, hipotalamus düzeyinde özelleşmiş bir grup glikozlayıcı nöron tarafından yönetilir. Bu nöronlar, enerji dengesini ve beslenme davranışını kontrol eden çevresel sinyallere yanıt verir. Bu homeostatik dengede beyin veya periferik insülin salınımı veya sinyallerinin bozulması yoluyla değişiklikler vücut ağırlığında, hiperinsülinemide ve insülin direncinde değişikliklere neden olabilir ve bu da uzun vadede beyin de dahil olmak üzere insan vücudu üzerinde zararlı etkilere yol açabilir.

İnsülin reseptörleri (IR), hücrelere ve hücresele metabolizmaya glukoz taşınmasına aracılık ettiği bilinen periferdeki dokular boyunca yaygın olarak eksprese edilir. IGF-1, fonksiyonlarını esas olarak IGF-1 reseptörüne (IGF-1R) bağlanarak gösterir ve normal büyüme ve gelişme, nöronun hayatta kalması, miyelin kılıf sentezi, astrosit fonksiyonu, damar büyümesi, nöronal uyandırılabilirlik ve oligodendrojenez için gerekli olduğu bildirilmektedir.

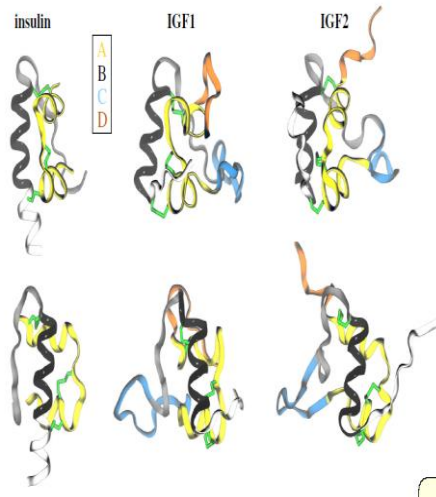
## İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri (IGF)

Büyüme hormonu, büyüme, kıkırdak ve protein metabolizmasına etki eder ve bu etkilerini somatomedinler ile gösterirler. Somatomedinler polipeptid yapısına sahiptirler ve büyüme hormonu etkisiyle, karaciğer ve diğer dokulardan sentezlenen büyüme faktörleridir. Salmon ve

arkadaşları 1957’de yaptıkları çalışmaların sonucunda dört farklı somatomedin tespit etmiştir. Bu somatomedinlerin bazıları yapısal olarak insüline çok benzemesi ve büyüme üzerindeki etkileri ile insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF) olarak tanımlanmıştır (Salmon ve Daugday,1957).

IGF’ler normal ve zararlı hücrelerin büyümesi ve farklılaşması üzerine etkileri tanımlanmış, yapısal olarak, birçok dokuda geniş ölçüde eksprese olan, insan serumunda nanomolar konsantrasyonlarda bulunan, endokrin, otokrin ve parakrin aktivitelere sahip, molekül ağırlığı yaklaşık 7kDa olan, küçük peptid hormonlardır (Rinderknecht ve Humbel;1978a; 1978b). Yapısal olarak insüline benzerler. İnsülin 1922’de Frederick ve arkadaşları tarafından bir peptid hormon olarak keşfedilmiştir. İnsülin pankreatik hücreler tarafından salgılanır ve öncelikle yüksek organizmalarda glukoz homeostazından sorumludur (Harish, 2015). İnsülin, sinyal dizisinin çıkarılması ile proinsülin haline gelir ve daha sonra enzimlerle bağlantı peptidinin yarılması ile olgun insülin haline gelerek, preproinsülin olarak da bilinen, -110 kalıntısının tek zincirli bir molekülü olarak sentezlenir. Bu nedenle, son insülin monomeri, iki zincirden, 21 kalıntı içeren bir A zincirinden ve 30 kalıntı içeren bir B zincirinden oluşur. Bununla birlikte, homolog büyüme faktörleri IGF-1 (70 kalıntı) ve IGF-2 (67 kalıntı ), her biri sırasıyla B, C, A ve D (N-terminalinden C-terminaline) olarak adlandırılan dört alanla, tek zincirli polipeptitlerdir. .

IGF’lerin A ve B zincirleri, insülinin A ve B zincirlerine benzerken, insülin, IGF’lerden farklı olarak C ve D zincirlerinden yoksundur. Bununla birlikte, her bir ligand üç disülfid bağına sahiptir ve IGF’ler ek alanlardan dolayı insülinde biraz daha büyüktür. Tüm zincirlerin üç boyutlu kıvrımları Şekil 1’de gösterilmektedir. Ligandlar arasında benzer yapısal elemanlar A zincirlerinde iki sarmal (sarı) ve B zincirlerinde merkezi bir sarmal (siyah) içerir. Temel farklılık N ve C terminal B zincirlerinde bulunur, insülin B zincirinin N terminali, uzatılmış veya sarmal olabilirken, C-terminali insülin B-zinciri, IGF’ler için görülen yapısal olmayan konformasyonun aksine bir tabaka oluşturabilir. Olgun insülinde bulunmayan IGF’lerin C ve D zincirleri iyi tanımlanmış ikincil yapı elemanlarından yoksundur.



**Şekil 1.** IGF-1 ve IGF-2’nin yapısal olarak insüline benzerliği. A zincirler sarı, B zincirler gri, C zincirler mavi, D bölgesi turuncu olarak gösterilmiştir (Harish, 2015).

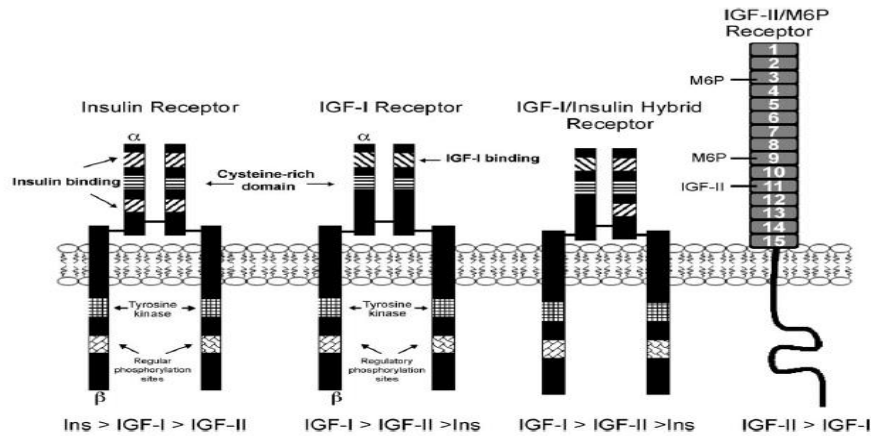
IGF-1’in metabolizma üzerinde mitojenik ve insülin benzeri etkileri; insülin seviyesini düşürmesi ve karbohidrat metabolizmasını düzenlemesidir. IGF-1’in insülin seviyesini düşürme etkinliğinin yanısıra insülin duyarlılığını arttırma etkisi de vardır. Karbohidrat alımı

ile insülin seviyelerinde ani değişimler gözlenir, IGF-1'de böyle bir değişim yoktur. IGF-1'in diğer görevleri; proteoglikan ve kollajen sentezini arttırması, potasyum kanalları aktive etmesi,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  homeostasisında olumlu etki yapması yanı sıra, kalp kası ve diyaframa aminoasit ve glukoz transportunu uyarmasıdır. IGF-2 ise embriyonun gelişmesinde görev sahibidir. Doğumdan sonra dolaşımdaki miktarı azalır (Gederet et al. ,2004). Büyüme hormonu, ön hipofiz bezinde sentezlenir. Büyüme hormonu farklı dokularda büyüme hormonu reseptörlerine bağlanır. Ayrıca büyüme hormonlarının çoğunun diğer bir görevi IGF-1'in karaciğerde üretimini sağlamaktır. Karaciğerde üretilen ve dolaşımda bulunan IGF-1 karaciğerden diğer dokulara taşınır ve endokrin hormon olarak görev yapar. Karaciğer dışında diğer dokularda da üretilen IGF-1'ler parakrin ve otokrin hormon olarak görev yapar (Wang et al.,2006). IGF-1 üretimini sağlayan büyüme hormonu azaldığında IGF-1 üretimi durur.

### İnsülin benzeri büyüme faktörleri reseptörleri

IGF'ler protein yapıdadırlar. Protein yapıları nedeniyle hücre membranından geçmek için reseptörlere ihtiyaç duyarlar. Bu nedenle hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanarak etkin olurlar. IGF'ler, Tip-1 ve Tip-2 IGF reseptörleri olarak adlandırılan, spesifik hücre yüzey reseptörleri ile etkileşime girerler. İnsülin reseptörüne de bağlanabilirler. IGF'lerin fizyolojik fonksiyonlarına, Tip-1 IGF reseptörleri, Tip-2 IGF reseptörleri ve insülin reseptörleri tarafından aracılık edilir (Hawkes ve Kar, 2004)

IGF-1 ve insülin reseptörleri, birbirlerine yapısal olarak çok benzeyen tirozin kinaz reseptör ailesinin üyeleridir. Bir insülin reseptör  $\alpha$ - $\beta$  hemimolekül ve bir IGF-1 reseptör  $\alpha$ - $\beta$  hemimolekül içeren bir moleküler hibrid reseptörünün saptanması IGF sistemine başka bir komplekslik eklemiştir.IGF-2/M6P reseptörü, bir amino terminal sinyal sekansı, geniş bir ekstra sitoplazmik alan, tek bir transmembran bölge ve bir karboksi terminali sitoplazmik kuyruğu da dahil olmak üzere dört yapısal alandan oluşan bir tip I transmembran glikoproteindir. Belirtildiği gibi dört reseptörün her birine IGF-1, IGF-2 ve insülinin bağlanma afinitesi birbirinden farklıdır (Hawkes ve Kar, 2004) (Şekil 2).



Şekil 2. İnsülin, IGF-1, İnsülin/IGF-1 hibrid ve IGF-2 reseptörlerinin yapısı.(Hawkes ve Kar, 2004)

### Tip-1 IGF reseptörleri

Tip-1 IGF reseptörleri; iki transmembran beta ünitesi ve hücre dışında iki alfa ünitesi içerir. Glikopeptid yapıdadır. Tirozin kinaz aktivitesine sahiptir. (LeRoith et al., 1995). Yapı ve fonksiyon olarak insülin reseptörlerine benzeyen Tip-1 IGF-1 reseptörlerinin  $\alpha$  ve  $\beta$  üniteleri disülfid bağları ile birbirine bağlıdır. IGF-1'i, insülin ile kıyaslandığında yüz kat daha fazla affinite ile bağlarlar. IGF-1, IGF-1 reseptörünün  $\alpha$  ünitesine bağlanır. Daha sonra  $\beta$  üniteside

otofosforilasyon olur. Otofosforilasyonun gerçekleşmesi, tirozin kinaz aktivitesinin oluşmasına neden olur. Tirozin kinaz aktivasyonu ile endojen substratlarda olduğu gibi reseptör üzerindeki diğer önemli tirozinlerin fosforilasyonu gerçekleşir (Amoui et al., 2001).

### **Tip-2 IGF reseptörleri**

Tip-2 IGF reseptörlerinin hücre dışında yerleşen uzunlamasına bir konum alan zincirin devamında kısa bir transmembran zinciri vardır. Polipeptid yapıdadır ve tek zincirlidir. Tirozin kinaz aktivitesinden yoksundur. (Hjortebjerg ve Frystyk, 2013). Katyon bağımsız mannoz 6-fosfat reseptörü lizozomal enzim trafiğini düzenler. Tip-2 IGF reseptörü bu reseptör ile çok benzerdir. Bu nedenle IGF mannoz 6-fosfat (M6P) olarak da adlandırılır. Hücre yüzeyinden IGF-2'ye bağlanır böylece IGF-2'yi hücre içine alınmasına aracı olur. Hücre içine alınan IGF-2 lizozomlarda yıkılır (Nissley ve Kiess, 1991)

### **İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler(IGFBP)**

İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler, IGF'lerin bağlayıcı proteinleridir ve dolaşımda birlikte bulunurlar. IGFBP'ler 24 ila 40 kDa arasında değişen boyutlardadırlar. N- ve C- terminalleri yüksek oranda benzerdir ve iç disülfid bağları vardır. IGF bağlanmasında N- ve C- terminal bölgelerinin her ikisinde yüksek duyarlılıkla etkinlik gösterir. IGFBP'ler, IGF'lere Tip-1 IGF reseptörlerinden daha yüksek affinite de bağlanırlar (Shimasaki ve Ling, 1991). Böylece Tip-1 IGF reseptör bağlarını engellerler ve IGF'lerin etkilerini düzenlerler. Dolaşımdaki bağlayıcı proteinlerine bağlı olmayan IGF'lerinin yarı ömrü 30 dakikadır. Dolaşımda IGFBP'ler ile bağlı olanların yarı ömrü ise 12-15 saate kadar uzar. IGF'lerin akut etkilerinin ortaya çıkışını önlerler. Kapiller bariyerlerde transport proteini olarak görev yaparlar (Guler et al.,1989).

İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinlerin iki anahtar özelliği bulunur.

- Sisteince zengin polipeptidlerdir. Pre-peptidlerinde (16-20 sistein) ve primer aminoasit dizilimlerinde yüksek benzerlik gösterirler.Yapısal olarak korunmuş N terminal bölgelerinde IGFBP-1,2,3,4 ve 5'te; 12 sistein, IGFBP-6'da; 10 sistein, C terminal bölgelerinde ise 6'şar sistein toplanmıştır. N ve C terminal bölgeleri aralarından bulunan orta bölgenin küçük benzerlikleriyle ayrılırlar.
- IGF'lere yüksek affinite de bağlanırlar. Bu etkinlikleri, N ve C terminal bölgelerinin IGF'lere yüksek afinite de bağlanabilmeleri için doğru katlanmalarının bir sonucudur. Birkaç farklı proteaz bu proteinleri parçalamaktadır. Proteolitik yıkım bu proteinleri çoğunlukla inaktive eder veya IGF-1 ve IGF-2'ye bağlanma yeteneğini azaltır. Birçok hücre tipinde bu proteazların salgılandığı gözlenmiştir ve bu nedenle proteaz aktivitesinin regülasyonu, IGFBP'lerin aktivitesinin kontrolüne de etki eder (Vivilan et al. ,1999).

IGFBP ailesinin yedi üyesinin tümünün hem N- hem de C-terminalinde yer alan spesifik sekanslar, yüksek affiniteli bir IGF bağlanma bölgesi oluşturmak için çok önemli bölgeleri içerir. Bununla birlikte, bu proteinlerin çok sayıda eylemi açıklayan birden fazla yapısal motifi vardır.Bağlayıcı bölge (linker domain) olarak adlandırılan her bir IGFBP'in orta bölgesi, protein aile üyeleri arasında yapısal değişikliklerin oluşmasını sağlar. Bu bölgede glikozilasyon, proteolitik bölünme ve fosforilasyon bölgeleri bulunmaktadır. IGFBP afinitesini değiştiren bu translasyon sonrası modifikasyonlar IGFBP'lere karşı hücre sel yanıtları da değiştirir (Clemmons, 2016).

7 farklı grupta toplanan IGFBP'ler aşağıda özetlenmiştir. İçlerinden IGFBP-3 klinik olarak T2DM de son zamanlarda daha fazla çalışılmakta ve gelecek vaat etmektedir. IGFBP-3 hakkında daha detaylı bilgi verilmiştir (Haywood et al., 2019).

### **IGFBP-1**

Dolaşımdaki IGFBP-1, karaciğerde sentezlenen 30 kDa'lık bir proteindir. Dolaşımdaki seviyeleri, beslenme tarzına göre akut ve dinamik olarak düzenlenir. İnsülin konsantrasyonlarındaki değişiklikler, IGFBP-1 ekspresyonunun insülin inhibisyonunu sağlayan IGFBP-1 promotör bölgesindeki bir insülin yanıt elemanı yoluyla gerçekleşir. IGFBP-1, bir fosfo-protein olarak salgılanır. Fosforillenmiş IGFBP-1'in, fosforile edilmemiş izoformuna göre IGF-I için daha yüksek bir afiniteye sahiptir ve yüksek düzeyde fosforile edilmiş dolaşımdaki IGFBP-1 seviyeleri, T2DM'de makrovasküler hastalık ve hipertansiyon ile yakından ilişkilidir, oysa daha az fosforile edilmiş IGFBP-1 izoformları glisemik kontrol ile ilişkilidir, bu da T2DM'de IGF etkilerinin düzenlenmesinde IGFBP-1'in ikili bir rolü olduğunu düşündürür. IGFBP-1'in, muhtemelen kendi Arg-Gly-Asp (RGD) dizisinin α5-β1 integrin gibi hücre yüzeyi integrinleri ile bir etkileşimi yoluyla, IGF/IGF reseptörlerinden bağımsız olarak hücre eylemleri düzenleyebileceği düşünülmektedir. IGFBP-1'in çevrilebilir bir insülin sensitizörü ve sekretagog olarak potansiyeli daha fazla değerlendirilmekte ve gerektirmektedir. (Lee et al., 1997; Chahal et al., 2008; Nedic ve Masnikosa., 2008; Heald et al., 2002)

### **IGFBP-2**

IGFBP-2, insan kromozomu 2 üzerindeki IGFBP-2 geni tarafından kodlanan 36 kDa'lık bir proteindir. IGFBP-1'den farklı olarak, IGFBP-2'nin fosfoizoformu ve post-transyonal modifikasyonları hakkında yeterli bilgi yoktur. Ancak IGFBP-1'e benzer şekilde, IGFBP-2'de bir RGD integrin tanıma motifi ve heparin bağlama alanına sahiptir. İnsülin, karaciğerde IGFBP-2 mRNA'nın önemli bir negatif düzenleyicisidir. Plazma IGFBP-2 seviyeleri, insülin direnci ile ilişkilidir ve insülin duyarlılığının bir biyolojik belirteci olarak kullanılabilirler ve erken dönemlerde obezite komplikasyonlarının patogeneğinde önemli bir rol oynayabilir. Ayrıca yetişkinlerde IGFBP-2 konsantrasyonunu metabolik durumla ilişkilendiren kanıtlar vardır. Yapılan araştırmalar IGFBP-2 düzeylerinin T2DM riski ile bir ters ilişkiye sahip olduğunu göstermiştir. Hamilelikte, daha yüksek IGFBP-2 seviyeleri, daha düşük gestasyonel DM geliştirme riski ile ilişkilidir (Böni-Schnetzler et al., 1990; Yau ve Harcourt., 2018; Ahmed et al., 2007; Wheatcroft et al., 2007).

### **IGFBP-3**

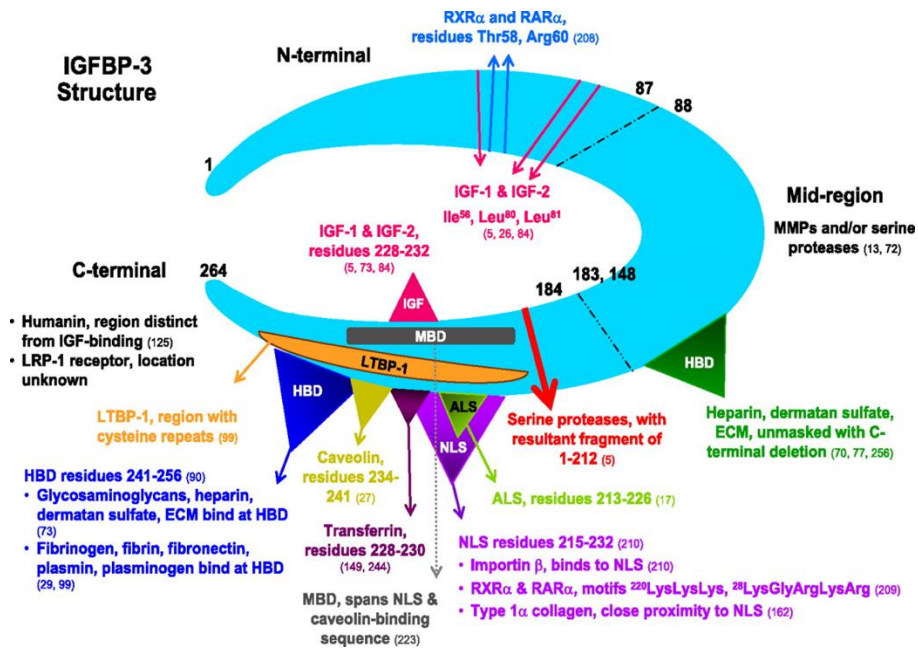
İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3, IGFBP ailesinin diğer üyelerine güçlü bir bağlantıya sahip olan çok işlevsel bir proteindir. (Daza et al.,2011). IGFBP-3'ün molekül ağırlığı, 35 kDa 'dur (Wood et al.,1988). IGFBP-3, tek bir bağlanma yeri için rekabet eden IGF-I ve IGF-II için ana dolaşım taşıma proteindir (Martin ve Baxter, 1986).Yapısında oniki sistein aminosidi ve altı disülfid bağı içerir. Dolaşımdaki IGFBP'lerin % 60'dan fazlası IGFBP-3'tür. IGFBP-3 diğer IGFBP'ler gibi bir çok hücre tipi tarafından salgılanır ve dolaşımda yetişkinlerde 3-5mg/L konsantrasyonlarında bulunur (Friedrich et al., 2014). Ancak diğer bağlayıcı proteinlerin aksine, IGFBP-3 üretimi sadece karaciğer epitel hücreleri değil, aynı zamanda IGF üretiminin birincil bölgeleri olan hepatositlerdir. Bu nedenle IGFBP-3, böbrek, bağırsak, rahim ve plasenta gibi çeşitli diğer dokularda da üretilir. İnsanlarda IGFBP-3 üretiminin başlıca regülatörleri büyüme hormonu ve beslenme faktörleridir.

IGFBP-3 potansiyel bir hücre büyüme inhibitörüdür. Farklı hücre kültürlerinde IGFBP-3'ün IGF ile bağılı olmadığına DNA sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir. (Ranke ve Emeritus, 2015). IGFBP-3'ün, IGF-1 ve IGF-2'nin anabolik ve mitojenik peptidlerini yüksek afinite ile



bağlayıp ve ortak reseptörlerine erişimlerini kısıtlayarak, *in vitro* ve *in vivo* birçok sistemde büyüme önleyici etkisi olduğu çalışılmıştır. (Firth ve Baxter, 2002). İzole IGFBP-3 fragmanlarının IGF-bağlanma afinitesi önemli ölçüde azalmış olmasına rağmen, çeşitli hücre sistemlerinde büyüme-engelleyici aktiviteyi muhafaza ettiği yönünde sonuçlar bulunmaktadır (Lalou et al.,1997).

Ortadaki bağlayıcı bölgede, heparin bağlanma alanları (HBD) bulunur. Başka bir HBD bağlama alanı C- terminal bölgede bulunur. IGF bağlanması, hem N- hem de C- terminallerinde meydana gelir ve Ile56, Leu80, Leu81 içeren N-terminal bölgesi, IGF-1 bağlanması için önemli olan bir hidrofobik cebe katkıda bulunur. Birçok moleküler etkileşim C- terminal dizisinde bulunmaktadır. Örneğin, C- terminalinde 228-232 kalıntıları, ALS, IGF-1 ve heparin bağlanması için gereklidir. C-terminalde 215-232 arasındaki önemli kalıntılarda, nükleer transport faktörü importin- $\beta$  yoluyla çekirdeğe translokasyona neden olan bir nükleer lokalizasyon dizisi (NLS) bulunmaktadır. N-terminalindeki kalıntılar ve C- terminalindeki motifler, nükleer partnerler RXR $\alpha$  ve retinoik asit reseptörü (RAR $\alpha$ ) ile etkileşime girmektedir. NLS'yi ve bir kaveolin bağlanma dizisini kapsayan bir metal bağlama alanı (MBD), C-terminalinde bulunur (Yamada ve Lee, 2009). (Şekil 3)



Şekil 3. İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 yapısı ve bağlama bölgeleri. (Yamada ve Lee, 2009).

Dolaşımdaki IGFBP-3'lerin %90'undan fazlası IGF-1 veya IGFBP-3 ve ALS (acid labile subunit) olarak yüksek moleküler kütleli üçlü bir kompleks halinde bulunur. (Baxter et al., 1989) IGF'ler 150-kDa kompleksler halinde taşınırlar. Bu durum, IGF'lerin plazmada yarılanma ömrünü uzatır ve hedef dokular için bir IGF rezervuarı sağlar. 150kDa'luk üçlü kompleksin oluşumu, dolaşımdaki IGF'lerin dokulardaki biyoaktivitesini belirler. (Rechler, 1993). Blat ve arkadaşları IGFBP-3'ün proteolitik aktivitesini arttırmanın serumdaki IGF-1'leri serbest bıraktığını ve *in vitro*'da yüksek mitojenik aktivitesi belirlemiştir. (Blat et al., 1994). 150 kDa kompleks ile birlikte IGFBP-3'ün sınırlı proteolizinden sorumlu proteaz belirlenememiştir. Matriks metaloproteaz 1 ve 3 'ün ikisi de ve serin proteaz, hamile tavşan serumunda IGFBP-3 proteaz aktivitesine katkıda bulunur, ama IGFBP-3'ün direkt proteolizi veya proteaz aktivitesindeki önemleri henüz net değildir. Katyon bağımlı serin proteaz hamile insan

serumunda IGFBP-3'ün proteolitik aktivitesine plazmi ve thrombin ile birlikte katkıda bulunur (Rechler ve Clemmons, 1998).

IGFBP-3 ile yapılan klinik çalışmalar özetlenirse;

IGFBP-3 proteaz aktivitesi cerrahi, akut tıbbi hastalık ve kronik hastalıklar (HIV enfeksiyonu, çocuklarda protein yoksunluğu ve yetersiz kontrollü diyabet) sırasında artar ve tedavi veya iyileşme sonrasında azalır, bu durum metabolik hastalıklara genel tepkiye katkıda bulunduğu düşünür. (Davenport et al.,1992).

IGFBP-3'ün 29 kDa'lık bir N terminal proteolitik parçası, kronik böbrek yetmezliği olan hastaların serumunda birikir (Durham et al.,1997).

IGF'lere ait olan biyolojik etkinin büyük bir kısmı bir otokrin veya parakrin seviyesinde gerçekleşmesine rağmen, plazmada 150-kDa kompleksinden IGF'lerin salınımı, dolaşımdaki IGF'lerin önemini tartıştırmaktadır.

IGFBP-3, IGF-1 varlığından daha düşük etkileşimde olsa da, IGF-1 yokluğunda *in vitro*'da ALS ile etkileşime girebilir. (Lee ve Rechler ,1995).

150 kDa'luk kompleksin, endotel hücre bariyerini geçememesi, hipoglisemi riski olmadan IGF'lerin yüksek konsantrasyon plazmada bulunmasına olanak verir. Bu homeostatik mekanizmanın bozulması, IGF-II mRNA aşırı üreten ve kısmen işlenmiş olarak salınan mezenkimal tümörler bulunan insülinin yokluğunda hipogliseminin görüldüğü ,non-reseptör hücre tümörü hipoglisemi sendromuna (NICTH) neden olur. (Zapf ,1995).

Hipoglisemideki kritik faktör, hipoglisemi hastalarının plazmalarındaki IGF-II'nin 150-kDa komplekslerinden kılcal bariyeri geçebilecek 50- kDa komplekslerine yeniden dağıtılmasıdır. (Daughaday ve Kapadia,1989).

150-kDa kompleks oluşumunun azaltılması, kısmen IGF-II öncüsü tarafından pituitar büyüme hormonu (GH) sentezinin bastırılmasıyla sonuçlanır ve bu da GH'ye bağımlı ALS'in sentezini azaltır. Yaşlı bir NICHT hastasının GH tedavisi, 150 kDa komplekslerini restore etmiş ve bir yıldan fazla bir sürede hipoglisemi başarılı bir şekilde tersine çevrilmiştir. (Baxter et al.,1995). Twigg ve Baxter'ın çalışmasında belirtildiği üzere diğer IGFBP'ler arasında yalnızca IGFBP-5, ALS ile benzer kompleksler oluşturur. (Twigg ve Baxter,1998).

#### **IGFBP-4**

IGFBP-4, kromozom 17q'da lokalize olan igfbp-4 geni tarafından kodlanan 26 kDa'lık bir proteindir. IGFBP-4, bağlayıcı proteinlerin en "geleneksel"idir, çünkü ana rolünün IGF-I'yi bağlamak ve IGF inhibisyonunu gerçekleştirmek olduğu bulunmuştur. Çok az sayıda çalışma, IGFBP-4'ün IGF'den bağımsız etkilerini göstermiştir. Metalloproteinaz gebelikle ilişkili plazma proteini-A (PAPP-A) tarafından IGFBP-4'ün proteolizi, IGF-1 reseptörünün yakınında IGF-I'nin salınmasıyla IGF-I sinyalini artırır. IGFBP-4, yağ dokusu birikmesi ve artmasında kritik bir rol oynar (Mazerbourg et al., 2004; Gude et al., 2012; Maridas et al., 2018)

#### **IGFBP-5**

IGFBP-5, 2q kromozomu üzerinde igfbp-5 geni tarafından kodlanan 28.6 kDa'lık bir proteindir. IGFBP-5, IGFBP'lerin tüm omurgalılarda bulunan tek formudur. Tip 1 ve tip 2 diyabetli bireylerde IGFBP-5 konsantrasyonları azalır. Diyabetli bireylerde, artan IGFBP-5 düzeylerinin, zayıf yara iyileşmesi ve diyabetik kardiyovasküler hastalıkta profibrotik etkiler gibi diyabetle ilişkili komplikasyonlarla ilişkili olduğu bulunmuştur (Schneider et al., 2002; Gleason et al., 2010; Zhao et al., 2017)



## **IGFBP-6**

IGFBP-6, kromozom 12'deki IGFBP-6 geni tarafından kodlanan 22.8 kDa'lık bir proteindir. IGFBP-6, IGF-II bağlanma özgülüğü nedeniyle IGFBP'ler arasında tek seçimli bağlanan proteindir. IGFBP-6'nın N-terminal ve C-terminal bölgeleri, yüksek afiniteli IGF bağlanmasını sağlar ve C-terminal bölgesi de IGF-II seçimli bağlanmasında aktif rol oynar. Artan IGFBP-6 seviyeleri T1DM ile ilişkilendirilmiştir. Diyabetle ilişkili komplikasyonları olan hastalarda ayrıca herhangi bir komplikasyonu olmayan hastalardan anlamlı olarak daha yüksek serum IGFBP-6 seviyeleri tespit edilmiştir (Bach et al., 1993; Lu et al., 2012; Bienvenu et al., 2005)

## **IGFBP-7**

IGFBP-7, kromozom 4q üzerindeki bir gen tarafından kodlanan 26.4 kDa'lık bir proteindir. en IGFBP-7, diğer insan IGFBP'lerine yüksek benzerlik gösteren bir amino asit dizisine sahiptir IGFBP-7 (resmi olarak mac25 olarak bilinir), IGFBP ailesinin yeni bir üyesi olarak IGF-I ve IGF-II'yi spesifik olarak bağladığını ve bu da onun gerçek bir IGFBP olduğunu gösterir. Serum IGFBP-7 seviyeleri, insülin direnci ve metabolik sendrom riski ve BMI (vücut kütle indeksi) ile ilişkilidir Bu nedenle, IGFBP-7'nin, IGFBP ailesinin en yeni üyesi olması nedeniyle diyabetteki potansiyel rolü hakkında daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. (Ahmed et al., 2003; Gu et al., 2013; López-Bermejo et al., 2006)

## **İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü(IGF) Sistemi ve Diyabet İlişkisi**

İnsülin benzeri büyüme faktörü sistemindeki proteinler ve diyabet ile ilgili birçok çalışma literatürde mevcuttur.

Tip 1 diyabet hastalarında, özellikle çeşitli komplikasyonların varlığında IGF-1 seviyelerinin azaldığı deneysel olarak tespit edilmiştir (Thraillkill, 2000). Bu çalışmada belirtildiği gibi IGF-1 seviyelerinin artması da, diyabetin komplikasyonlarını artırır. IGF-1/2, IGF-1 reseptörü ve IGFBP'ler arasındaki dengenin bozulması, IGF-1 duyarlılığının yükselmesine yol açar. Bu nedenle bu son derece karışık olan sistemin etkilerinin net olarak belirlenmesi çok önemlidir. IGFBP'ler, diyabetik hastalarda glukoz homeostazında çok önemli rol oynamaktadır. Örneğin IGFBP-1 sentezi insüline tepki olarak baskılanır. Bu nedenle normal, prediyabetik ve diyabetik kişilerde insülin sekresyonunun belirtecidir (Jones ve Clemmons, 1995). Diyabetik hastalarda, IGFBP-3 miktarı, sentez hızına, diyabette artan proteoliz derecesine ve IGFBP-3'ün dolaşımdan temizlenmesini yavaşlatan diyabetik nefropati şiddetine bağlıdır (Clemmons et al.,2005). Artan IGFBP-3 proteolizi, insüline bağımlı olmayan diyabet hastalarında rol oynar ve bu IGFBP-3'ün metabolik hastalıkta anahtar bir modülatör olabileceğini gösterir. Tip 1 diyabetlilerde IGFBP-3 seviyelerinde anlamlı azalmalar vardır. Bu değişiklik kısmen IGFBP-3'ün proteolizinin artması nedeniyle oluşur bu da toplam serum bağlama kapasitesinin azalmasını neden olur (Raipathak, 2012). Ayrıca insanlarda yüksek IGFBP-3 konsantrasyonları Tip-2 diyabet gelişme riskinde artışa neden olur (Zandbergen,2006). IGF-1 ve IGFBP-3 kompleksinin Tip-1 diyabet hastalarında insüline gerekliliği azaltıp, insülin duyarlılığını arttırdığı belirtilmiştir (Clemmons et al., 2000). Tedavi edici bir madde olarak rhIGF-I / rhIGFBP-3'ün gelişimi, IGF-I'in etkilerini artırma ve akut insülin benzeri yan etkiler için potansiyelin ortadan kaldırılması ihtiyacına dayanır. Bu kompleksin etkinliği şiddetli yanmış çocuklarda azalmış katabolizma ile (Levetown,2002) ve kalça kırıkları olan yaşlı hastalarda artmış kas-iskelet anabolizması ile gösterilmiştir (Boonen et al., 2002). İnsülin gereksiniminde %49'luk bir azalma, Tip 1 (Clemmons et al.,2000) ve Tip 2 diyabetli erişkinlerde de görülmüştür (Rogol et al.,2002). IGF-I, IGFBP-3 ile birlikte uygulandığında, kandaki üçlü komplekse bağlanan materyalin, vasküler alan içindeki ve ekstravasküler dokular içindeki diğer

bağlayıcı proteinlerle dengeye girdiğini ve böylece IGF-I reseptörlerine bağlandığı ortaya konmuştur (Clemmons et al.,2000). IGFBP-3, 1993'te Okajimana ve arkadaşları tarafından IGF-I'in glikoz düşürücü etkilerinin bir önleyicisi olarak önerilmiştir (Okajimana et al.,1993). Ancak, daha sonra, *in vivo* yapılan herhangi bir çalışma, IGFBP-3 infüzyonundan veya aşırı ekspresyonundan sonra glikoz toleransında zayıflama olduğunu göstermemiştir.(Murphy et al., 1995; Savage et al.,2004). Diyabette glisemik kontrolün iyileştirilmesinde IGF-I / IGFBP-3 etkinliğini belirlemek ve IGF-I'in insülin duyarlılığını arttırdığı mekanizmanın belirlenmesi için uzun vadeli çalışmaların yapılması gerekir. IGF ailesinin ve özellikle IGFBP-3 gibi güçlü ajanlar için en uygun terapötik kullanımların bulunması çalışmaları son derece önemlidir.

## SONUÇ

Diyabette biyoteröpatiklerin kullanımı ilk olarak rekombinant insülin üretimi ve bunun tedavide kullanılmasıyla başlamıştır. Diyabeti etkileyen diğer biyomoleküllerin araştırılmasıyla diyabette biyoteröpatiklerin kullanımı artmıştır. İncretin bazlı tedaviler, glukagon bazlı tedaviler bunlara örnektir. Diyabet hastalığının oluşum mekanizmasında görev alan birçok protein, protein ailesi ve reseptör aileleri mevcuttur. İnsülin benzeri büyüme faktörü ailesi buna örnektir. IGF-1, insülin seviyesini düşürür, karbohidrat metabolizmasını düzenler ve insülin duyarlılığını artırır. IGF'lerin yüksek konsantrasyonlarda plazmada bulunması hipoglisemiye neden olur. Biyolojik sıvıda, IGF'ler, IGFBP'lere bağlanmış halde bulunur. IGFBP-3, IGF-I ve IGF-II için ana dolaşım taşıma proteinidir. IGF 'lerin etkilerini düzenlerler, akut etkilerinin ortaya çıkışını engellerler. Birkaç farklı proteaz bu proteinleri parçalamaktadır. Proteolitik yıkım bu proteinleri inaktive eder veya IGF-1 ve IGF-2'ye bağlanma yeteneğini azaltır. Dolaşımdaki IGFBP-3'lerin çoğu proteolitik kısıtlanmasını sağlayan IGF-1 veya IGFBP-3 ve ALS (acid labile subunit) olarak yüksek moleküler kütleli üçlü bir kompleks halinde bulunur. Diyabette glisemik kontrolün iyileştirilmesinde IGF-I / IGFBP-3 etkinliğini belirleme çalışmaları devam etmektedir. IGF ailesinin ve özellikle IGFBP-3 gibi güçlü ajanlar için en uygun terapötik kullanımların bulunması çalışmaları son derece önemlidir. Bu derlemede tüm IGFBP'ler hakkında bilgi verilmiş ve klinik önemi ve biyoterapotik potansiyeli yüksek olan IGFBP-3 için yapılan çalışmalar özetlenmiştir.

## TEŞEKKÜRLER

Bu çalışmadaki katkılarından dolayı Doç.Dr.Serap Evran, Dr. Öğr. Gör. Canan Özyurt'a ve Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (16-FBE-015 ) teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- Ahmed, R.L., Thomas, W., Schmitz, K.H. (2007). Interactions between insulin, body fat, and insulin-like growth factor axis proteins. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 16, 593-597.
- Ahmed, S., Yamamoto, K., Sato, Y., Ogawa, T., Herrmann, A., Higashi, S., et al. (2003). Proteolytic processing of IGFBP-related protein-1 (TAF/angio- modulin/mac25) modulates its biological activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 310, 612-618.
- Amoui, M., Craddock, B.P., Miller, W.T. (2001). Differential phosphorylation of IRS-1 by insulin and insulin-like growth factor I receptors in Chinese hamster ovary cells. *Journal of Endocrinology*, 171,153–162.
- Bach, L.A., Hsieh, S., Sakano, K., Fujiwara, H., Perdue, J.F., Rechler, M.M. (1993). Binding of mutants of human insulin-like growth factor II to insulin-like growth factor binding proteins 1-6. *Journal of Biological Chemistry*, 268, 9246-9254.
- Baxter, R.C., Holman, S.R., Corbould, A. (1995).Regulation of the insulin-like growth factors and their binding proteins by glucocorticoid and growth hormone in nonislet cell tumor hypoglycemia. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 80, 2700–2708.
- Baxter, R.C., Martin, J.L., Beniac, V.A. (1989). High molecular weight insulin-like growth factor binding protein complex. Purification and properties of the acid-labile subunit from human serum. *Journal of Biological Chemistry*, 264, 11843-11848.7
- Bienvenu, G., Seurin, D., Le Bouc, Y., Even, P., Babajko, S., Magnan, C. (2005). Dysregulation of energy homeostasis in mice overexpressing insulin-like growth factor-binding protein 6 in the brain. *Diabetologia* ,48 ,1189e1197.
- Blat, C., Villaudy, J., Binoux, M. (1994). In vivo proteolysis of serum insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 results in increased availability of IGF to target cells. *Journal of Clinical Investigation*, 93, 2286–2290.
- Böni-Schnetzler, M., Schmid, C., Mary, J.L., Zimmerli, B., Meier, P., Zapf, J., et al.(1990). Insulin regulates the expression of the insulin-like growth factor binding protein 2 mRNA in rat hepatocytes. *Molecular Endocrinology*, 4, 1320-1326
- Boonen, S., Rosen, C., Bouillon, R. (2002). Muskuloskeletal effects of the recombinant human IGF-I/IGF binding protein-3 complex in osteoporotic patients with proximal femoral fracture, a double blind, placebo-controlled pilot study. *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 87, 1593–1599.
- Chahal, J., Chen, C.-C., Rane, M.J., Moore, J., Barati, M., Song, Y., et al. (2008). Regulation of insulin-response element binding protein-1 in obesity and diabetes, potential role in impaired insulin-induced gene transcription. *Endocrinology*, 149, 4829- 4836.
- Clemmons, D.R. (2016). Role of IGF Binding Proteins in Regulating Metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 27, 375-391.

- Clemmons, D.R., Moses, A.C., McKay, M.J., Sommer, A., Rosen, D.M., Ruckle, J. (2000). The Combination of Insulin-Like Growth Factor I and Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein-3 Reduces Insulin Requirements in Insulin-Dependent Type 1 Diabetes, Evidence for in Vivo Biological Activity. *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 85, 1518-1524.
- Daughaday, W.H., Kapadia, M. (1989). Significance of abnormal serum binding of insulin-like growth factor II in the development of hypoglycemia in patients with non-islet-cell tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86, 778–6782.
- Davenport, M.L., Isley, W.L., Pucilowska, J.B. (1992). Insulin-like growth factor-binding protein-3 proteolysis is induced after elective surgery. *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 75, 590–595.
- Daza, D.O., Sundstrom, G., Bergqvist, C.A., Duan, C., Larhammar, D. (2011). Evolution of the insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) family. *Endocrinology*, 152, 2278–2289.
- Durham, S.K., Mohan, S., Liu, F. (1997). Bioactivity of a 29-kilodalton insulin-like growth factor binding protein-3 fragment present in excess in chronic renal failure serum. *Pediatric Research*, 42, 335–341.
- Firth, S.M., Baxter, R.C. (2002). Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins. *Endocrine Reviews*, 23, 824–854.
- Friedrich, N et al. (2014). Age- and sex-specific reference intervals across life span for insulin-like growth factor binding protein 3 (IGFBP-3) and the IGF-I to IGFBP-3 ratio measured by new automated chemiluminescence assays. *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 99, 1675–1686.
- Gederet, Y.T., Öztürk, B., Karagözoğlu, E., Gök, M., Tiftik, A.M. (2004). Malign-Nonmalign plevral efüzyon ayırıcı tanısında IGF ve IGFBP'lerin rolü. *Genel Tıp Dergisi*, 14, 139-143.
- Gleason, C.E., Ning, Y., Cominski, T.P., Kaestner, K.H., Pintar, J.E., Birnbaum, M.J. (2010). Role of insulin-like growth factor-binding protein 5 (IGFBP5) in organismal and pancreatic beta-cell growth. *Molecular Endocrinology*, 24, 178-192.
- Gu, H.F., Gu, T., Hilding, A., Zhu, Z., Kärvestedt, L., Östenson, C., et al. (2013). Evaluation of IGFBP-7 DNA methylation changes and serum protein variation in Swedish subjects with and without type 2 diabetes. *Clinical Epigenetics*, 5, 1-7.
- Gude, M.F., Frystyk, J., Flyvbjerg, A., Bruun, J.M., Richelsen, B., Pedersen, S.B. (2012). The production and regulation of IGF and IGFBPs in human adipose tissue cultures. *Growth Hormone and IGF Research*, 22, 200-205
- Guler, H.P., Zapf, J., Schmid, C. (1989). Insulin-like growth factors I and II in healthy man, Estimations of half-lives and production rates. *Acta Endocrinologica*, 121, 53–758.

- Harish, V. (2015). Theoretical and Computational Studies of Peptides and Receptors of the Insulin Family. *Membranes*, 5, 48-83.
- Haywood, N.J., Slater, T.A., Matthews, C.J., B, Stephen, W.B. (2019). The insulin like growth factor and binding protein family, Novel therapeutic targets in obesity & diabetes. *Molecular Metabolism*, 19, 86-96.
- Hawkes, C., ve Kar S. (2004). The insulin-like growth factor-II/mannose-6-phosphate receptor, structure, distribution and function in the central nervous system. *Brain Research Reviews*, 44, 117– 140.
- Heald, A.H., Siddals, K.W., Fraser, W., Taylor, W., Kaushal, K., Morris, J., et al. (2002). Low circulating levels of insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1) are closely associated with the presence of macro- vascular disease and hypertension in type 2 diabetes. *Diabetes*, 51, 2629-2636.
- Hjortebjerg, R., & Frystyk, J. (2013). Determination of IGFs and their binding proteins. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 27, 771–78.
- Jones, J.I., & Clemmons, D.R. (1995) Insulin-like growth factors and their binding proteins, biological actions. *Endocrine Research*, 16, 3–34.
- Lalou, C., Sawamura, S., Segovia, B., Ogawa, Y., Binoux, M. (1997). Proteolytic fragments of insulin-like growth factor binding protein-3, N-terminal sequences and relationships between structure and biological activity. *Comptes Rendus de l'Academie Sciences III*, 320, 621–628.
- Lee, C.Y., & Rechler, M.M. (1995). A major portion of the 150-kilodalton insulin-like growth factor-binding protein (IGFBP) complex in adult rat serum contains unoccupied, proteolytically nicked IGFBP-3 that binds IGF-II preferentially. *Endocrinology*, 136, 668–678.
- Lee, P.D., Giudice, L.C., Conover, C.A.P.D. (1997). Insulin-like growth factor binding protein-1, recent findings and new directions. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 216, 319-357.
- LeRoith, D., Werner, H., Beitner-Johnson, D. (1995) Molecular and cellular aspects of the insulin-like growth factor I receptor. *Endocrine Reviews*, 16, 143-146.
- Levetown, M. (2002). Modulation of types I and II acute phase reactants with insulin-like growth factor-I/binding protein 3 complex in severely burned children. *Critical Care Medicine*, 30, 255–257.
- López-Bermejo, A., Khosravi, J., Fernández-Real, J.M., Hwa, V., Pratt, K.L., Casamitjana, R., et al. (2006). Insulin resistance is associated with increased serum concentration of IGF-binding protein-related protein 1 (IGFBP-rP1/ MAC25). *Diabetes*, 55, 2333- 2339.



- Lu, S., Purohit, S., Sharma, A., et al. (2012). Serum insulin-like growth factor binding protein 6 (IGFBP6) is increased in patients with type 1 diabetes and its complications. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 5, 229-237.
- Maridas, D.E., Demambro, V.E., Le, P.T., Mohan, S., Rosen, C.J. (2018). IGFBP4 is required for adipogenesis and influences the distribution of adipose depots. *Endocrine Reviews*, 158, 3488-3500.
- Martin, J.L., & Baxter, R.C. (1986). Insulin-like growth factor-binding protein from human plasma, Purification and characterization. *Journal of Biological Chemistry*, 261, 8754–8760.
- Mazerbourg, S., Callebaut, I., Zapf, J., Mohan, S., Overgaard, M., Monget, P. (2004). Up date on IGFBP-4, regulation of IGFBP-4 levels and functions, in vitro and in vivo. *Growth Hormone and IGF Research*, 14, 71-84.
- Murphy, L.J., Molnar, P., Lu, X., Huang, H. (1995). Expression of human insulin-like growth factor-binding protein-3 in transgenic mice. *Journal of Molecular Endocrinology*. 15, 293–303.
- Nedic, O., & Masnikosa, R. (2008). The change in the circulating insulin-like growth factor binding protein 1 isoform pattern during the course of oral glucose tolerance test. *Metabolism* 57,658-661.
- Nissley, P., & Kiess, W. (1991). Reciprocal modulation of binding of lysosomal enzymes and insulin-like growth factor-II (IGF-II) to the mannose 6-phosphate/IGF-II receptor. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 293, 311-324.
- Okajimina, T., Iwashita, M., Takeda, Y. (1993). Inhibitory effects insulin-like growth factor binding proteins 1 and 3 on IGF activated glucose consumption in mouse Balb/c3T3 fibroblasts. *Journal of Endocrinology*, 133, 457– 470.
- Raipathak, S.N. (2012). Insulin-like growth factor axis and risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes*, 61, 2248–2254
- Ranke, MB. Emeritus. (2015). Insulin-like growth factor binding-protein-3 (IGFBP-3). *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 29, 701-711.
- Rechler, M.M. (1993). Insulin-like Growth Factor Binding Proteins. *Vitamins & Hormones*, 47, 1-114.
- Rechler, M.M., & Clemmons, D.R. (1998). Regulatory Actions of Insulin-like Growth Factor-binding Proteins. *Technology, Education, Management, Informatics Journal*, 9, 176-183.
- Rinderknecht, E., & Humbel, R.E. (1978a). Primary structure of human insulin-like growth factor II., *FEBS Letters*, 89, 283-286.
- Rinderknecht, E., & Humbel, R.E. (1978b). The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *Journal of Biological Chemistry*. 253, 2769-2776.

- Rogol, A.D., Jacobson, W., Smith A. A. (2002). The double-blind, randomized, placebo-controlled, study to determine the dose response profile of rhIGF-I/rhIGFBP-3 in subjects with Type 2 Diabetes Mellitus requiring insulin therapy. *Poster American Diabetes Association*. 61.
- Salmon, W.D., & Daughaday W.H. (1957). A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 49, 825-836
- Savage, M.O., Camacho-Hübner, C., Dunger, D.B. (2004). Therapeutic applications of the insulin-like growth factors. *Growth Hormone & IGF Research*, 14, 301–308.
- Schneider, M.R., Wolf, E., Hoeflich, A., Lahm, H. (2002). IGF-binding protein- 5, flexible player in the IGF system and effector on its own. *Journal of Endocrinology*, 172, 423-440.
- Shimasaki, S., & Ling , N., (1991). Identification and molecular characterization of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP-1,-2, -3, -4, -5 and -6). *Progress in Growth Factor Research*, 3, 243-266.
- Thraillkill, K.M. (2000). Insulin-like growth factor-I in diabetes mellitus, its physiology, metabolic effects, and potential clinical utility. *Diabetes Technology & Therapeutics*, 2, 69–80.
- Twigg, S.M., & Baxter, R.C. (1998). Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein 5 forms an alternative ternary complex with IGFs and the acid-labile subunit. *Journal of Biological Chemistry*, 273, 6074–6079.
- Vivilan, H., Youngman, O.H., Rosenfeld, R.G. (1999). The Insulin-Like Growth Factor-Binding Protein(IGFBP) Superfamily. *The Endocrine Society*. 20, 761–787.
- Wang, Y., Nishida, S., Sakata, T., Elalieh, H.Z., Chang, W., Halloran, B.P., Doty, S.B., Bikle, D.D. (2006). Insulin-Like Growth Factor-I Is Essential for Embryonic Bone Development. *The Endocrine Society*, 47, 4753–476.
- Wheatcroft, S.B., Kearney, M.T., Shah, A.M., Ezzat, V.A., JR Miell, M., Modò, et al. (2007). IGF-binding protein-2 protects against the development of obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 56, 285-294.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H. 2004. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 27,1047-1053.
- Wood, WI et al. (1988). Cloning and expression of the growth hormone-dependent insulin-like growth factor-binding protein. *Molecular Endocrinology*, 2, 1176–1185.
- Yamada PM, Lee K. (2009). Perspectives in mammalian IGFBP-3 biology, local vs. systemic action. *American Journal Physiology- Cell Physiology*, 296, 954–976.

- Yau, S.W., Harcourt, B.E. (2018). Serum IGFBP-2 levels are associated with reduced insulin sensitivity in obese children. *Clinical Obesity*, 8,184-190.
- Zandbergen, A.A. (2006). The IGF-I system and the renal and hemodynamic effects of losartan in normotensive patients with type 2 diabetes mellitus, a randomized clinical trial. *Clinical Endocrinology*, 64, 203–208.
- Zapf, J. (1995). Insulin like growth factor binding proteins and tumor hypoglycemia. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 6, 37–42.
- Zhao, D., Shen, L., Wei, Y., Xie, J., Chen, S., Liang, Y., et al. (2017). Identification of candidate biomarkers for the prediction of gestational diabetes mellitus in the early stages of pregnancy using iTRAQ quantitative proteomics. *Proteomics Clinical Applications*, 7-8.