

Prof. Dr. Serap GÜR
Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı

sgur@pharmacy.ankara.edu.tr



1961 yılında Kocaeli’nde doğdu. 1984 yılında Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi’nden mezun oldu. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD’da profesörlük ünvanını aldı. Çalışmaları; diyabet, hipertansiyon ve benign prostatik hiperplazinin ürogenital sistem üzerinde geliştirdiği fonksiyonel ve moleküler değişikliklerin araştırılması üzerinedir. Çalışmalarının bir kısmını Tulane Üniversitesi Üroloji Departmanında (New Orleans, ABD) sürdürmektedir. Halen Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalında öğretim üyesi olarak görev yapmaktadır.

Antidiyabetik Aktivite Araştırma Yöntemleri

Tip-2 diyabet (ya da insüline-bağımlı olmayan diabetes mellitus), kronik ve kompleks etiyolojiye sahip olan bir metabolik bozukluktur. Yükselen kan glukoz düzeyleri nedeniyle, periferel dokularda meydana gelen insülin rezistansı (insülin duyarlılığının azalması) en karakteristik özelliğidir. Değişik kimyasallar yada ilaçlar insüline duyarlılığı düzelterek, karaciğerde veya öteki dokularda glukoz yapımını azaltarak (glikojenolizis, glukoneojenezis), ayrıca karbohidratların intestinal alımını yavaşlatarak etkinliklerini ortaya koymaktadırlar. Bugün ilacın antihiperglisemik aktivitesi için “insülin duyarlılığında düzeltici etki” çok önemli bir kriterdir.

Diyabet, çeşitli hayvan türlerinde cerrahi, farmakolojik veya genetik yöntemlerle oluşturulabilmektedir. Deneyle, daha büyük türlerin yanı sıra, özellikle küçük “kemirgen (rodent)” modellerde yapılmaktadır. İlk deneysel klasik diyabet modeli,

köpeklerde pankreasın çıkartılması (pankreatektomi) ile oluşturulmuştur.¹ Cerrahi yolla diyabet oluşturulurken pankreasın %90'nına yakın kısmı çıkarılmaktadır. Bu şekilde, hem hiperglisemik ve hem de öglisemik klamp yöntemleri değişik dokularda glukoz alımı (*glukoz up-take*) çalışılmaktadır.

Farmakolojik yöntemler arasında, streptozotisin (STZ; %69) ve alloxan (%31) en çok kullanılan diyabetojenik ajanlardır ve hastalığın birçok görünümünü çalışmak üzere iyi birer modeldirler. Her iki ilaç da diyabetojenik etkilerini parenteral, intravenöz, intraperitoneal veya subkütan olarak verildikleri zaman gösterirler. Verildikleri tampon çözelti ve onun pH'sı kritik önem taşımaktadır. Bu ilaçların verilen dozlarına göre Tip-1 ve Tip-2 ye benzer sendromlar veya glukoz intoleransı deney hayvanlarında görülmekte ve bu protokoller yaygın olarak kullanılmaktadır.^{2,3}

Günümüzde bir ilacın antidiyabetik aktivitesi akut veya kronik olarak ilaçla tedaviden sonra deneysel hayvan modellerinde birçok parametreler ölçülerek anlaşılmaktadır. Beden ağırlığı, günlük içilen su ve yenilen yem miktarı, oral glukoz tole-

rans testi, açlık kan glukozu, serum lipid düzeyleri, karaciğer glikojeni, serum insülin düzeyi, glikozillenmiş hemoglobin düzeyi (HbA_{1c}), karbohidratları metabolize eden enzim düzeyleri, genellikle bilinmek istenen temel parametreler arasındadırlar.

Genetik modeller; alloxan veya STZ gibi kimyasal ilaçların oluşturduğu, istenmeyen yan etkiler olmaksızın ilacın etkisini değerlendirmeye izin vermektedir. İnsandaki Tip-2 diyabete benzer biçimde, bu türlerde kompleks ve heterojen karakteristikler gösterirler. Bunların bazılarında insülin rezistansı; obezite, dislipidemi, ve hipertansiyonla birlikte geliştiğinden, insan Tip-2 diyabetinin patofizyolojisinde mekanizmaları çalışmak için genetik modeller ideal gibi görünmektedirler. Ob/Ob fareler ve spontan diyabetik Gato-Kakizaki sıçanlar, Tip 2 modeli çalışmak için kullanılırlar. NOD fareler 12-13. haftalarda hiperglisemi gösterirler ve Tip-1 model için kullanılırlar. Öte yandan rodentlerde, "*transgenic (over)*" veya "*knock-out (under)*" modeller oluşturularak glukoz metabolizmasının anahtar kısmındaki proteinleri çalışmak için uygun modeldirler. Bu alanda *transgenic* fareler büyük oranda kullanılırlar.



Genelde kimyasal ajanlarla oluşturulan bu diyabetik hayvan modellerinde yapılan araştırmalarda kan glukozundaki azalma miktarı, ilaç yada bitkiyle, akut yada kronik tedaviden sonra açlık periyodundan sonra, genellikle değerlendirilerek kan glukozundaki düşme olarak rapor edilmektedir. Karşılaştırılmalı çalışmalar, antidiyabetik ilaçlarla tedavi edilen diyabetik-olmayan ve/veya diyabetik hayvan gruplarında yapılmaktadır. Glukoz ölçümü standart glukoz oksidaz ve dehidrojenaz metodu ile her yerde bulunan ticari glukoz-ölçerlerle (*glucometer*) yapılmaktadır. İnsülin tayini, farklı metotlarla (radyoimmünoessey [RAI], immüno-metrik tayinler) deney hayvanlarında yapılmaktadır.⁴ Kronik deneylerde glikozillenmiş hemogloblin (A1c) ölçülebilir.^{5,6} **Örneğin**, STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda (35-65 mg/kg, i.p. veya i.v.) veya farelerde (200 mg/kg i.p.) diyabetin indüksiyonundan sonra akut çalışmalar için ilaç verilmişinden 0, 2, 4, 6 ve 24. saatte serum glukoz düzeyleri üzerine ilacın etkisi tayin edilmektedir. Kronik çalışmalarda en az 28 gün ilaçla deney hayvanları tedavi edildikten sonra ilacın antidiyabetik etkisine bakılması gerekmektedir. İlacın verilmişinden 7, 14, 21 ve 28. günde ilaçtan önceki ve sonraki serum glukoz tayini yapılmaktadır. Oral glukoz (2.5 g/kg oral) tolerans testi genellikle 28. günün sonunda yapılmaktadır. Beden ağırlıkları, günlük yem alımı 24 saatin sonunda tayin edilmektedir.

İlacın lipid düzeylerine (kolesterol ve trigliseridler gibi), yara iyileşmesine etkileri ve antioksidan özellikleri diyabetik ve diyabetik-olmayan hayvanlarda yapılan önemli diğer çalışmalardır. Öte yandan; glukoz *up-take* inhibisyonunu değerlendirmek için, karaciğer perfüzyonu gibi *in vivo* çalışmalar, gastrointestinal absorpsiyon metotları ve antioksidan enzim sistemleriyle, karaciğer glikojen düzeyi tayin edilmektedir.^{7,8} Bu protokoller

belirli doğal ya da kimyasal maddenin antidiyabetik etkisinin analiz bulgularının genişlemesine yardım eder. Özellikle, karaciğer perfüzyon metodu, eğer madde metformin veya glitazonlar gibi ekstrapankreatik etki oluşturuyorsa bunu açıklamak için kullanılan iyi bir yöntemdir.

İn vitro çalışmalarda, antidiyabetik ilaçların, insülin salgılanması, glukoz alımı gibi yolları etkileme mekanizmaları araştırılmaktadır. Yeni çalışmalarda inkretinler,⁹ transkripsiyon faktörü olan PPAR- γ (*peroksizom proliferator-aktif reseptörler*- γ) gibi transkripsiyon faktörleri modern tedavinin hedefleri arasındırlar. Bu metotlar, *in vivo* modellerde kimyasal ve bitkisel kaynaklı ilaç maddeleri için önemli çalışma alanlarıdır. Pankreatik adacık hücre kültürleri kullanarak yapılan *in vivo* deneylerde insülin salgılanmasının farklı adımları çalışılmaktadır. Pankreasın β -hücrelerinde sitoplazmik ATP/ADP oranındaki artma sonucu voltaja bağımlı Ca^{2+} kanalları aktive edilerek plazma membranının depolarizasyonu ile ATP-duyarlı K^+ kanalları kapatılmaktadır. İnt-rasellüler Ca^{2+} konsantrasyonunun artması insülin salgılanmasının başlamasına neden olur.^{10,11} Bu yollar, hem kontrol ve hem de diyabetik sıçanlar veya farelerde izole pankreatik β -hücreleri ile çalışılmaktadır. İnsülin salın hücre kültürlerinde de, antidiyabetik aktivite deneyleri yapılmaktadır. Biyomühendislik teknolojileri, hem insülin salgılanması, hem de β -hücre disfonksiyonu mekanizmaları ile ilgili yapılan çalışmalara katkı sağlar. Çok kullanılan hücre kültürleri RIN, HIT, β -TC, MIN6 ve INS-1'dir; bunlar başlıca insülin, glukagon ve somatostatin hormonlarını düşük konsantrasyonlarda içerirler. Bu hücre kültürleri primer β -hücre fizyolojisini mükemmel olarak taklit etmekle beraber, β -hücre fonksiyonunun altında yatan olayları anlamak için oldukça önemli metotlardır.¹²

Glukoz alımı için *in vitro* çalışmalar da yapılmaktadır. Adipoz doku, obezite ile Tip-2 diyabet arasındaki anahtar olarak düşünülmektedir. Artan intrasellüler lipid konsantrasyonları ve insülin rezistansı ile hücre hasarı meydana gelir ve gelişen lipotoksiste nedeniyle obezite ve Tip-2 diyabet ilerler. Bununla birlikte; vücudun farklı yerlerindeki adipositler farklı biyolojik veya patolojik etkilere sahiptirler. İnsülin rezistansı ile ilişkili yolaklar çeşitli adiposit hücre kültürleri kullanılarak araştırılmıştır.

Tip-2 diyabetin tanısında pankreatik β -hücre fonksiyonu giderek kaybolmaktadır.¹³ Bugün Tip-2 diyabetin oluşumuna neden olan bu pankreatik β -hücre kaybını önlemeyi hedefleyen bir ilaç henüz bulunmamaktadır. Kısacası, şu anda pazarda yer alan oral antidiyabetik ilaçların etkileri ve yan etkileri hala optimize edilmeyi beklemektedir. Pazara yeni giren "inkretin analogları"; pankreatik hücrelerin hem proliferasyonu hem de matürasyonunu sağlayabilen temel özellikli maddeleri değerlendirmek için yeni bir alanı açmaktadırlar.⁹

Sonuç olarak; antidiyabetik aktivite gösteren ilaçlara dair en büyük beklenti, pankreatik hücre fonksiyonunun ilerleyen kaybını önlemesi yönünde gösterecekleri etkilerdir.

Kaynaklar

1. Bliss, M., 2000. The Discovery of Insulin. University of Chicago Press, Chicago, USA, pp. 321-1418.
2. Lenzen, S., Tiedge, M., Jorns, A., Munday, R., 1996. Alloxan derivatives as a tool for the elucidation of the mechanism of the diabetogenic action of alloxan. In: Shafir, E. (Ed.), Lessons from Animal Diabetes. Birkhauser, Boston, pp. 113-122.
3. Mythili, M.D., Vyas, R., Akila, G., Gunasekaran, S., 2004. Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islets. Microscopy Research and Technique 63, 274-281.
4. Esmaeili, M.A., Yazdanparast, R., 2004. Hypoglycaemic effect of Teucrium polium: studies with rat pancreatic islets. Journal of Ethnopharmacology 95, 27-30.
5. Gupta, R.K., Kesari, A.N., Watal, G., Murthy, P.S., Chandra, R., Tandon, V., 2005b. Nutritional and hypoglycemic effect of fruit pulp of Annona squamosa in normal healthy and alloxan-induced diabetetic rabbits. Annals of Nutrition and Metabolism 49, 407-413.
6. Sekar, D.S., Sivagnanam, K., Subramanian, S., 2005. Antidiabetic activity of Momordica charantia seeds on streptozotocin induced diabetetic rats. Pharmazie 60, 383-387.
7. Babu, P.V., Sabitha, K.E., Shyamaladevi, C.S., 2006. Green tea impedes dyslipidemia, lipid peroxidation, protein glycation and ameliorates Ca²⁺-ATPase and Na⁺/K⁺-ATPase activity in the heart of streptozotocin-diyabetic rats. Chemo-Biological Interactions 162, 157-164.
8. Fadzelly, A.B., Asmah, R., Fauziah, O., 2006. Effects of Strobilanthes crispus tea aqueous extracts on glucose and lipid profile in normal and streptozotocin-induced hyperglycemic rats. Plant Foods for Human Nutrition 61, 7-12.
9. Hansotia, T., Drucker, D.J., 2005. GIP and GLP-1 as incretin hormones: lessons from single and double incretin receptor knockout mice. Regulatory Peptides 128, 125-134.
10. Affourtit, C., Brand, M.D., 2006. Stronger control of ATP/ADP by proton leak in pancreatic beta-cells than skeletal muscle mitochondria. The Biochemical Journal 393, 151-159.
11. Ashcroft, F.M., Rorsman, P., 2004. Molecular defects in insulin secretion in type-2 diabetes. Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders 5, 135-142.
12. Poitout, V., Olson, L.K., Robertson, R.P., 1996. Insulin-secreting cell lines: classification, characteristics and potential applications. Diabetes Metabolism 22, 7-14.
13. Kan, E.E., 2001. The importance of β -cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. The Journal of Clinical Endocrinology and Molecular Metabolism 86, 4047-4058.