

DERLEME / REVIEW

Endoplasmik Retikulum Stresine Cevap Yolakları ve Tip 2 Diyabet Patogenezinde Endoplasmik Retikulum Stres Aracılı Beta Hücre Apoptosisinin Rolü

Cellular Pathways In Endoplasmic Reticulum Stress And The Role Of Beta Cell Apoptosis Induced By Endoplasmic Reticulum Stress In The Pathogenesis Of Type II Diabetes

Sefa ÇELİK¹, Serkan ŞEN², Ömer HAZMAN³

¹Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya A.D., Afyonkarahisar.

²Afyon Kocatepe Üniversitesi, Atatürk Sağlık Hizmetleri MYO, Afyonkarahisar

³Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Afyonkarahisar

Geliş Tarihi / Received: 12.12.2012

Kabul Tarihi / Accepted: 06.08.2013

ÖZET

Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) hastalarındaki beta hücre kayıplarının temel nedeninin apoptosis olduğu düşünülmektedir. Apoptosisin önemi; çeşitli biyolojik olaylarda gereksiz, zararlı ya da zararlı hücrelerin inflamatuvar yanıt olmaksızın yok edilmesini sağlamasından ve organizmanın iç dengesinin devamlılığına katkıda bulunmasından ileri gelmektedir. β hücreleri yoğun olarak insülin sentezlemesi ve salgılaması nedeniyle sıklıkla ER stresine maruz kalmaktadır. Son yıllardaki çalışmalarda β hücrelerinde Endoplazmik Retikulum (ER)'un apoptotik ölüm sinyallerinin iletilmesinde önemli bir organel olduğu gösterilmiştir. β -hücrelerinde ER stresi aracılı apoptosis üzerine yapılacak çalışmalar diyabet patogenezinde yeni mekanizmaların aydınlatılmasına ve tedavi hedeflerinin iyi belirlenmesine ışık tutacaktır.

Anahtar Kelimeler: Tip 2 Diyabet; Endoplastik retikulum stresi; Apoptosis

ABSTRACT

It was assumed that apoptosis is the main factor in beta cell deaths in type II diabetes. Apoptosis is important owing to eradicate the damaged or harmful cells without inflammation in various biological facts. This process is also important for homeostasis of organism. B cells are often exposed to ER stress due to excess insulin secretion. In recent years, it was showed that endoplasmic reticulum was an important organelle in apoptotic signal conduction. Investigations including apoptosis induced ER stress will supply new approaches in to clarify the new mechanisms in diabetic pathogenesis and new treatment strategies in diabetes.

Key words: Tip 2 Diabetes; Endoplasmic reticulum stress; Apoptosis

1. GİRİŞ

Diabetes mellitus; insülin üretim veya aktivitesindeki yetersizlikten doğan kan glukoz seviyesinin yüksek olmasıyla karakterize, metabolik bir hastalıktır. Diyabetin tip1 ve tip2 olmak üzere iki ana formu bulunmaktadır. Her iki tipte progresif pankreatik beta hücre kayıplarıyla karakterizedir (1).

Organizmada bulunan dokularda proliferasyon ve neogenez ile apoptosis genelde denge halindedir. Bu dengenin apoptosis yönünde bozulması veya nekroza kayması, diyabet hastalarındaki beta hücre kayıplarında olduğu gibi doku hasarlarına neden olabilmektedir. Özellikle Tip2 Diabetes Mellitus (T2DM) hastalarındaki beta hücre kayıplarının temel nedeninin apoptosis olduğuna inanılmaktadır. Bunun en güzel göstergesinin T2DM hastalarındaki beta hücrelerinde, apoptotik mediatörler olan kaspaz-3 ve kaspaz-8'in aktivitelerinin yükselmesi olduğu ifade edilmektedir. Fakat T2DM'la karakterize insülin sekresyonundaki değişikliklerde, beta hücre kayıplarının tahmin edilen sonuçları yeterince açıklanamamaktadır (2).

2. Apoptosis (Programlı Hücre Ölümü)

Programlı hücre ölümü (apoptosis) hücrelerin genetik olarak belleklerinde var olan intihar programının çeşitli sinyallerle, patofizyolojik koşullarla ve oksidatif stres gibi olaylarla aktive olmasıyla başlamaktadır. Apoptosis mekanizmasında üç temel grup molekül rol alır. Bunlar: Ölüm reseptörleri, adaptör proteinler ve proteolitik enzimlerdir (kaspazlar).

Ölüm reseptörleri; TNF (Tumour Necrosis Factor) reseptör gen ailesine aittir. Bu reseptör polipeptidlerin sitoplazmik bölümleri, ölüm alanı (Death Domain) adı verilen bir aminoasit dizisini içerir ve adaptör proteinlere bağlanırlar (3). Bilinen altı tane ölüm reseptörü, CD95 (APO-1/Fas), TRAIL (TNFRelated Apoptosis-Inducing Ligand)-R1, TRAILR2, TNF-R1, DR3 ve DR6'dır. Adaptör proteinler, reseptörle gelen sinyal sonucunda kaspazlara bağlanıp onları aktive ederler. Bu reseptörlerin en çok bilinenleri TNF reseptörü-1 (TNFR1) ve Fas (CD95) karaciğerde

bol miktarda bulunur. Fas'ın etkisiyle kaspaz dizisi (kaskadı) aktive olur ve kaspazla aktive olan DNaz (caspaseactivated DNase; CAD) aracılığı ile DNA yıkımına neden olunur (3).

Apoptosis birçok fizyolojik ve patolojik olayda etkin rol oynamaktadır. Fizyolojik olayların başında hücre yapım-yıkımı gelir. Deri, barsak epiteli, kan hücreleri gibi hücre yapım-yıkımının hızlı olduğu dokularda yaşanan hücreler apoptosisle ortadan kaldırılarak yeni hücrelere yer açılır. Patolojik olarak sayabileceğimiz olaylarda ise; tümörlerde hem regresyon hem de büyüme aşamasında rol oynar. Yine hormona bağımlı olarak dokularda patolojik atrofi sırasında; örneğin kastrasyondan sonra prostat atrofisi ya da glukokortikoid kullanımından sonra timusta lenfosit kaybı apoptosis yoluyla olur. Pankreas, tükürük bezi, böbrek tubulusları gibi parankimatöz organlarda duktus tıkanmasından sonra patolojik atrofide gözlenir. Yine kanserde apoptosis mekanizmasının yeri ve önemi büyüktür ve kanser tedavi planlarında bir numaralı araştırma alanı apoptotik süreç mekanizması oluşturmaktadır. Bu nedenle apoptosis mekanizması tam olarak anlaşıldığında bu sayılan hastalıkların tedavisi de mümkün olabilecektir (4, 5).

Apoptosisin önemi; çeşitli biyolojik olaylarda gereksiz, hasarlı ya da zararlı hücrelerin inflamatuvar yanıt olmaksızın yok edilmesini sağlamasından ve organizmanın iç dengesinin devamlılığına katkıda bulunmasından ileri gelmektedir. Canlı doku ortamında hücrelerin tek tek iz bırakmaksızın silindiği fizyolojik bir ölüm şekli olan apoptosis ilgi çekici olduğu kadar insanlardaki önemli patolojilerin tedavisi açısından da umut verici bir mekanizmadır (6). Son yıllardaki çalışmalar β hücrelerinde Endoplazmik Retikulum (ER)'un apoptotik ölüm sinyallerinin iletilmesinde önemli bir organel olduğunu göstermiştir.

2.1. Diyabet Patogenezinde Beta Hücre Apoptosisinin Rolü

Pankreatik beta hücreleri insülin sekresyonu ile ilişkili glukoz homeostazisinde çok önemli bir role sahiptirler. Beta hücrelerinin hem sayısal hem de hacimsel olarak değişimleri dinamik

olarak değişik fizyolojik ve patolojik koşulların etkisi altındadır (7). Fizyolojik şartlarda yaşam boyunca düşük düzeyde beta hücre ölümleri ile proliferasyonu arasında bir denge mevcuttur. Ancak, beta hücrelerinin aşırı kaybının diyabete ve hem tip 1 hem de tip 2 diyabetin ortak özelliği olan beta hücre disfonksiyonuna neden olduğu kabul edilir (8, 9). Tip 1 diyabette, beta hücreleri otoimmün ve yangısal proseslerle seçici olarak yok edilirler ve bu durum insülin yetersizliği ve hiperglisemi ile sonuçlanır. Tip 2 diyabette hastalığın ilerlemesinde esas etkili olan faktör, sıklıkla şişmanlık ve fiziksel aktivite azlığı ile ilişkili olan insülin direncidir. Fakat bu durum, sadece beta hücrelerinin artan insülin ihtiyacını karşılayamamaları sonucu oluşur. Her iki durumda da, beta hücre ölümlerinin esas yolu apoptosis olarak ifade edilmektedir. Beta hücrelerinde gelişen apoptosis, ölüm reseptörlerinin aktivasyonu, membran geçiş özelliği olan değişik maddeler, büyüme faktörlerinin yetersizliği, metabolik ve sinyal yollarındaki aksaklıklar gibi değişik uyarılara bağlı olarak ortaya çıkar (**Tablo 1**). Ölüm reseptörlerinin bağlanması ve DNA hasarı apoptosisin başlatıcıları olarak kabul edilirler ve mitokondrial membran permabilitesini ve kaspazların aktivasyonunu indüklerler. Son çalışmalar, endoplazmik retikulumun (ER) stres aracılı apoptosise duyarlı bir organel olduğunu ve apoptotik sinyalleri iletebildiğini göstermektedir (1).

Tablo 1. Beta hücre apoptosiste potansiyel uyarıcılar.

Ölüm reseptörleri

- Fas ligand/Fas reseptör (8)
- Perforin (8)
- Sitokinler (IL-1 β , IFN- γ , TNF- α) (8,9)

Membranı geçebilen aracı moleküller

- Reaktif oksijen türleri (hidrojen peroksit, hidroksil radikali) (10)
- Reaktif azot türleri (nitrik oksit, peroksi nitrit) (11)
- Alkilleştirici ajanlar (streptozotosin, MMS) (12,13)
- Seramid (14)

Yetersiz büyüme faktörleri

- IGF-1 (15, 16)
- EGF (17)
- FGF (18)

Metabolik ve sinyal yollarında yetersizlik

- Artış
 - Glukoz (19)
 - Serbest yağ asitleri (14)
 - Amilin (20)
 - Kalsiyum (11, 21)
- Azalış
 - Hücre döngüsü düzenleyicisi (siklin bağımlı kinaz 4) (22)
 - Transkripsiyon faktörü (BETA/ NeuroD, HNF-1 α) (23, 24)
 - Mitokondri fonksiyonu (mitokondrial transkripsiyon faktörü A) (25)
 - ER stres değiştirici (PERK) (26)

2006 yılında diyabet hastaları için risk faktörü olarak ifade edilen ve insan genomundaki yeri araştırılan transkripsiyon faktörü TCF7L2 (transcription faktor 7-like 2) keşfedilmiştir. Bu transkripsiyon faktörünün proliferasyon, hücre korunması ve insülin sekresyonunu içeren β hücre fonksiyonlarını düzenleyen ve endokrin pankreasın etkilerini geliştiren Wnt sinyal ağının en önemli üyesi olabileceği ifade edilmektedir. TCF7L2, "canonncal pathway" şeklinde bilinen Wnt/ β -katenin yolunu kullanarak, cyclin D ve c-myc genleri gibi Wnt sinyallerine cevap verecek genleri uyararak hücre poliferasyonunu artırmakta, insülin sekresyonunun kontrolünü sağlamaktadır (27, 28).

TCF7L2'nin iskelet kasları dışında beta hücreleri de dahil olmak üzere birçok dokuda üretilmekte olduğu ve obez diyabet hastalarında sekresyonunun azaldığı ifade edilmektedir. Yine aynı çalışmada beta hücrelerinde aktif TCF7L2 düzeylerinin değişiminin diyabetin ilerlemesine ve defektif insülin sekresyonuna neden olabileceğine değinilmektedir (29).

TCF7L2 faktörü, glukoz homeostasisine pro-

glukagonun gen ekspresyonu üzerinden, ince barsağın L hücrelerinde ilgili genleri kodlayarak ve GLP-1 sentezini sağlayarak etki etmektedir (29).

TCF7L2, beta hücrelerini glukozun ve stokinlerin neden olduğu toksisiteye karşı korumakta, bununla birlikte kaspaz 3 aktivitesini düşürerek apoptosis derecesini azaltmaktadır. Bu etkilerinin bir kısmını, Glukagon Like Peptid-1 (GLP-1) aracılığıyla aktifleşen Protein Kinaz A (PKA) 'nın β -katenini uyarmasına bağlı olarak transkripsiyon faktörü FoxO1 aracılığı ile gerçekleştirdiği ve böylelikle beta hücrelerini koruyarak poliferasyonu sağladığı bildirilmektedir (27).

3. Endoplasmik Reticulum (ER) Stresi

3.1. ER Stresine Cevap Yolları

1) ER Stresinde Şaperon proteinlerin transkripsiyonel düzeyde uyarılması

ER'da protein katlanmaları, Bip/GRP78 ve GRP94 gibi ER şaperon proteinleri ve protein disülfid izomeraz (PDI) ile peptidil-prolil izomeraz gibi enzimler tarafından kolaylaştırılır. Bu proteinler ER stresi ile uyarılırlar ve bu uyarılma transkripsiyonel düzeyde kontrol edilir. ER stresi koşullarında, hücreler ER'dan çekirdeğe doğru, katlanmamış protein cevabı (UPR) olarak bilinen hücre içi sinyal yolunu aktive ederler. UPR'nin hedef genleri promoter bölgelerinde ortak bir bölgeyi paylaşırlar ki bu bölge ER stres cevap elementi (ERSE) veya katlanmamış protein cevap elementi (UPRE) olarak bilinir. Son zamanlarda, ATF6 (30) ve XBP-1'in (31) memeli hücre UPR'si için transkripsiyon faktörleri oldukları rapor edilmektedir. ATF6, ER'da lokalize olmuş tip II transmembran protein (p90ATF6) olarak sentez edilir ve ER stres aracılı proteolizis ile aktive olur (32). ER stresi, ATF6'nın ER'dan golgiye taşınmasını uyarır (33) ki; golgide ATF6 iki aşamalı bir işleme maruz kalır. İlk önce ATF-6'nın ER-lümeni kısmı bölge-1 proteazla (S1P) ve sonra da transmembran kısmı bölge-2 proteazla etkileşime girer. Bağlanan N-terminal sitoplazmik uç (p50ATF6) çekirdeğe transport edilir ve orada NF-Y ile birlikte ERSE'ye bağlanır; sonuçta UPR hedef genleri uyarılır. XBP-1 ERSE'ye bağlanır. XBP-1 mRNA'sı ER

stresine cevap olarak uç uca bağlanır ve bu UPR hedef genlerinin uyarılmasında yüksek transkripsiyonel aktiviteye sahiptir. XBP-1 mRNA'sının bağlanması IRE1 aktivasyonuna ihtiyaç duyar. IRE1 ER'da lokalize olan tip I transmembran endonükleazdır. Stresiz koşullarda, ER şaperon Bip IREa'nın ER lümeni bölgesine (domain) bağlanır ve bu proteini inaktif formda tutar. ER stresi varlığında ise, Bip katlanmamış proteinlere bağlanır ve böylece yarışmalı olarak IREa'dan ayrılır, bu da oligomerizasyon ve trans-otofosforilasyonla IREa'nın aktive olmasına neden olur (34). XBP-1 mRNA'sı ER stresi sonucu ATF-6 aktivasyonu ile uyarılır. Ters olarak, ATF6 mRNA'sı ER stresi ile uyarılmaz. Bu nedenle, ER stresinin düşük düzeyde ve erken döneminde ATF6'nın; oysaki şiddetli ve geç fazında hem ATF6'nın hem de XBP-1'in aktive olduğu söylenebilir (31).

2) ER stresinin tranlasyonel düzeyde zayıflatılması

ER'da, yeni sentezlenen proteinlerin katlanması bozulunca mRNA translasyonu zayıflatılır ve katlanmamış proteinlerin daha ileri düzeyde üretimi baskılanır. Bu olay, eIF2 α 'nın fosforilasyonu ile henüz translasyon aşamasının başlangıcında meydana gelir. EIF2 α faktörü başlatıcı Met-tRNA'nın ribozoma bağlanmasına aracılık eder. EIF2 α 'nın alfa alt ünitesinin Ser51 pozisyonunda fosforilasyonu bu aşamayı bloke eder ve protein sentezi inhibe olur. Pankreatik endoplazmik retikulum eIF2 kinaz (PERK), ER stresi sırasında bu fosforilasyondan sorumlu olan kinazdır (35). PERK ER'de lokalize olmuş, tip I transmembran serin/threonin kinazdır. IRE1 α gibi, PERK'in aktivasyonu da Bip'in ER lümeni domaininden ayrılması ile tetiklenir ve bu oligomerizasyona ve trans-otofosforilasyona öncülük eder (34). IRE1 ve PERK'in lümen domainleri zayıf bir homoloji (yaklaşık %20 benzerlik) gösterirler; buna rağmen ER stresine duyarlılıkta fonksiyonel olarak değişiklik gösterebildikleri rapor edilmiştir (34). PERK, translasyonel zayıflatmada esas etkili olan düzenleyicidir ki bu olay ER stresi sırasında hücrenin hayati devamlılığı için esansiyeldir. PERK sinyal mekanizmasının sonlandırılması PERK-Bip kompleksinin oluşumu ve eIF2 α 'nın

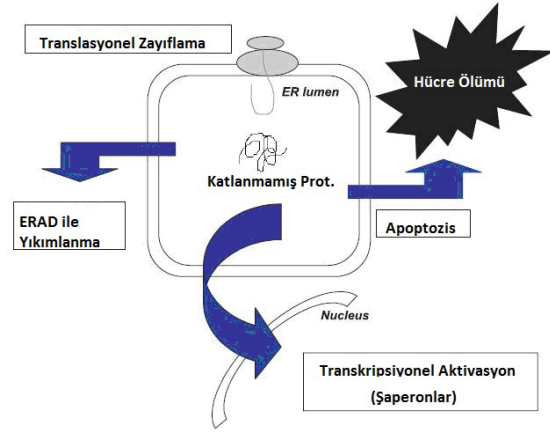
GADD34 ile defosforilasyonu sonucu gerçekleşir (36). GADD34, ER stresi sonrası gelişen translasyonel baskılanmadan geri dönüşü teşvik eden negatif feed back döngüsü olarak rol oynayabilmektedir. Memeli hücrelerinde bilinen 2 önemli IRE1 proteini IRE1 α ve IRE1 β 'dir ve her ikisi de ER stres-sinyal iletim yollarında rol alırlar. Bundan başka IRE1 β 'nin 28s rRNA'yı bağlayarak protein sentezini baskıladığı da rapor edilmektedir (37). IRE1 α pankreasta en baskın olanıdır ve sürekli olarak eksprese edilirken, IRE1 β ise barsak epitel hücrelerinde özel olarak sentezlenirler.

3) ER stresinde hatalı katlanan proteinlerin yıkımlanması (ERAD)

ER stresinde hatalı katlanan proteinler ER-kalite kontrol sistemi tarafından tespit edilirler ve ER'dan sitozole taşınarak yıkılırlar. Bu işlem ER-aracılı yıkım (ERAD) olarak adlandırılır. Bu işlemin ilk basamağı hatalı katlanmış proteinlerin tanınmasıdır. Hatalı katlanan glikoproteinlerin yıkımlanması işleminde Man8-bağlı lektin sinyal tanıyıcı faktör olarak görev alır (38). İşlemin 2. basamağı hatalı katlanmış olan proteinlerin yakalanması ve katlanmalarıdır. Kalneksin (CNX) ve kalretikulin (CRT), ER dirençli lektin-benzeri şaperonlar hatalı katlanmış pteinlere bağlanırlar. Üçüncü aşamada sitosole taşınma işlemi gerçekleştirilir. Sitosolde ubikutin-konjuge enzimler hatalı katlanmış proteinleri 26S proteozom vasıtasıyla yıkımlamak üzere hedef alırlar. Hatalı proteinlerin yıkımlanması işlemi protein ubikutinle reaksiyona girmesiyle gerçekleşir. Bu aşamada görev alan enzimler maya da identifiye edilmişlerdir ancak insandaki homologları henüz bilinmemektedir. Maya hücrelerinde yapılan son çalışmalar, hatalı katlanmış proteinlerin ER'da etkili bir şekilde yıkımlanmasının UPR'yi gerektirdiğini ve ERAD sisteminde görev alan birçok genin UPR ile uyarıldığını göstermektedir (39). Bu bulgular, ERAD sistemi kapasitesinin ER stresi koşullarında sınırlı olduğunu, yeterli olmadığını ima etmektedir.

ER'nin protein katlama kapasitesi ile protein sentezine talep arasındaki uyumsuzluk ER stresini uyarır. Şişmanlık ve uzun süre sülfonilüreler ile tedavi gibi koşullar altında

insülin sekresyonuna ihtiyaç artar. Bu da, bozulmuş insülin sekresyonuna doğru giden aşırı yüklenmiş β hücrelerine neden olabilir. Bu koşullar altındaki β hücre fonksiyonunun bozulması "pankreatik β hücrelerinin tükenmesi" olarak tanımlanmaktadır. β hücrelerine aşırı yüklenilerek kronik ER stresi uyarılır, böylece hücre fonksiyon bozukluğu ve apoptosiz yolu ile beta hücre kitlesinde önemli bir azalma ortaya çıkar.



Şekil 2. ER stres cevapları (40).

4) ER stresinde apoptosiz uyarılması

Son yıllardaki çalışmalar beta hücrelerindeki ER stresinin hem Tip 1 hem de Tip 2 diyabetin gelişiminde etkili olduğunu göstermektedir. β hücreleri yoğun olarak insülin sentezlemesi ve salgılaması nedeniyle sıklıkla ER stresine maruz kalan hücrelerdir. ER stresi ile ilişkili apoptosiz gelişiminde 3 ayrı yolak tespit edilmiştir. (40)

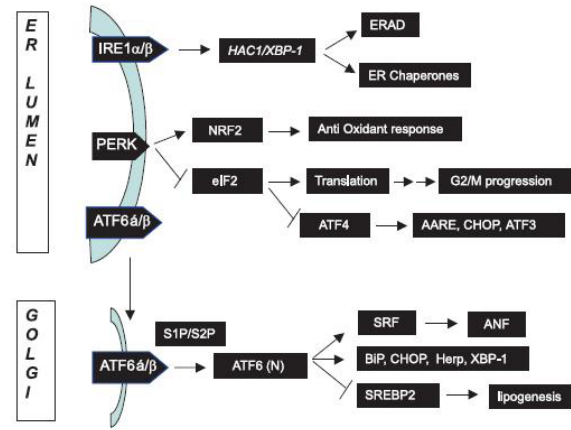
a) Transkripsiyonel uyarı yolağı: Birincisi, transkripsiyon faktör ailesinin üyesi olan CHOP/GADD153 geninin transkripsiyonel düzeyde uyarılmasıdır. CHOP, fizyolojik koşullarda ya sentezlenmez ya da düşük düzeyde sentez edilir. Fakat ER stresine cevap olarak, transkripsiyon düzeyinde güçlü bir şekilde uyarılır (41). CHOP'un aşırı uyarılması büyümede duraklamaya ve apoptosise neden olur (42). CHOP geninden yoksun fareler normal bir gelişim ve fertilité gösterirlerken; ER stresine cevapta apoptosiz oluşumunda azalma sergilerler (43). Bu nedenle, CHOP ER stres aracılı apoptosiz uyarılmasında önemli bir rol üstlenir. UPR cevabında ER şaperonları gibi CHOP geninin transkripsiyonu hem IRE1 yolu (44) hem

de ATF6 yolu (32) ile uyarılır. İlave olarak, CHOP ayrıca PERK yolağında transkripsiyon faktörü ATF4'ün tranlasyonel indüksiyonu ile de uyarılır (45). ATF4 birçok hücre tipinde yüksek düzeyde eksprese edilir fakat ER stresi ya da amino asit azalması sırasında eIF2α fosforile olmadan etkili bir şekilde translasyonu gerçekleşemez. CHOP ayrıca posttranslasyonel düzeyde de regüle edilir. CHOP'un Ser78 ve Ser81. pozisyonlarda p38 MAP kinaz tarafından fosforilasyonu, transkripsiyonel aktivitesini artırır (46). CHOP, ER stresi ile genlerin uyarılmasına aracılık edebilir. Stresle uyarılan karbonik anhidraz VI'nın hücre proton konsantrasyonunu artırarak ve hücre içi pH'ı düşürerek apoptosisi desteklediği ifade edilmektedir(47). Bunun nedeni proapoptotik regülatör Bax'ın düşük pH'da yüksek aktivite göstermesidir (48). CHOP'un Bcl-2 proteini baskıladığı ve reaktif oksijen türlerinin üretimini artırdığı bildirilmiştir (49).

b) c-Jun NH2-terminal kinaz (JNK) yolağı: ER stresinde ikinci apoptotik yol cJUN NH2-terminal kinazın (JNK) aktivasyonu yoludur. JNK'lar gen ekspresyonunu düzenleyen ve stres durumunda apoptosise ile hayatta kalma arasında verilecek karara katılan sinyal ileti proteinlerinin bir ailesidir. ER stresi JNK'ları IRE1α ve IRE1β üzerinden aktive eder. JNK aktivasyonunun ve p38 yolunun devamlılığı apoptosise sinyal düzenleyici kinaz (ASK1)'in aktivasyonunu gerektirir ki; bu, hücreyi apoptosise götürür (50).

c) Kaspaz-12 aktifleşmesiyle: Üçüncü yol ise kaspaz 12'nin aktivasyonudur. Kaspaz 12, ER membranının sitosolik tarafında lokalize olmuştur ve ER stresi ile aktive edilir. Ölüm reseptörleri ya da mitokondri aracılı apoptotik sinyallerle aktive olduğu belirgin değildir. Kaspaz 12 noksan fareler ER stres aracılı apoptosise direnç göstermektedirler. Kaspaz 12'nin m-kalpain (51), IRE1α/ TRAF2 (52) ve kaspaz 7 (53) tarafından aktive edildiği rapor edilmiştir. m-kalpain sitosolik Ca tarafından aktive edilen nötral sistein endopeptidazdır. Aktive m-kalpain sırasıyla prokaspaz 12 ve Bcl-xL'nin yakalanmasından, kaspaz 12'nin aktivasyonu ve Bcl-xL'nin inaktivasyonundan sorumludur (53). Sitosolik Ca artışı kaspaz 12'yi

m-kalpain vasıtasıyla aktive edebilmesine rağmen, kaspaz 12'nin neden sadece ER stresi ile aktive olduğu bilinmemektedir. ER stresi sırasında, sitosolik kaspaz 7'nin ER'ye transfer edildiği rapor edilmiştir (54). Kaspaz-7 kaspaz12 ile etkileşime girer ve onun öncül domainine bağlanarak onu aktif hale getirir. Bununla birlikte, kaspaz-7'nin ER'ye transferi sadece ER stresi ile değil aynı zamanda Fas tarafından da uyarılır (55). Buradan hareketle, kaspaz-7'nin, ER stresine cevapta sinyalleri iletecek diğer adaptör moleküllere ihtiyacı olduğu söylenebilir.



Şekil 3. ER stres sinyal yolları (40).

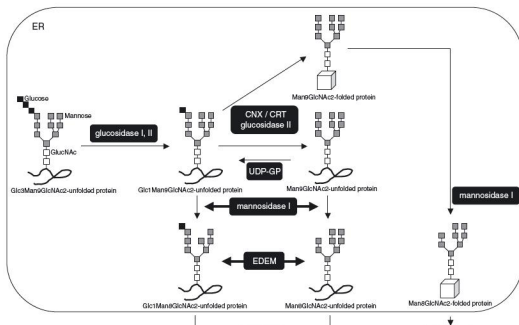
ER stres ileti proteinlerinden IRE1α ve PERK'in adacık β hücrelerinde yüksek oranda sentezlendiği gösterilmiştir. Bu da β hücrelerinde proteinlerin doğru katlanmalarının sıkı bir kontrol altında olduğunun göstergesidir. Hatalı protein katlanmaları sonucunda beta hücrelerinin ER stresine cevap yollarını kullandığı ve bazı koşullarda da hücrenin apoptosise gittiği ve bunun sonucu beta hücre kayıpları ile diyabetin ortaya çıktığını gösteren çok sayıda çalışma vardır (40).

3.2. Endoplasmik Retikulum (ER) Şaperon Proteinleri

BiP (Binding Protein)/Glucose Regulated Protein (GRP) 78 in ER şaperonu olduğu bilinmektedir ve Isı-Şok Protein (Heat Shock Protein) HSP 70 ailesine mensuptur. BiP katlanmamış proteinlerin hidrofobik bölgelerindeki bağları, kendi substrat bağlanma bölgesi yolunu kullanarak ATP'nin hidrolizi ile konformasyonel değişiklikleri uyarır (56).

Oksijen regüle edici protein (OPR)150/GPR 170 bir ER şaperonudur ve HSP 110 ailesi (HSP70 in bir alt ailesi) mensubudur. Proteinlerin katlanmasını BiP'e benzer bir mekanizma yolu ile kolaylaştırır. Hipoksiye cevapta görev almaktadır. ER dnaJ (ERdj), ERdj3/human ER asociated dnaJ (HEDJ), ERdj4, ERdj5, SEC63, ve p58IPK HSP40 ailesine bensusup ER şaperonlarıdır. BiP'in ATPaz aktivitesinin regulasyonundan sorumlu şaperonlardır. BiP ilişkili Protein (BAP) nükleotid değişimini artırarak BiP'in görevlerini ayarlar. GRP94; HSP90 ailesine ait bir ER şaperonudur ve ATP'nin hidrolizi ile protein katlanmalarına yardımcı olmaktadır. FKB13; FKB ailesine ait bir peptidil-prolil izomerazdır. Sekretuar proteinlerin genel katlanma prosesinde görevlidir (56).

Kalneksin ve kalretikülün glikoprotein katlanmalarına yol açan spesifik ER şaperon proteinleridir. İki glikoz artığı ne zaman glikozidaz I ve II tarafından koparılır ve sadece bir glukoz rezidüsü kalırsa kalneksin ve kalretikülün alıcı proteini katlar. Son glukoz artığı glikozidaz II tarafından kırıldığı zaman, kalneksin ve kalretikülün alıcı proteini bırakır ve UDP glikoz-glikoprotein-glikoziltransferaz'a bağlanır (Şekil IV). Eğer protein sorunsuz bir şekilde katlanırsa protein enzimden bırakılır ve golgi aparatına taşınır. Eğer protein katlanmazsa UDP glukoz-glikoprotein glikoziltransferaz bir glukoz artığını bağlar ve kalneksin ve kalretikülüne geri döner. Bu katlanma sürecinin adı kalneksin siklusudur. Kalneksin ve kalretikülün sırasıyla transmembran ve luminal proteinler olmalarına karşın benzer moleküler yapı ve formları paylaşırlar (57).



Şekil 4. Glikoprotein katlanması ve katlanmayan glikoproteinlerin degradasyonu (56).

3.3. Tip 2 diyabet ve ER stres-aracılı β-hücre apoptosisi

Diyabet hastalığının en yaygın formu tip 2 diyabettir ve genelde erişkinlerde obezite ile ilişkili olarak ortaya çıkar. Hastalık insülin sekresyonunda (β-hücre fonksiyon yetersizliği) ve insüline duyarlılıkta azalma (insülin direnci) durumlarının kombinasyonu ile karakterizedir. Normal beta hücre fonksiyonuna sahip bireyler, obezite gibi koşullarda insülin sentezini artırarak insülin direncine adapte olabilirler. İnsülin direncini kırmak amacıyla artan ihtiyaca cevap vermek üzere sürekli insülin sentezi beta hücrelerinde ilerleyen bir yetmezliğe ve sonunda hiperglisemiye neden olur. Obez insanların yaklaşık %10-15'inde diyabet gelişmektedir (58). Bu yüzden, tip 2 diyabetin patogenezinde beta hücre fonksiyon bozukluğu kilit faktördür. İnsülin sekresyonundaki yetersizliğe ilave olarak, beta hücre kütleindeki azalma da fonksiyon bozukluğu ile sonuçlanır. Aslında çok sayıda çalışma, tip 2 diyabetik hastalarda muhtemelen β-hücrelerinin apoptotik ölümünden kaynaklı β-hücre kütlelerinde azalma olduğunu göstermektedir (59).

İnsülinin aşırı sekresyonu, diyabet öncesi evrede ya da tip 2 diyabetin erken diyabetik fazında sıklıkla görülür. İnsülin direnci ve uzun süreli sülfonilüre tedavisi sonucu insülin sekresyonuna duyulan ihtiyacın artması β-hücrelerinde aşırı yüklenmeye ve sonuçta insülin sekresyonunda azalmaya neden olabilir. Sülfonilüre grubu ilaçlar oral hipoglisemik ajanlardır ve β-hücrelerini insülin sekresyonu yapmak üzere uyarırlar. Bu koşullar altında gelişen β-hücre fonksiyon bozukluğu "pankreatik β-hücre yoğunluğu" olarak ifade edilir. İlişkili mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. ER stresine duyarlılık hücreden hücreye farklılık gösterir. β-hücreleri belki de ER stresine en duyarlı hücrelerdir. ER stresini ileten (düzenleyen) proteinler olan Ire1α ve PERK pankreatik β-hücrelerinde yüksek oranda sentezlenirler. Bu muhtemelen β-hücrelerinin yüksek düzeyde protein sentezi ile donatılmış olması ile ilişkilidir. ER stres iletici bu proteinlerin yüksek düzeyde sentez edilmeleri, β-hücrelerinde sentezlenen proteinlerin sıkı bir şekilde kalite kontrollerinin

yapılabilmesi için gerekli olabilir. Daha önce de belirtildiği gibi, ER'daki protein trafiğindeki aksaklık hücrenin ölümüne neden olabilir. β -hücreleri ER stres aracılı apoptosise yüksek derecede duyarlıdır. Spontan olarak hiperglisemi tablosu gösteren mutant Akita farelerinde insülitis ya da obezite olmadan β -hücre kütlesinde azalma gözlemlenmiştir (60). Devamlı olarak gerçekleşen hiperglisemi tablosuna CHOP'un uyarılması ve β -hücre apoptosisinin eşlik ettiği rapor edilmiştir (61). Sürekli hiperglisemi gösteren Akita farelerinde diyabet gelişmesi durumunda, ER şaperon Bip ve ER stres ilişkili apoptosis faktörü CHOP'un mRNA sentezleri pankreasda uyarılır. Mutant insülinin aşırı eksprese edildiği fare MIN6 β -hücrelerinde CHOP ekspresyonu uyarılır ve apoptosis gelişir. Bununla birlikte CHOP geni susturulmuş olan homozigot Akita farelerinde, diyabetin oluşumu engellenmemektedir. Bu nedenle, CHOP'un dışında JNK ve kaspaz-12 gibi diğer yolların da apoptosiste etkili olabileceği söylenebilir.

Son yapılan çalışmalar, PERK'den yoksun fareler ve eIF2- α fosforilasyon bölgesinde mutasyon oluşturulan farelerde, β -hücrelerinin ER stresine daha duyarlı olduklarını göstermiştir (26). PERK noksan fareler yaşamlarının 4. haftasında belirgin bir hiperglisemi gösterirler ve doğum sonrası dönemde β -hücrelerinde artan bir apoptosis oranına sahiptirler. Bu farelerin pankreas langerhans adacıklarının elektron mikroskop görüntülerine bakıldığında beta hücrelerinin endoplazmik retikulumlarının genişlediği, sekretör granüllerin büyüklüğünde ve sayısında azalma olduğu görülmüştür. Benzer değişiklikler Akita farelerin adacıklarında da görülmüştür (61). PERK yolağı, fizyolojik koşullarda yeni protein sentezinin ER katlama kapasitesini aşmaması yönünde bir sigorta ya da garantör görevi görür. β -hücreleri translasyonel zayıflatmanın yokluğuna oldukça duyarlı hücrelerdir ki bunun devamında apoptosisle sonuçlanan bir ER stresine maruz kalırlar. Oysaki diğer hücreler bu koşullara kolaylıkla adapte olabilmeye yeteneğine sahiptirler. Bu nedenledir ki; PERK yolağı β -hücrelerinde protein sentezinin fizyolojik yükünde esansiyel bir yoldur.

Tüm bu bilgilerden hareketle, β -hücrelerinde ER stresi diyabetin gelişimini modifiye edebilme potansiyeli taşımaktadır. Protein sentezine duyulan ihtiyaç ile ER'un protein katlama kapasitesi arasındaki dengesizlik ER stresini tetikleyebilir. Tip2 diyabette, ER'da düşük düzeyde ve uzun süreli olarak devam eden protein yanlış katlanmalarının β -hücre kayıplarına neden olabileceği söylenebilir. β -hücrelerine aşırı yüklenilmesi kronik ER stresine neden olabilir. β -hücrelerinde ER stresine aracılı apoptosis üzerine yapılacak çalışmalar diyabetin patogenezinde yeni mekanizmaların aydınlatılmasına ve tedavi hedeflerinin iyi belirlenmesine ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

1. Gurzov EN, Ortis F, Bakiri L, Wagner EF, Eizirik DL. JunB Inhibits ER Stress and Apoptosis in Pancreatic Beta Cells. PLoS ONE. 2008;3(8)
2. Lupi R, Del prato S. β -cell apoptosis in type 2 diabetes: quantitative and functional consequences. Diabetes & Metabolism. 2008;34,56-64
3. Büyükgebiz O, Caferler JS. Apoptoz. Sendrom 2001;13:102-7.
4. Fadeel B, Orrenius S, Zhivotovsky B. Apoptosis in human disease: A new skin for the old ceremony? Biochemical and Biophysical Research Communications 1999; 266 :699-717.
5. Renehan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? British Medical Journal/(Clinical Research Ed.) (BMJ) 2001; 322:1536-8.
6. Tomatır AG. Apoptosis progamed cell death, T Klin J Med Sci. 2003;23:499-508
7. Bonner-Weir S, White MF. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. Nature. 1998; 26;391(6670):900-4.
8. Mathis D, Vence L, Benoist C. Beta-Cell death during progression to diabetes. Nature. 2001;13;414(6865):792-8.
9. Eizirik DL, Poulsen TM. A choice of death-the signal-transduction of immune-mediated beta cell apoptosis, Diabetologia. 2001;44,2115-2133.

- 10.** Kaneto H, Kajimoto Y, Miyagawa J, Matsuoka T, Fujitani Y, Umayahara Y, Hanafusa T, Matsuzawa Y, Yamasaki Y, Hori M. Beneficial effects of antioxidants in diabetes: possible protection of pancreatic beta-cells against glucose toxicity. *Diabetes*. 1999;48(12):2398-406.
- 11.** Oyadomari S, Takeda K, Takiguchi M, Gotoh T, Matsumoto M, Wada I, Akira S, Araki E, Mori M. Nitric oxide-induced apoptosis in pancreatic beta cells is mediated by the endoplasmic reticulum stress pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98(19):10845-50.
- 12.** Saini KS, Thompson C, Winterford CM, Walker NI, Cameron DP. Streptozotocin at low doses induces apoptosis and at high doses causes necrosis in a murine pancreatic beta cell line, INS-1. *Biochem Mol Biol Int*. 1996;39(6):1229-36.
- 13.** Delaney CA, Dunger A, DiMatteo M, Cunningham JM, Green MH, Green IC. Comparison of inhibition of glucose-stimulated insulin secretion in rat islets of Langerhans by streptozotocin and methyl and ethyl nitrosoureas and methanesulphonates. Lack of correlation with nitric oxide-releasing or O₆-alkylating ability. *Biochem Pharmacol*. 1995;50(12):2015-20.
- 14.** Unger RH. Lipotoxic diseases. *Annu Rev Med*. 2002;53:319-36.
- 15.** Withers DJ, Burks DJ, Towery HH, Altamuro SL, Flint CL, White MF. Irs-2 coordinates Igf-1 receptor-mediated beta-cell development and peripheral insulin signalling. *Nat Genet*. 1999;23(1):32-40.
- 16.** Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H, Burks DJ, Ren JM, Previs S, Zhang Y, Bernal D, Pons S, Shulman GI, Bonner-Weir S, White MF. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature*. 1998;391(6670):900-4.
- 17.** Miettinen PJ, Huotari M, Koivisto T, Ustinov J, Palgi J, Rasilainen S, Lehtonen E, Keski-Oja J, Otonkoski T. Impaired migration and delayed differentiation of pancreatic islet cells in mice lacking EGF-receptors. *Development*. 2000;127(12):2617-27.
- 18.** Hart AW, Baeza N, Apelqvist A, Edlund H. Attenuation of FGF signalling in mouse beta-cells leads to diabetes. *Nature*. 2000;408(6814):864-8.
- 19.** Biarnés M, Montolio M, Nacher V, Raurell M, Soler J, Montanya E. Beta-cell death and mass in syngeneically transplanted islets exposed to short- and long-term hyperglycemia. *Diabetes*. 2002;51(1):66-72.
- 20.** Zhang S, Liu J, Saafi EL, Cooper GJ. Induction of apoptosis by human amylin in RINm5F islet beta-cells is associated with enhanced expression of p53 and p21WAF1/CIP1. *FEBS Lett*. 1999;455(3):315-20.
- 21.** Zhou YP, Teng D, Dralyuk F, Ostrega D, Roe MW, Philipson L, Polonsky KS. Apoptosis in insulin-secreting cells. Evidence for the role of intracellular Ca²⁺ stores and arachidonic acid metabolism. *J Clin Invest*. 1998;101(8):1623-32.
- 22.** Rane SG, Dubus P, Mettus RV, Galbreath EJ, Boden G, Reddy EP, Barbacid M. Loss of Cdk4 expression causes insulin-deficient diabetes and Cdk4 activation results in beta-islet cell hyperplasia. *Nat Genet*. 1999;22(1):44-52.
- 23.** Wobser H, Düssmann H, Kögel D, Wang H, Reimertz C, Wollheim CB, Byrne MM, Prehn JH. Dominant-negative suppression of HNF-1 alpha results in mitochondrial dysfunction, INS-1 cell apoptosis, and increased sensitivity to ceramide-, but not to high glucose-induced cell death. *J Biol Chem*. 2002;277(8):6413.
- 24.** Naya FJ, Huang HP, Qiu Y, Mutoh H, DeMayo FJ, Leiter AB, Tsai MJ. Diabetes, defective pancreatic morphogenesis, and abnormal enteroendocrine differentiation in BETA2/neuroD-deficient mice. *Genes Dev*. 1997;11(18):2323-34.
- 25.** Silva JP, Köhler M, Graff C, Oldfors A, Magnuson MA, Berggren PO, Larsson NG. Impaired insulin secretion and beta-cell loss in tissue-specific knockout mice with mitochondrial diabetes. *Nat Genet*. 2000;26(3):336-40.
- 26.** Harding HP, Zeng H, Zhang Y, Jungries R, Chung P, Plesken H, Sabatini DD, Ron D. Diabetes mellitus and exocrine pancreatic dysfunction in perk^{-/-} mice reveals a role for translational control in secretory cell survival. *Mol Cell*. 2001;7(6):1153-63.
- 27.** Welters HJ, Kulkarni RN. Wnt signaling: relevance to β -cell biology and diabetes. *Trends in Endocrinology and metabolism*, 2008;19,349-355.

- 28.** Cauchi S, Eroglu P. TCF7L2 genetic defect and type 2 diabetes. *Curr. Diab Rep.* 2008;8(2):149-155.
- 29.** Shu L, Sauter NS, Schulthess FT, Matveyenko AV, Oberholzer J, Maedler K. Transcription factor 7-like 2 regulates beta-cell survival and function in human pancreatic islets. *Diabetes.* 2008;57(3):645-53.
- 30.** Yoshida H, Haze K, Yanagi H, Yura T, Mori K. Identification of the cis-acting endoplasmic reticulum stress response element responsible for transcriptional induction of mammalian glucose-regulated proteins. Involvement of basic leucine zipper transcription factors. *J Biol Chem.* 1998;273(50):33741-9.
- 31.** Yoshida H, Matsui T, Yamamoto A, Okada T, Mori K. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell.* 2001;107(7):881-91.
- 32.** Yoshida H, Okada T, Haze K, Yanagi H, Yura T, Negishi M, Mori K. ATF6 activated by proteolysis binds in the presence of NF-Y (CBF) directly to the cis-acting element responsible for the mammalian unfolded protein response. *Mol Cell Biol.* 2000;20(18):6755-67.
- 33.** Chen X, Shen J, Prywes R. The luminal domain of ATF6 senses endoplasmic reticulum (ER) stress and causes translocation of ATF6 from the ER to the Golgi. *J Biol Chem.* 2002;277(15):13045-52.
- 34.** Bertolotti A, Zhang Y, Hendershot LM, Harding HP, Ron D. Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol.* 2000;2(6):326-32.
- 35.** Shi Y, Vattam KM, Sood R, An J, Liang J, Stramm L, Wek RC. Identification and characterization of pancreatic eukaryotic initiation factor 2 alpha-subunit kinase, PEK, involved in translational control. *Mol Cell Biol.* 1998;18(12):7499-509.
- 36.** Novoa I, Zeng H, Harding HP, Ron D. Feedback inhibition of the unfolded protein response by GADD34-mediated dephosphorylation of eIF2alpha. *J Cell Biol.* 2001;153(5):1011-22.
- 37.** Iwawaki T, Hosoda A, Okuda T, Kamigori Y, Nomura-Furuwatari C, Kimata Y, Tsuru A, Kohno K. Translational control by the ER transmembrane kinase/ribonuclease IRE1 under ER stress. *Nat Cell Biol.* 2001;3(2):158-64.
- 38.** Jakob CA, Burda P, Roth J, Aebi M. Degradation of misfolded endoplasmic reticulum glycoproteins in *Saccharomyces cerevisiae* is determined by a specific oligosaccharide structure. *J Cell Biol.* 1998;142(5):1223-33.
- 39.** Casagrande R, Stern P, Diehn M, Shamu C, Osario M, Zúñiga M, Brown PO, Ploegh H. Degradation of proteins from the ER of *S. cerevisiae* requires an intact unfolded protein response pathway. *Mol Cell.* 2000;5(4):729-35.
- 40.** Rajan S.S., Srinivasan V., Balasubramanyam M., Tatu U., Endoplasmic reticulum (ER) stress and diabetes. *Indian J Med Res.* 2007;125:411-424.
- 41.** Wang XZ, Lawson B, Brewer JW, Zinszner H, Sanjay A, Mi LJ, Boorstein R, Kreibich G, Hendershot LM, Ron D. Signals from the stressed endoplasmic reticulum induce C/EBP-homologous protein (CHOP/GADD153). *Mol Cell Biol.* 1996;16(8):4273-80.
- 42.** Barone MV, Crozat A, Tabaei A, Philipson L, Ron D. CHOP (GADD153) and its oncogenic variant, TLS-CHOP, have opposing effects on the induction of G1/S arrest. *Genes Dev.* 1994;8(4):453-64.
- 43.** Zinszner H, Kuroda M, Wang X, Batchvarova N, Lightfoot RT, Remotti H, Stevens JL, Ron D. CHOP is implicated in programmed cell death in response to impaired function of the endoplasmic reticulum. *Genes Dev.* 1998;12(7):982-95.
- 44.** Wang XZ, Harding HP, Zhang Y, Jolicoeur EM, Kuroda M, Ron D. Cloning of mammalian Ire1 reveals diversity in the ER stress responses. *EMBO J.* 1998;17(19):5708-17.
- 45.** Harding HP, Novoa I, Zhang Y, Zeng H, Wek R, Schapira M, Ron D. Regulated translation initiation controls stress-induced gene expression in mammalian cells. *Mol Cell.* 2000;6(5):1099-108.
- 46.** Wang XZ, Ron D. Stress-induced phosphorylation and activation of the transcription factor CHOP (GADD153) by p38 MAP Kinase. *Science.* 1996;272(5266):1347-9.
- 47.** Sok J, Wang XZ, Batchvarova N, Kuroda M, Harding H, Ron D. CHOP-Dependent stress-inducible expression of a novel form of carbonic anhydrase VI. *Mol Cell Biol.* 1999;19(1):495-504.

- 48.** Antonsson B, Conti F, Ciavatta A, Montessuit S, Lewis S, Martinou I, Bernasconi L, Bernard A, Mermoud JJ, Mazzei G, Maundrell K, Gambale F, Sadoul R, Martinou JC. Inhibition of Bax channel-forming activity by Bcl-2. *Science*. 1997;277(5324):370-2.
- 49.** Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, Xu J, Yankner BA, Yuan J. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid-beta. *Nature*. 2000;403(6765):98-103.
- 50.** Tobiume K, Matsuzawa A, Takahashi T, Nishitoh H, Morita K, Takeda K, Minowa O, Miyazono K, Noda T, Ichijo H. ASK1 is required for sustained activations of JNK/p38 MAP kinases and apoptosis. *EMBO Rep*. 2001;2(3):222-8.
- 51.** Nakagawa T, Yuan J. Cross-talk between two cysteine protease families. Activation of caspase-12 by calpain in apoptosis. *J Cell Biol*. 2000;150(4):887-94.
- 52.** Yoneda T, Imaizumi K, Oono K, Yui D, Gomi F, Katayama T, Tohyama M. Activation of caspase-12, an endoplasmic reticulum (ER) resident caspase, through tumor necrosis factor receptor-associated factor 2-dependent mechanism in response to the ER stress. *J Biol Chem*. 2001;276(17):13935-40.
- 53.** Rao RV, Hermel E, Castro-Obregon S, del Rio G, Ellerby LM, Ellerby HM, Bredesen DE. Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program. Mechanism of caspase activation. *J Biol Chem*. 2001;276(36):33869-74.
- 54.** Mauricio D, Mandrup-Poulsen T. Apoptosis and the pathogenesis of IDDM: a question of life and death. *Diabetes*. 1998;47(10):1537-43.
- 55.** Chandler JM, Cohen GM, MacFarlane M. Different subcellular distribution of caspase-3 and caspase-7 following Fas-induced apoptosis in mouse liver. *J Biol Chem*. 1998;273(18):10815-8.
- 56.** Yoshida H. ER stress and diseases. *FEBS Journal* 2007;274:630-658.
- 57.** Deprez P, Gautschi M, Helenius A. More than one glycan is needed for ER glucosyltransferase II to allow entry of glycoproteins into the calnexin/calreticulin cycle. *Mol Cell*. 2005;19:183-195.
- 58.** Stefan Y, Orci L, Malaisse-Lagae F, Perrelet A, Patel Y, Unger RH. Quantitation of endocrine cell content in the pancreas of nondiabetic and diabetic humans. *Diabetes*. 1982;31(8 Pt 1):694-700.
- 59.** Yoshioka M, Kayo T, Ikeda T, Koizumi A. A novel locus, Mody4, distal to D7Mit189 on chromosome 7 determines early-onset NIDDM in nonobese C57BL/6 (Akita) mutant mice. *Diabetes*. 1997;46(5):887-94.
- 60.** Oyadomari S, Koizumi A, Takeda K, Gotoh T, Akira S, Araki E, Mori M. Targeted disruption of the Chop gene delays endoplasmic reticulum stress-mediated diabetes. *J Clin Invest*. 2002;109(4):525-32.
- 61.** Wang J, Takeuchi T, Tanaka S, Kubo SK, Kayo T, Lu D, Takata K, Koizumi A, Izumi T. A mutation in the insulin 2 gene induces diabetes with severe pancreatic beta-cell dysfunction in the Mody mouse. *J Clin Invest*. 1999;103(1):27-37.