T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZACILIK FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

ZIZYPHUS JUJUBA'NIN FARKLI EKSTRELERİNİN PANKREATİK BETA HÜCRELERİNDE İNSÜLİN SALIMI İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

Hazırlayan
Sedat GÜLAY

Danışman
Doç.Dr.Mükerrem Betül AYCAN

Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-12-3799 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Şubat 2013
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Sedat GÜLAY

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

"*Zizyphus Jujuba'nın* Farklı Ekstrelerinin Pankreatik Beta Hücrelerinde İnsülin Salımı İle İlişkisinin İncelenmesi" adlı **Yüksek Lisans Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Sedat GÜLAY

Danışman
Doç.Dr.Mükerrem Betül YERER AYCAN

Anabilim Dalı Başkanı
Doç.Dr.Mükerrem Betül YERER AYCAN

Doç. Dr. Mükerrem Betül YERER AYCAN danışmanlığında **Sedat GÜLAY** tarafından hazırlanan **"*Zizyphus Jujuba'nın* Farklı Ekstrelerinin Pankreatik Beta Hücrelerinde İnsülin Salımı İle İlişkisinin İncelenmesi"** adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Eczacılık Farmakoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

..../.../ 2013

İmza

JÜRİ

Danışman : **Doç. Dr. Mükerrem Betül YERER AYCAN**

Üye : **Prof. Dr. Aydın ERENMEMİŞOĞLU**

Üye : **Yrd. Doç. Dr. Perihan GÜRBÜZ**

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ..12/2/2013...tarih ve...573..sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..12./2./2013

Prof.Dr. Salim ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımı yönlendirmesinde, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar insani ilişkilerde de sonsuz desteğiyle gelişmeme katkıda bulunan danışman hocam sayın Doç. Dr. Mükerrem Betül YERER-AYCAN'a,

Çalışma konusunun belirlenmesinde yaptığı değerli katkılarından dolayı sayın Rektörümüz Prof. Dr. H. Fahrettin KELEŞTEMUR'a,

Eczacılık Fakültesi imkanlarından faydalanmamı sağlayan Fakülte Dekanımız sayın Prof. Dr. Müberra KOŞAR'a,

Çalışmada bitkilerin toplanması ve ekstraksiyon aşamaları ile bilimsel içeriğinin düzenlenmesinde desteklerinden dolayı Farmakognozi Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Yrd. Doç. Dr. Perihan GÜRBÜZ'e,

Çalışmanın hücre kültürü üzerindeki etkileri ile ilgili deneysel aşamalarında ve her türlü yazışmalarında desteklerini esirgemeyen arkadaşım Arş. Gör. Eren DEMİRPOLAT'a,

Çalışmalarım süresince birçok fedakârlıklar gösterip beni destekleyerek her an yanımda olan eşime, yaşamımın her döneminde bana duydukları güven için aileme en derin duygularla teşekkür ederim.

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-12-3799 kodlu proje ile desteklenmiştir.

ZIZYPHUS JUJUBA'NIN FARKLI EKSTRELERİNİN PANKREATİK BETA HÜCRELERİNDE İNSÜLİN SALIMI İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

Sedat GÜLAY
Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Eczacılık Farmakoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi, Şubat 2013
Danışman: Doç. Dr. Mükerrem BETÜL YERER

ÖZET

Zizyphus türleri geleneksel halk ilacı olarak kullanılan bitkilerdir. Sindirim rahatsızlıkları, karaciğer rahatsızlıkları, obezite, üriner sıkıntılar, deri enfeksiyonları, ateş, diyabet, diyare ve uykusuzluk gibi birçok rahatsızlığın tedavisinde kullanılmaktadır. Türkiye'de bazı bölgelerde *Zizyphus jujuba* yaprakları hipoglisemik etkisinden dolayı kullanılmaktadır. Bu çalışmada *Zizyphus jujuba* yaprak ve meyvelerinin insulin sekrete eden pankreatik beta hücreleri üzerinde insulin sekresyonu ve miktarı üzerine etkisi üzerinden hipoglisemik etkinlik mekanizmasının aydınlatılması amaçlanmıştır.

Çalışmada Beta-TC-6 pankreatik beta hücrelerinde insulin sekresyonu 11.1mM glukoz ile tetiklendi ve *Zizyphus jujuba'*nın yaprak ve meyvelerinin metanol, etil asetat ve sulu ekstrelerinde (250-500-1000 μg/ml dozlarında) insulin sekresyonu üzerine etkileri ticari insulin kiti (Cat.# EZRMI-13K) ile kit prosedürüne gore ölçülerek karşılaştırıldı. Pozitif kontrol olarak insülin sekretagogu olan gliklazid (10,100 ve 1000 μg/mL) kullanıldı.

Çalışmada kullanılan ekstrelerin insülin seviyelerini artırdığı ve bu etkinin bazılarında doza bağımlı oldukları gözlendi. Ayrıca pankreatik beta hücrelerinin glukoz ile tetiklenme sonucu salgılanan insülin miktarının düştüğü zamanlarda (özellikle 4. saat), *Zizyphus jujuba*'dan elde edilen ekstrelerin insülin miktarını artırdığı gözlendi. *Zizyphus jujuba*'dan elde edilen sırayla yaprak metanol 500 μg/mL ve meyve etilasetat 500 μg/mL ekstrelerinin insülin düzeylerini anlamlı derecede artırdığı görüldü. Bunları sırayla yaprak infüzyon 500 μg/mL, meyve metanol 500 μg/mL, yaprak etilasetat 500 μg/mL izlemektedir.

Sonuç olarak, *Zizyphus jujuba* ekstrelerinin pankreatik beta hücreleri üzerinde insülin miktarını artırıcı etkisi görüldü ve bu sonuçlara bakılarak hipoglisemik etki mekanizmasının sekretagog olarak veya insülin sentezini artırarak gerçekleştirdiği kanaatine varıldı. Ekstrelerin hipoglisemik etkinliğini içeriğindeki hangi bileşenlere bağlı olarak gösterdiği hususunda ve insülin düzeylerini hangi moleküler mekanizmalar üzerinden tetiklediği hususunda daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: *Zizyphus jujuba*; diyabet; insülin; pankreatik-beta hücre dizisi; hipoglisemi

INVESTIGATION OF THE RELATION BETWEEN INSULIN RELEASE AND SEVERAL *ZIZYPHUS JUJUBA* EXTRACTS ON PANCREATIC BETA CELL LINES.

Sedat GÜLAY
Erciyes University, Graduate School of Health Sciences
Pharmacology Department
M.Sc. Thesis, February 2013
Supervisor: Doç. Dr. Mükerrem Betül Yerer-Aycan

ABSTRACT

Zizyphus species are commonly used species in public for their several effects like digestive problems, liver diseases, obesity, urinary problems, dermal infections, fever, diabetes, diarrhea and insomnia. In some regions of Turkey *Zizyphus jujuba* leaves are used for its hypoglycemic effect. In this study, *Zizyphus jujuba* leaves and fruits are used in aim to identify its hypoglycemic effect mechanism over insulin secretion and insulin levels on insulin secreting pancreatic beta cell line.

In this study, in Beta-TC6 pancreatic beta cell line insulin secretion is stimulated by 11.1mM glucose and the effects of methanol, ethyl acetate and aqueous extracts of leaves and fruits of *Zizyphus jujuba* (in doses of 250-500-1000 μg/ml) on insulin secretion is measured by using commercial insulin assay kit (Cat.# EZRMI-13K) according to its protocol. The insulin secretagoge Gliklazid (10,100 ve 1000 μg/mL) have been used as a positive control.

The extracts used in the study have increased the insulin levels and some of the effects were dose-dependent. Furthermore, at the time point of the insulin secretion was decreased in pancreatic beta cell lines (especially the 4^{th} hour) *Zizyphus jujuba* extracts have inscreased the insulin levels significantly. *Zizyphus jujuba* leaf methanol (500 μg/mL) and fruit ethyl asetate (500 μg/mL) extracts have significantly increased the insulin levels. Leaf infusion 500 μg/mL, Fruit methanol 500 μg/mL and leaf ethyl asetat 500 μg/mL follows these results, respectivley.

As a result, *Zizyphus jujuba* extracts have increased the insulin levels in pancreatic beta cell lines and according to these results it can be concluded that the hypoglycemic eefcts of *Zizyphus jujuba* extracts might be due to its effects on insulin secretion and/or insulin synthesis. Further studies are needed to identify the moleculer basis of the insulin secretion mechanism and to identfy which compounds are responsible from these effects.

Keywords: *Zizyphus jujuba*; diabetes; insulin; pancreatic-beta cell line; hypoglycemi

İÇİNDEKİLER

Sayfa no

İÇ KAPAK i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK SAYFASI ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI iii
KABUL VE ONAY SAYFASI iv
TEŞEKKÜR v
ÖZET vi
ABSTRACT vii
İÇİNDEKİLER viii
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ x
KISALTMALAR xii

1.GİRİŞ VE AMAÇ 1
2.GENEL BİLGİLER 2
2.1. *ZİZYPHUS JUJUBA* MİLLER 2
2.1.1. Bitkinin Botanik Özellikleri Ve Yayılışı 2
2.1.2. Bitkinin Kimyasal İçeriği 3
2.1.3. Bitkinin Halk Arasında Kullanılışı Ve Farmakolojik Aktivitesi 4
2.2. İNSÜLİN 7
2.2.1 İnsülin Sekresyonu 9
2.2.2İnsülin Salıverilmesinin Düzenlenmesi 13
2.3. DİYABETES MELLİTUS 16
2.3.1. Tanım 16
2.3.2. Tarihçe 16
2.3.3 Epidemiyoloji 17
2.3.4. Tanı 17
2.3.5. Sınıflama 18

Sayfa no

2.3.6. Fizyopatoloji/Etiyoloji 20
2.3.6.1. Tip1 DM 20
2.3.6.2. Tip2 DM 20
2.3.7. Risk Faktörleri 21
2.3.8. Tedavi Yaklaşımları 22
2.3.8.1 Hasta Eğitimi 22
2.3.8.2. Egzersiz 23
2.3.8.3. Diyet 24
2.3.8.4. Oral Antidiyabetikler 25
2.3.8.5. İnsülin Ve Analogları 28
3. GEREÇ VE YÖNTEM 29
3.1. GEREÇLER 29
3.2. BİTKİ MATERYALİ VE EKSTRAKSİYON 30
3.3. HÜCRE KÜLTÜR ÇALIŞMALARI 31
4.BULGULAR 34
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 48
6.KAYNAKLAR 54
EKLER
ÖZGEÇMİŞ

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1. İnsülin preparatlarının etki ve özellikleri 15

Tablo 2.2. Diyabetes mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri 18

Tablo 2.3. Diabetes mellitusun etiyolojik sınıflaması 19

Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal madde, sarf malzeme ve cihazlar 30

Tablo 3.2. Drogların ekstre miktarları 31

Şekil 2.1. *Zizyphus jujuba* 2

Şekil 2.2. İnsülin.....8

Şekil 2.3. Pankreatik β-hücre membranındaki K_{ATP} kanallarının elektriksel aktivite eşlikli insülin salınımındaki yerinin şematize edilerek gösterimi 11

Şekil 3.1. Krebs çözeltisi içinde insülin salınımının stabil olarak seyretmesi.....32

Şekil 3.2. Glukoz ile tetiklenmiş pankreatik beta hücrelerinde krebs çözeltisinin insülin salınımına etkisi 32

Şekil 4.1. Glukozun insülin sekresyonuna etkisi……..35

Şekil 4.2. Yaprak Metanol 250 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi 35

Şekil 4.3. Yaprak Metanol 500 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi 36

Şekil 4.4. Yaprak Metanol 1000 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi 36

Şekil 4.5. Yaprak metanol ekstrelerinin insülin sekresyonu üzerinde doza bağımlılığı.....37

Şekil 4.6. Yaprak Etilasetat 250 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi.....37

Şekil 4.7. Yaprak Etilasetat 500 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi.....38

Şekil 4.8. Yaprak Etilasetat 1000 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi.....38

Şekil 4.9. Yaprak etilasetat ekstrelerinin insülin sekresyonu üzerinde doza bağımlılığı 39

Şekil 4.10. Yaprak infüzyon 250 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi.....39

Şekil 4.11. Yaprak infüzyon 500 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi.....40

Şekil 4.12. Yaprak infüzyon 1000 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi.....40

Şekil 4.13. Yaprak infüzyonlarının insülin sekresyonu üzerinde doza bağımlılığı.....41

Şekil 4.14. Meyve metanol 250 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi.....41

Şekil 4.15. Meyve metanol 500 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi.....42

Şekil 4.16. Meyve metanol 1000 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi.....42

Şekil 4.17. Meyve metanol ekstrelerinin insülin sekresyonu üzerinde doza bağımlı etkileri.....43

Sayfa No

Şekil 4.18. Meyve etilasetat 250 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi 43
Şekil 4.19. Meyve etilasetat 500 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi 44
Şekil 4.20. Meyve etilasetat 1000 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi 44
Şekil 4.21. Meyve etilasetat ekstrelerinin insülin sekresyonu üzerinde doza bağımlı etkileri 45
Şekil 4.22. Gliklazidin (10 μg/mL) insülin sekresyonuna etkisi 45
Şekil 4.23. Gliklazidin (100 μg/mL) insülin sekresyonuna etkisi 46
Şekil 4.24. Gliklazidin (1000 μg/mL) insülin sekresyonuna etkisi 46
Şekil 4.25. Gliklazid'in insülin sekresyonu üzerinde doza bağımlılığı 47
Şekil 4.26. İnsülin salınımına göre ekstrelerin karşılaştırılması 47

KISALTMALAR

cAMP:	Siklik Adenozin Monofosfat
BE:	n-Butanol Ekstresi
CA:	Kristinin-A
VLDL:	Çok Düşük Dansiteli Lipit
LDL:	Düşük Dansiteli Lipit
HDL:	Yüksek Dansiteli Lipit
TG:	Trigliserid
ALT:	Alanin Aminotransferaz
AST:	Aspartat Aminotransferaz
HIV 1:	Human Immunodeficiency Virüs
DM:	Diyabetes Mellitus
PZI:	Protamine Zinc İnsulin
NPH:	Neutral Protamine Hagedorn
PP:	Pankreatik Polipeptit
ER:	Endoplazmik Retikulum
Zn^{2+}:	Çinko İyonu
GLUT-2:	Glukoz Transpörtörü 2
ATP:	Adenozin Trifosfat
K_{ATP}:	ATP'ye-Duyarlı Potasyum
Ca^{+2}:	Kalsiyum İyonu
Mg_{ADP}:	ADP'ye-Duyarlı Magnesyum
K^{+}:	Potasyum İyonu
mÜ:	Miliünite
mL:	Mililitre
mg:	Miligram
Ü:	Ünite
nM:	Nanomolar
mM:	Milimolar
IP_3:	İnositol Trifosfat

GBP-1/GLP-1:	Glukagon-Benzeri Peptid-1
VIP:	Vazoaktif İnestinal Polipeptid
IAPP:	Adacık Amiloid Polipeptidi
µU:	Mikroünite
M.Ö.:	Milad'dan önce
M.S.:	Milad'dan sonra
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü
ADA:	Amerikan Diyabet Birliği
GDM:	Gestasyonel Diyabetes Mellitus
BKİ:	Beden Kitle İndeksi
kg:	Kilogram
m^2:	Metrekare
IFG:	Bozulmuş Açlık Glisemisi
IGT:	Bozulmuş Glukoz Toleransı
KAH:	Koroner Arter Hastalığı
IDF:	Uluslararası Diyabet Federasyonu
SVD:	Uluslararası Diyabet Programı Toplantıları
TBT:	Tıbbi Beslenme Tedavisi
SUR1:	Sülfonilüre Reseptör-1
DPP-4:	Dipeptidil Peptidaz-4
OAD:	Oral Antidiyabetik
g:	Gram
°C:	Santigrad Derece
DMEM:	Dulbecco's Modified Eagle's medium

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Zizyphus türleri geleneksel halk ilacı olarak kullanılan bitkilerdir. Sindirim rahatsızlıkları, karaciğer rahatsızlıkları, obezite, üriner sıkıntılar, deri enfeksiyonları, ateş, diyabet, diyare ve uykusuzluk gibi birçok rahatsızlığın tedavisinde kullanılmaktadır (1).

Türkiye'de bazı bölgelerde *Zizyphus jujuba* yaprakları hipoglisemik etkisinden dolayı kullanılmaktadır (2). *Zizyphus* türlerinin hipoglisemik etkileri üzerinde yapılan çalışmalar giderek artmaktadır ve çarpıcı sonuçlar elde edilmektedir.

Zizyphus marituana kökü ekstresinin hiperglisemiyi düşürdüğü gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada *Zizyphus jujuba*'nın hipoglisemik etkisinin yanında birçok hematolojik parametreleri de etkilediği gösterilmiştir (3).

Zizyphus jujuba yaprakları dekoksiyon halinde halk tarafından hipoglisemik aktivitesinde faydalanılmak üzere tüketilmektedir. Hipoglisemik aktivitenin hangi mekanizma üzerinden sağlandığı bilinmemekle birlikte yapılan bu çalışmada hipoglisemik aktivitenin pankreatik beta hücrelerinden salınan insülin miktarını artırarak (sekretagog) etki gösterip göstermediği incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *ZİZYPHUS JUJUBA* MİLLER

2.1.1. Bitkinin Botanik Özellikleri ve Yayılışı

Zizyphus jujuba (Syn:*Rhamnus zizyphus* L., *Zizyphus vulgaris* Lam.,) bitkisi Rhamnaceae familyasına ait sert çekirdekli küçük taneli meyveleri olan, dik yarı dik veya yayvan küçük ya da orta büyüklükte çalı ya da ağaç şeklinde morfolojiye sahip bir bitkidir (Şekil 2.1). Yüksekliği 5-10 metre arasında değişebilir. Ağaçlar yarı yaprak döken ve çok dallıdır. Grimsi kırmızımsı boyuna derin oluklu kabukları vardır. Ağaç ya da çalı genellikle dikenli ancak bazen dikensizdir. Batı ve Güney Anadolu'da yenilebilir meyveleri için kültüre alınmış bir bitkidir. Nadiren İstanbul, Sinop, Tekirdağ'da yayılışı vardır (4).



Şekil 2.1. *Zizyphus jujuba*

2.1.2. Bitkinin Kimyasal İçeriği

Alkoloitler

Z. jujuba kabuğundan siklik peptit alkaloitler, mauritin-A, mukronin-D, amfibin-H, nummularin-A-B ve sativanin-A ve sativanin-B, sativanin-C, sativanin-D, sativanin-E, sativanin-F, sativanin-G, sativanin-H, sativanin-K, frangulanin, nummularin-B ve mukronin izole edilmiştir (5, 6).

Z. jujuba yapraklarından koklorin, izoboldin, norizoboldin, asimilobin, iusifin ve iusirin izole edilmiştir (7).

Z. jujuba tohumları ayrıca siklik peptid alkoloit sajoinenin, franguloin ve amfibin-D ve 4 peptid alkoit sanjoinin-B-D-F ve G2 izole edilmiştir (8).

Glikozitler

i) Flavonoit glikozitleri: *Z. jujuba*' nın meyve ve tohumlarından svertisin, spinosin, pürarin; 6"'-feruloilspinozin; apigenin-6-*C*-*ß*-D-glukopiranozit; 6"'-feruloilizospinozin; izospinozin ve izoviteksin-2"-*O*-*ß*-D- glukopiranozit isimli flavonoitler izole edilmiştir (9). Bitkiden ayrıca farklı şeker ünitelerine (Rutin, robinobioz, arabinoz, ramnoz, ksilozil, galaktozit) sahip kemferol ve kersetin türevi flavonoller izole edilmiştir (10, 11).

ii) Glikozitler/saponinler: *Z. jujuba*' nın tohumlarından jujubozitler A, B, A1, B1, C ve asetiljujubozit B izole edilmiştir (10, 12).

Bitkinin kurutulmuş yapraklarından zizifin (3-*O*-*a*-L-ramnopiranozil, (1-2)-a-arabinopiranozil-20-*O*-(2,3)- di-*O*-asetil-*a*-L- ramnopiranozil jujubogenin) isimli saponin izole edilmiştir (13).

Yine bitkinin yaprak ve dallarından jujubogenin 3-*O*- ((2-*O*-*α*- D-furopiranozil-3-*O*-*ß*-D-glukopiranozil)-*α*-L-arabinopiranozil) isimli saponin izole edilmiştir (14).

Terpenler

Z. jujuba meyvelerinden kolubrinik asit, alfitolik asit, 3-*O*-*cis*-*p*-kumaroalfitolik asit, 3-*O*-*trans*-*p*-kumaroalfitolik asit, 3-*O*-*cis*-*p*-kumaromaslinik asit, 3-*O*-*trans*-*p*-kumaromaslinik asit, oleanolik asit, oleanolik asit ve betülinik asit isimli triterpen asitler izole edilmiştir. (15)

Z. mauritiana' nın köklerinden de betülin; betülinik asit; ursolik asit; 2α-hidroksiursolik asit isimli triterpenik asitler izole edilmiştir (16,17).

2.1.3. Bitkinin Halk Arasında Kullanılışı Ve Farmakolojik Aktivitesi

Zizyphus türlerinin Anadolu'nun bazı bölgelerinde şeker hastalığına karşı kullanımı bulunmaktadır. Özellikle Arap hekimleri tarafından halk arasında göğüs yumuşatıcı, öksürük kesici, kan temizleyici olarak kullanılmış bir drogtur (18).

Hint tıbbında *Z. nummularia* bitkisinin kökü öksürük ve baş ağrısı tedavilerinde, kabuğu çıban, dizanteri ve ishalde, yaprakları ise ateş düşürücü ve obeziteyi azaltıcı olarak kullanılır. Bitkinin meyveleri tonik, sindirim kolaylaştırıcı, afrodizyak, müshil olarak ve gebelikte karın ağrısı, dış yaralanmalar, tüberküloz ve kan hastalıkları için kullanılmaktadır. Tohumlar gücü artırmak ve sedatif aktivite için ve ayrıca göz hastalıklarında kullanılmaktadır. Bitkinin taze yaprakları üriner enfeksiyonlarda kimyon ile beraber kullanır (19).

Zizyphus Türlerinin Farmakolojik Özellikleri

Antidiyabetik Etki

Zizyphus vulgaris L. meyvelerinden elde edilen sulu ekstre ile serum glukoz, insülin, düzeylerine bakılmıştır. Bu ekstrenin, kan glukoz seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir. Bazı meyvelerin barsaktan glukoz emilimini azaltarak hipoglisemik etki gösterdiği bilinmektedir (20).

Çeşitli çözücülerle *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd. ile yapılan bir çalışmada ektraksiyon çözücüsü olarak etanol, n-butanol, %70 etanol, etil asetat, petrol eteri kullanılmıştır ve en fazla antihiperglisemik aktivite %70 etanollü ekstre ile alınmıştır. (21).

Yine yapılan bir çalışmada *Zizyphus spina-christi* yaprak n-butanol streptozosin-diyabetik sıçanlarda bir ve dört hafta uygulama sonrasında serum glukoz seviyesini, karaciğer fosforilaz ve glukoz-6-fosfataz aktivitelerini önemli düzeyde düşürdüğü bulunmuştur. Serum pirüvat seviyesinin ve karaciğer glikojen içeriğinin ise dört hafta sonrasında önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir. Serum insülin ve pankreatik siklik adenozin monofosfat (cAMP) seviyeleri de dört haftalık n-butanol ekstresi ile periyodik muamele sonrasında artmıştır (22).

Zizyphus maurituana Lam. Kökü ekstresi ile yapılan çalışmada ilk olarak 300 mg/kg ekstre ile muamele sonrasında oral glukoz testi uygulanmıştır. Hipergliseminin anlamlı derecede düştüğü gözlenmiştir. (23).

Zizyphus spina-christi yaprakları ile yapılan bir çalışmada diyabet olmayan, tip 1 ve tip 2 diyabetik sıçan gruplarında n-butanol ekstresi (BE) ve kristinin-A(CA) ile beraber verilen glukoz ile değerlendirme yapıldığında, BE ve CA'nın diyabet olmayan ve tip 2 diyabetik sıçanlarda serum glukoz düzeyini düşürdüğü ve serum insülin düzeyini artırdığı, glibenklamid etkisini ise potansiyelize ettiği gözlenmiştir (24).

Zizyphus jujuba bitkisinin %3 ve %6 dekoksiyonlarının ikişer gün arayla tip 2 diyabetik sıçanlara verilerek yapılan hipoglisemik çalışmada sıçanların kan glukoz düzeylerinde anlamlı derecede düşüş olduğu gözlenmiştir (25).

Antihiperlipidemik Etki

Z. jujuba yapraklarının sulu-alkollü ekstresi ile yapılan ölçümlerde kolesterol düzeyinin kontrol seviyesine düştüğü gösterilmiştir; çok düşük dansiteli lipit (VLDL), düşük dansiteli lipit (LDL) seviyeleri de düşmüş, ancak bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Ekstre uygulanan diyabetik sıçanlarda yüksek dansiteli lipit (HDL) seviyesi 26.58 mg/dl iken 38.5 mg/dL e yükselmiştir (26).

Zizyphus vulgaris L. meyvelerinden elde edilen sulu ekstre ile serum glukoz, insülin, trigliserid (TG), LDL, HDL, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) düzeylerine bakılmıştır. Bu ekstrenin kan LDL ve TG düzeyini düşürdüğü, HDL üzerinde değişiklik oluşturmadığı gösterilmiştir (20).

Hipnotik-Sedatif Anksiyolitik Etki

Z. jujuba çekirdeklerinin uykuya dalışı kolaylaştırdığı bulunmuştur. Ancak antikonvülsan ve kas gevşetici özelliği saptanamamıştır. Bitkinin meyvelerinden elde edilen sanjoinin A ve nusiferin alkaloitleri hekzobarbital ile indüklenmiş uyku zamanını uzattığı gösterilmiştir (27, 28).

Kanser (Kemoterapi)

Z. jujuba' dan ekstre edilen ve tümör hücre dizilerinde test edilen lupan tip tripertenlerin yüksek sitotoksik aktivite gösterdiği gösterilmiştir. Ayrıca *Z. jujuba* ve *Z. Mauritiana*' dan ekstre edilen tripertenik asitler ve betulinik asit insan melanoma hücreleri üzerinde selektif toksisite oluşturduğu gösterilmiştir (15, 29).

Antimikrobiyal Aktivite

Z. jujubanın köklerinin alkollü ekstresinin *Candida albicans, C. tropicalis, Aspergillus flavus, A. niger* and *Malassezia furfur* üzerinde antifungal aktiviteleri olduğu gösterilmiştir (30).

Z. mauritiana yaprak metanol ve aseton ekstreleri *Escherichia coli, Klebsiella spp., Pseudomonas spp., Proteus vulgaris* ve *Bacillus subtilis* üzerinde antibakteriyal etki göstermiştir (31,32).

Z. jujubanın gövde kabuklarından izole edilen betulinik asitin Human Immunodeficiency Virüs (HIV 1) enfeksiyonunun ilerlemesini yavaşlattığı bulunmuştur (33).

Antiülser Aktivite

Z. mauritiana yaprak ekstrelerinin doza bağlı antiülser aktivite gösterdiği bildirilmiştir (34).

Antienflamatuvar ve Antispazmodik Etki

Z. jujuba meyve ekstrelerinin antienflamatuar, antispastik ve antispazmodik etkileri olduğu gösterilmiştir (35). Ayrıca *Z. mauritiana* yaprak ekstrelerinin de antienflamatuvar aktivitesi bulunmuştur (36).

Antialerjik Etki

Z. jujuba yapraklarının sulu ekstreleri hyalurinidaz aktivasyonunu *in vitro* inhibe ederek güçlü antialerjik aktivite göstermiştir (37).

Hipotansif Aktivite

Z. jujuba bitkisinin *in vitro* endotelyal hücrelerde ve *in vivo* fare böbrek hücreleri üzerinde nitrik oksit salınımını stimüle ettiği bulunmuştur (38).

Kardiyovasküler Aktivite

Z. mauritiana yapraklarından elde edilen neo-lignan yapısındaki bileşiklerin potansiyel doğal platelet inhibitörü ve güçlü vazodilatör olan endojen prostoglandin I_2 salımını artırdığı bulunmuştur (39).

Bağışıklık Sistemini Uyarıcı Aktivite

Z. jujuba yaprak ekstreleri insan nötrofillerinin kemotaktik, fagositik etkileri ile intraselüler yok etme potansiyelini tetiklediği bulunmuştur (40).

2.2. İNSÜLİN

İnsülin doğrudan veya dolaylı olarak vücuttaki bütün dokuları etkileyen ve glukoz, aminoasitler ve lipidler gibi besin olarak alınan maddelerin çoğunun hücreler içine alınıp depo edilmesini sağlayan antikatabolik ve anabolik bir hormondur (41).

Glukoz metabolizmasının ana düzenleyicisi olan insülin ilk defa 1921 yılında pankreas dokusundan Banting ve Best tarafından izole edilmiştir. İnsülinin keşfinden kısa süre sonra saf insülin, pankreası çıkarılmış köpeklerde ve diabetes mellitus (DM) hastalarında deneysel olarak kullanılmıştır. İnsülinin izole edilmesi ve saf bir şekilde eldesi ile efektif kullanımı artmış; böylece insülin DM hastalar için kullanılır hale gelmiştir (42).

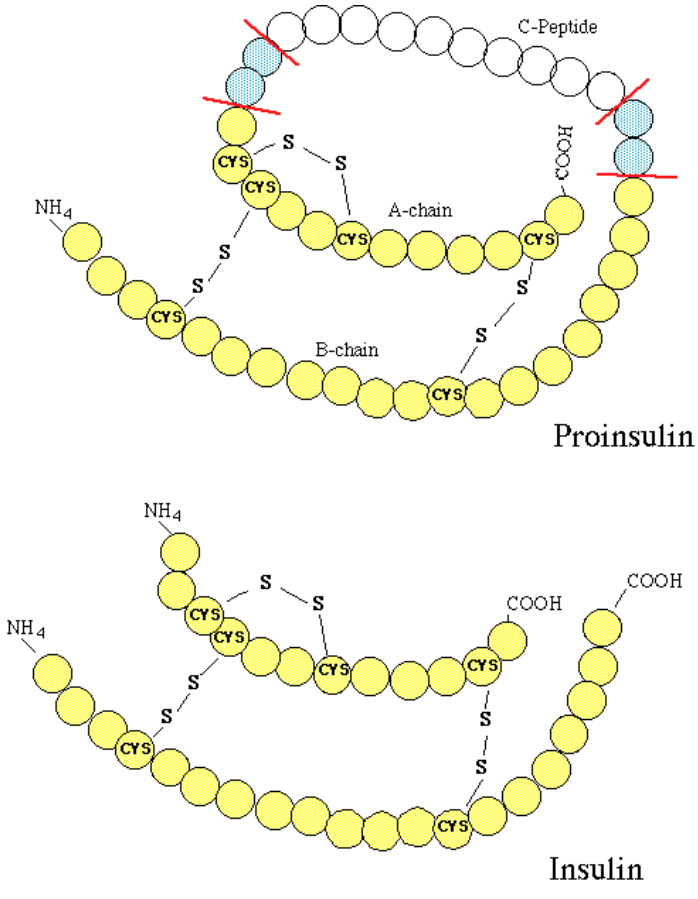
İlk kullanılan insülin preparatının kısa etkili olması ve çoklu enjeksiyon gerektirmesi; daha uzun etkili formların arayışını da beraberinde getirmiş ve 1930'lu yıllarda "Protamine Zinc İnsulin (PZI)", 1940'lı yıllarda "Neutral Protamine Hagedorn (NPH)", 1950'li yıllarda lente insülin diabetes mellitus tedavisinde yerlerini almışlardır. Kromatografik metotlarda ilerleme sonucu 1960 ve 1970'ler, yüksek oranda saflaştırılmış insülinin üretildiği yıllar olmuş ve 1980'li yıllarda rekombinant DNA teknolojisiyle insan insülininin üretimi gerçekleşmiştir (43).

İnsülin'in Yapısı

İnsülin polipeptit yapılı ve yaklaşık 6000 dalton molekül ağırlığında bir hormondur. Molekülü iki aminoasid zincirinden oluşur. Kısa olan A zincirinde 21 aminoasid, uzun olan B zincirinde ise 30 aminoasid bulunur (41). (Şekil 2.2).

İnsülin pankreasın Langerhans adacıklarından sentez edilir. Pankreasta ekzokrin bezlerin asinusları arasına yapılmış yüzbinlerce Langerhans adacığı bulunur. Bunların toplam kitlesi pankreas kitlesin yaklaşık %2-3'üne eşittir. Langerhans adacıklarında en az 4 tip hücre hücre bulunur ve A(alfa), B(beta), D(delta) ve F hücreleri diye adlandırılır; bu hücreler sırasıyla glukagon, insülin, somatostatin ve pankreatik polipeptit (PP) sentez edilip salgılanır. İnsülin sentez eden beta hücreleri adacık içindeki hücrelerin yaklaşık %60-80'ini oluşturur (41).

İnsülin beta hücrelerinde ribozomlarda önce preproinsülin şeklinde tek zincirli bir peptid olarak sentez edilir. 110 aminoasid rezidülü bu öncül, pürüzlü endoplazmik retikulum (ER) membranını geçip retikulum lümenine gelince 24 amino asildik N-ucu sinyal peptidini kaybeder. Meydana gelen proinsülin molekülü kıvırır ve üç S-S (disülfür veya İngilizce disulfid) köprüsü oluşur. ER'den proinsülin Golgi aparatına transfer edilir ve orada protezların etkisi ile, 35 amino asildi C peptidi(bağlayıcı-connecting-peptid) segmentini kaybederek insüline dönüşür. Dönüşüm Golgi aparatından kopma sonucu oluşan insülin depo veziküllerinde de devam eder (41).



Şekil 2.2. İnsülin (44)

C peptidinin kopması insülinin suda çözünürlüğünü azaltır ve çinko iyonu (Zn^{2+}) ile birlikte hekzamerik kristaller halinde çökmesine neden olur; kristallerde 6 molekül insülin yanında iki tane Zn^{2+} bulunur. İnsülin parsiyel ekzositozla hücreden salgılanırken onunla birlikte Zn^{2+} ve ekimolar miktarda C peptidi de salgılanır. Normal durumda salgılanan hormonun %95 insülin ve %5 i proinsülindir (41).

Tip II diyabetin tedavisinde insülin genellikle; diyet, egzersiz ve kilo kaybıyla

yeterince kontrol edilemeyen ve / veya uzun süre kombinasyon seklinde kullanılmasına rağmen oral ajanlarla uygun kan glikoz kontrolü sağlanamayan durumlarda kullanılmaktadır. İlerleyen yasla birlikte oral ajanlar giderek artan hiperglisemiyi kontrol edemez hale geldiğinde birçok hasta insülin kullanabilmektedir (45).

Dünyada U-100 (1 ml'de 100 IU bulunan) insülinler kullanılmaktadır Ayrıca bazı Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nde insülin gereksinimi çok yüksek olan insüline dirençli hastalar için U-500 insülinler bulunmaktadır.

İnsülin tedavisi, fizyolojik yerine koyma tedavisidir. İnsülin uygulanma ilkelerinin iyi bilinmesi ile diyabet başarılı bir şekilde tedavi edilebilmektedir. İnsülin tedavisinin uygulanmasında primer amaçlar, hipergliseminin klinik semptomlarının giderilmesi, diyabetik ketoasidoz ve hiperozmolar komaların önlenmesidir. Egzersiz kapasitesinin arttırılması, infeksiyonların azaltılması ve iyilik halinin kazanılması ise sekonder hedefler olarak görülmektedir (46).

2.2.1. İnsülin Sekresyonu

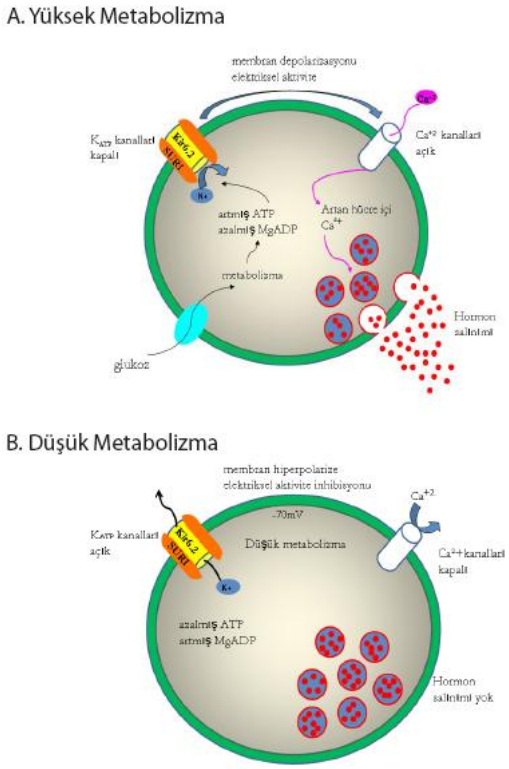
İnsülin pankreastaki Langerhans adacıklarının orta kısmında toplanmış bulunan beta hücrelerinden, bu hücrelerin çevresindeki kapillerler içine salgılanır. Adacık içindeki diğer hücrelerden A hücreleri glukagon, D hücreleri somatostatin ve F(diğer adıyla PP) hücreleri insanda 36 aminoasidli bir polipeptid olan pankreatik polipeptid salgılarlar. Bütün bu maddeler kapillerler içine geçerek hormon etkisi yaptıkları gibi, adacık dokusu içinde çevrelerine yayılarak parakrin (lokal) etki de yapabilirler ve böylece birbirlerinin salıverilmesini azaltırlar veya çoğaltırlar (41).

Pankreatik β-hücreler, glukozla uyarılan insülin salınımını yapmak üzere özelleşmiş hücrelerdir. Glukoz, glukoz transportörü 2 (GLUT-2) ile pankreatik β-hücrelerine alınarak glikolize uğrar. Glikoliz sonucu hücre içinde adenozin trifosfat (ATP) konsantrasyonu yükselir ve Mg-nükleotidlerin konsantrasyonu düşer. β-hücre

membranında lokalize ATP'ye-duyarlı potasyum (K_{ATP}) kanalları ATP konsantrasyonundaki artış ile inhibe olur ve kapanırlar. Kanalın kapanması, sırasıyla membranın depolarize olması, voltaj-bağımlı kalsiyum (Ca^{+2}) kanallarının aktive olarak açılması ve Ca^{+2}'un hücre içine akması ile sonuçlanan olaylar zincirini tetikler. Ca^{+2}'un hücre içine akışı ise insülin salınımını uyarır (Şekil 2.3). Tam tersine, düşük glukoz düzeyinde pankreatik β-hücrelerinde metabolik aktivite düşer, hücre içinde ATP konsantrasyonu azalır, ADP'ye duyarlı magnesyum (Mg_{ADP}) konsantrasyonu artar. Mg_{ADP}, K_{ATP} kanalını stimüle ederek açılmasını sağlar ve hücreden potasyum (K^+) çıkışı, β-hücre membranının hiperpolarize olmasına ve Ca^{+2} kanallarının kapalı durumda kalmasına neden olur. Hücre içerisine Ca^{+2} girişi olmadığı için insülin salınımı gerçekleşmez (47).

A) Yüksek metabolizmada glukozun hücre içinde metabolize olması ile ATP konsantrasyonu artar, Mg_{ADP} konsantrasyonu düşer. Bu oransal değişime duyarlı K_{ATP} kanalları kapanır. Kanalın kapanması hücre membran depolarizasyonu ve elektriksel aktiviteyi tetikleyerek, hücre içine Ca^{+2} akışına ve sonucunda insülinin hücre dışına salınımına neden olur.

B) Düşük metabolizmada düşük ATP ve artmış Mg_{ADP} konsantrasyonları nedeniyle K_{ATP} kanalları kapalıdır. Bu durumda hücre membranı hiperpolarizedir ve elektriksel aktivite yoktur (Şekil 2.3).



Şekil 2.3.Pankreatik β-hücre membranındaki K_{ATP} kanallarının elektriksel aktivite eşlikli insülin salınımındaki yerinin şematize edilerek gösterimi (47).

Bazal durumda (16 saat aç olan bir kimsede olduğu gibi) plazmada immünreaktif insülin konsantrasyonu, şişman olmayan normal bir kimsede 5-15 mÜ/mL'dir. Besin alımında, plazma insülin konsantrasyonu 8-10 dakika sonra yükselmeye başlar ve 30-45 dakika içinde doruk düzeye erişir. Bunu plazma düzeyindeki postprandiyal (yemek-sonrası) hızlı düşme izler ve sonra glisemi 90-120 dakika içinde başlangıçtaki düzeye döner (41).

İnsanda pankreasta depo edilmiş total insülin miktarı yaklaşık 10 mg kadardır. Salgılanma kinetiği açısından, beta hücrelerinde insülinin daha kolay salıverilen ufak bir havuz ve daha zor salıverilen büyük bir havuz halinde bulunduğu ileri sürülmüştür. Pankreasın bazal (aç karna olduğu gibi uyarısız durumda) salgılanma hızının 1 Ü (yaklaşık 40microgram)/saat olduğu kestirilmiştir. Bu miktarın yaklaşık yarısı, insülinin en önemli etki yerlerinden birini oluşturan karaciğerde, portal kan içinde ilk geçiş sırasında tutulur. Dolayısıyla posthepatik salgılama hızı yukarıdaki değerin yarısı kadardır (0,5 Ü/saat). Bazal durumda portal kandaki konsantrasyonu 50-100 mÜ (2-4 ng)/mL veya yaklaşık 0,1 nM'dır. Günde pankreastan salgılanan toplam insülin miktarı yaklaşık 2 mg (50 Ü) kadardır (41).

Beta hücrelerinin doğal uyaranı, alınan besinlerdir. Besin öğeleri içinde beta hücrelerinin en duyarlı olduğu uyaran glukozdur. Bu hücrelerin membranı üzerinde glukoza özgü reseptörler(glukoreseptörler) bulunur. Ayrıca, glukozun, membranın dış yüzünden iç yüzüne taşınmasını sağlayan GLUT-2 bulunur. Tip2 diyabetlilerde beta hücrelerinde GLUT-2 miktarı azalır. Beta hücresi içine giren glukozun yaptığı insülin salgılanması bifaziktir. Glukoreseptörler kalsiyum kanallarını açarak bu kanallardan hücre içine giren Ca^{2+} un aracılığı ile glukoza bağlı hızlı salıverilmesini başlatırlar. Salıverilmesinin bu başlangıç dönemi kısa sürer. Salıverilme hızı bunun ardından azalır; fakat daha sonra hızda uzun süreli yükselme olur. Glukozun yaptığı salıverilmenin bu ikinci döneminde beta hücrelerinin içine giren glukozdan, glukokinazın yardımıyla oluşan metabolitler rol oynarlar. Glukokinaz, beta hücrelerinin insülin salgılanmasını düzenleyen anahtar enzimdir ve glukoz sensörü gibi çalışır. Bu dönemde insülinin sentez hızı da artmıştır. Başlangıç döneminde, sadece depolanmış insülin salıverildiği halde, ikinci dönemde hem depolanmış hem de yeni sentez edilmiş insülin salıverilir. Hücrede metabolize edilmeyen D-dezoksiglukoz ve D-mannuloheptoz, glukozun hücre içindeki fosforilasyonunu ve onun yaptığı insülin salıverilmesini inhibe ederler. Ksilitol adlı bir madde yapıca glukoza benzemez, fakat onun gibi heksoz monofosfat şantına girerek metabolize edilir ve insülin salıverilmesini artırır. Glukozdan beta hücresi içinde oluşan metabolitler, insülin salgılatan etkenlerin etkilerini potansiyalize ederler (41).

Glukozun yaptığı bifazik insülin salgılanmasının ikinci fazına, membranda fosfoinozitid hidrolizinin artması ile protein kinaz C'nın aktivasyonu kısmen aracılık eder. Fosfoinozitid hidrolizi, oluşturduğu inositol trifosfat ($IP_{3)}$ ile hücre içindeki depolardan kalsiyum salıverilmesini artırarak Ca^{2+} aracılığı ile de etkili olur. Ayrıca, beta hücrelerinde glukozun metabolize edilmesi (glikoliz) intraselüler ATP düzeyini yükseltir; o da ATP ye duyarlı K^+ kanallarını kapatarak hücrede depolarizasyona neden olur ve depolarizasyon membrandaki voltaja bağımlı kalsiyum kanallarını açarak dışarıdan içeri giren Ca^{2+} aracılığı ile insülin salgılanmasını artırır. Bu olay, ikinci fazdaki insülin salıverilmesinin diğer bir mekanizmasını teşkil eder. Söz konusu kanallar üzerinde sülfonilüre türevi ilaçların yüksek afinite ile bağlandığı sülfonilüre reseptörleri vardır (41).

2.2.2. İnsülin Salıverilmesinin Düzenlenmesi

Pankreas beta hücrelerinden insülinin salıverilmesi çok faktörlü karmaşık nitelikte bir kontrol altındadır. Salıverilmeyi düzenleyen başlıca faktörler aşağıda belirtilmişlerdir.

1. Besin öğeleri (substratlar):

Bunlar yemek sırasında insülinin salıverilmesini düzenleyen başlıca etkenleri oluştururlar. Aşağıda belirtilen üç besin öğesi de insülin salıverilmesini artırır;

A) Karbonhidratlar: glukoz, fruktoz ve mannoz insülin salgılanması üzerine etkili yegane şekerlerdir.

B) Aminoasitler: proteinlerin sindirilmesi sonucu aminoasidlerin hepsi az veya çok insülin salıverilmesini artırırlar.

C) Yağ asidleri: yağlı besinlerin sindirimi sonucu oluşan veya intravenöz (i.v.) infüzyonla verilen yağ asitleri insülin salıverilmesini artırırlar.

2. Mide-barsak hormonları: besin alınmaya başlanılması ve daha sonra barsakta besinin mide-barsak kanalı içinde ulaşması ve besin maddelerinin oradan absorbe edilmesi, mide ve barsak mukozasından barsak hormanları (“gut hormones”) adı verilen bir dizi peptid hormonun kan dolaşımına salıverilmesine neden olur. Bu hormanlar kısmen direkt etkileri ile ve genellikle de glukozun insülin salıverilmesi üzerindeki uyarıcı etkisini artırmak (amplifiye etmek) suretiyle, besin alınmasına paralel olarak pankreas beta-hücrelerinden insülin salgılanmasını artırmaya başlarlar.

Yemek yemeğe başladıktan hemen sonra daha glukoz oluşup glisemi yükselmeye başlamadan önce inkretinler adıverilen barsak hormonları salıverilmeye başlar. İnsülin salgılanmasında inkretinlerin ve diğer barsak hormonlarının rol oynadığı 1930’larda ağızdan verilen glukozun, intravenöz adı verilen aynı miktarda glukoza göre daha fazla insülin salgıladığının gözlenmesiyle anlaşılmıştır. İnkretinler arasında iki hormon iyice tanımlanmıştır. Bunlardan biri glukagon-benzeri peptid-1 (GBP-1/GLP-1,glucagon-like peptide-1) ve diğeri glukoza-bağımlı insülinotropik peptid’dir. Bu iki hormon biryandan insülin salgılanmasını artırırken öte yandan glukagon salgılanmasını inhibe eder. Ayrıca iştahı azaltarak besin alımını azaltmaya çalışırlar ve mide boşalmasını yavaşlatarak besin maddelerinin kana geçmesini yavaşlatırlar (41).

Besin alınması ve besin sindirilmesi sırasında salgılanan diğer barsak hormonları gastrin, sekretin, kolesistokinin, vazoaktif inestinal polipeptid (VIP) ve enteroglukagon'dur. Bunların çoğu mide-barsak kanalında sindirim olayının düzenlenmesiyle görevlidir.

3. Glukagon: karbonhidrat metabolizmasının düzenlenmesinde insülinle birlikte en önemli rol oynayan pankreas hormonudur. Bu fonksiyonunu gerek karbonhidrat metabolizması üzerindeki direkt etkisiyle ve gerekse insülin salgılanmasını artırmak suretiyle yapar.

4. Diğer hormonlar: aşağıda sayılan diğer hormonlar beta hücrelerinde salgılanmayı, plazmadaki substrat düzeyinin değiştirmek suretiyle dolaylı olarak etkilerler. Bu hormonlar büyüme hormonu ve somatomedinler, kortizol, estrojenler, projesteron ve somatomatropinler'dir.

5. Sinirsel düzenleme: sinirsel düzenleme yemekler arasında kalan süre içerisinde aç kalma (starvazyon) durumunda, ayrıca çevrede değişikliklere ve stres durumlarına verilen yanıtlar sırasında insülin salgılanmasının ve dolayısıyla gliseminin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Sempatik sistemin insülin salıverilmesi üzerinde dual etki yapar. Sempatoadrenal hiperaktivitenin egemen etkisi, insülin salgılanmasının inhibisyonudur. Vagus stimülasyonu insülin salgılanmasını artırır ve bu etki atropin ile bloke edilir. Yemenin "sefalik" döneminde insülin salgılanmasının artması, hipotalamus aracılığı ile vagal tonusun artmasına bağlıdır.

Hipotalamus, insülin salgılanması üzerinde etkili sempatik ve parasempatik sinirlerin, koşullara göre dengeli etkinlik göstermelerini sağlayan önemli bir yapıdır. Ventrolateral hipotalamusun stimülasyonu insülin salgılanmasını artırır, ventromediyal bölümün stimülasyonu ise salgılanmayı inhibe eder.

6. Diğer etkenler: Somatostatin, adacıkların D (delta) hücrelerinden salgılanır ve gerek insülin ve gerekse glukagon ve panreatik polipeptidin salgılanmasını güçlü bir şekilde inhibe eder. Pankreas Langerhans adacıklarında varlığı gösterilen dopamin ve serotonin, insülin salgılanmasını azaltırlar. Prostaglandinler azaltıcı veya çoğaltıcı etkinlik gösterirler.

Adacık hücrelerinin salgıladığı diğer bir madde adacık amiloid polipeptidi (IAPP) dir. 37 aminoasid rezidülü olan bu madde beta-hücrelerince salgılanır ve glukoz metabolizması üzerinde insülin karşıtı etki yapar (41).

Sağlıklı bireylerde, insülin sekresyonu bazal ve uyarılmış olarak ikiye ayrılabilir. Bazal insülin; yemekler arasında ve gece boyunca, yetişkinlerde ortalama 0.5-1 U/saat hızında salgılanır ve 5-15 μU/mL serum konsantrasyonu sağlar. Uyarılmış insülin sekresyonu yemek alımı sonucu, öğünlerin hemen öncesinden 30 dakika sonrasına kadar gerçekleşir, 60-80 μU/mL insülin konsantrasyonu sağlar ve 2-4 saat içinde serum insülin konsantrasyonları bazal düzeye döner (43).

Hızlı, orta ve uzun etkili insülin preparatlarının farmakokinetik özellikleri, fizyolojik insülin sekresyonuna benzer etki ile normogliseminin sağlanmasını son derece zorlaştırmaktadır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. İnsülin preparatlarının etki ve özellikleri

İnsülin Tipi	**Etki Başlangıcı (saat)**	**Tepe Etki (saat)**	**Etki Süresi (saat)**	**Maksimum Etki(saat)**
Regular	0,5-1	2-3	3-6	4-6
NPH	2-4	4-10	14-16	16-18
Lente	3-4	4-12	12-18	16-20
Ultralente	6-10	Doza bağlı değişken	18-20	20-30

İdeal bir kısa etkili insülin analoğunda olması gereken özellikler şunlardır:

1. Etkisi enjeksiyonu takiben 1 saat içinde başlamalı, etki süresi 4 saatten kısa olmalı,

2. Tüm hastalarda etkinliği benzer olmalı,

3. Etkinliği, regular insüline en az eşit veya daha fazla olmalı,

4. İmmünojenik olmamalı (antikor oluşumuna yol açmamalı),

5. Kimyasal olarak stabil olmalı,

6. Diğer insülinler ve insülin analogları ile karıştırılabilmelidir (43).

2.3. DIABETES MELLİTUS

2.3.1. Tanım

Diabetes mellitus, insülin sekresyonu, insülinin etkisi veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan, özellikle hiperglisemi ile karakterize, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizması bozuklukları ve hızlanmış aterosklerozla birlikte mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarla seyreden kronik, metabolik bir hastalıktır (24). Hastalığın ortak sonucu olan kan şekeri yüksekliği (hiperglisemi) kontrol altına alınamazsa zaman içinde diyabetin kronik komplikasyonları olarak kabul edilen retinopati, nefropati, periferik ve otonom nöropati gibi mikrovasküler düzeydeki problemlerden kaynaklanan sorunlara yol açar. Diyabetin varlığı, ayrıca diyabete özgü olmayan koroner kalp hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar ve periferik damar hastalıkları gibi makrovasküler sorunların daha erken yaşlarda ortaya çıkmasına ve daha agresif seyretmesine de neden olabilir. Böylece diyabet, hastaların yaşam kalitesini düşürdüğü gibi yaşam süresini de kısaltabilir (48).

Diyabet hastalığının kliniğinde sık görülen belirtiler; ağız kuruluğu, çok su içme, sık idrara çıkma, açlık hissinin fazla olması ve çok yemek yemedir. Açlık hissi, insülin yetersizliğinden dolayı hücrelere yeterli glikoz giremediği için oluşmaktadır. İnsülinin yokluğu veya etkisizliği sonucu, alınan besin hücre içine girerek enerjiye dönüşemediğinden açlık hissi devam etmektedir. Bunun dışında halsizlik, yorgunluk (hücrelerdeki enerji yetersizliği hücre fonksiyonlarında yavaşlama ve azalmaya yol açmakta, bu durum genel vücut gücünde düşmeye neden olmaktadır. Zayıflama, bulanık görme, ciltteki yara ve kesiklerin geç iyileşmesi gibi belirtiler de görülmektedir (25).

2.3.2. Tarihçe

DM, antik çağlardan beri ciddi bir sağlık problemi olarak addedilmiştir. Diyabet ile ilgili en eski kayıtlar Milad'dan önce (M.Ö.) 1550 yıllarında Mısır'da yazılmış Ebers papirüsünde bulunmuştur. Bu papirüste diyabet hastalığına benzer, çok idrara çıkma ile seyreden bir durumdan bahsedilmektedir. Hindular'da Ayur Veda'da böcek, sinek ve karıncaların bazı insanların idrarının yapıldığı yere toplandığını kaydetmişlerdir (26).

Günümüz tıp literatüründe kullanılan Diabetes ve Mellitus kelimeleri Yunanca "akıp gitmek" anlamına gelen dia+betes ve bal kadar tatlı anlamına gelen mellitus

kelimelerinden türetilmiştir. Diabetes kelimesi ilk kez Anadolu topraklarında, Kapadokya'da Milad'dan sonra (M.S.) 2. yüzyılda Arateus tarafından kullanılmıştır. Arateus, diyabet hastalığını idrar miktarında artma, aşırı susama ve kilo kaybının olduğu bir hastalık olarak tanımlamıştır (49).

2.3.3 Epidemiyoloji

Diyabet sinsi seyirli bir hastalık olduğundan prevalansının saptanması da güçlük yaratmaktadır. Hemen hemen tüm toplumlarda görülmesine karsın diyabet prevalansı ırka bağlı olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir. Papua Yeni Gine'deki kabilelerde, Eskimolar arasında veya Çin'de % 1 olan prevalans, Avustralya yerlilerinde, Naurululara veya Arizona'daki Pima Kızılderililerinde %20-45'e kadar çıkabilmektedir (50). Bugün yeryüzünde diyabet prevalansı en yüksek topluluk Pima yerlileridir. Aksine, Alaska yöresi Eskimolarında prevalans oldukça düşüktür. Hastalık ilk yıllarda genellikle asemptomatik seyrettiğinden, gelişmiş ülkelerde bile diyabetiklerin bilinmeyen diyabetlilere oranı 2/1'dir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO, World Health Organization)'nün yaptığı çalışmalara göre 100 milyon civarındaki diyabetli sayısının önümüzdeki on yılın sonunda 200 milyona ve 21. yüzyılın baslarında da 300 milyona ulaşması beklenmektedir (51).

Bölgelere göre 2003 yılındaki diyabet prevalansları incelendiğinde; Kuzey Amerika' da % 7,9, Batı Pasifik Bölgesi' nde % 3,1, Doğu Akdeniz ve Ortadoğu' da % 7,0 ve Avrupa' da % 7,8 civarındadır ve 2025 yılındaki diyabet prevalanslarının Kuzey

Amerika' da % 9,7, Batı Pasifik Bölgesi' nde % 4,3, Doğu Akdeniz ve Ortadoğu' da %

8,0 ve Avrupa' da % 9,1 civarında olacağı bildirilmiştir (52).

2.3.4. Tanı

Amerikan Diyabet Birliği'ne (ADA) göre diyabet tanısı, açlık kan sekerinin venöz plazmada ardışık en az iki ölçümde 126 mg/dl veya üzerinde olması ile konur. Ayrıca günün herhangi bir saatinde açlık ve tokluk durumuna bakılmaksızın venöz plazmada ölçülen kan sekerinin 200 mg/dl'nin üzerinde olması ve buna polidipsi, poliüri, polifaji, kilo kaybı gibi diyabet semptomlarının eşlik etmesi de tanı koymak için yeterlidir (53). (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Diabetes mellitus ve glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarında tanı kriterleri (54)

Diabetes mellitus	
Rasgele glukoz (+ diyabet semptomları)	≥**200**
APG (en az 8 saatlik açlığı takiben)	≥**126**
OGTT'de 2. st PG	≥**200**
Bozulmuş Glukoz Toleransı (IGT)	
OGTT'de 2. st PG	**140-199**
Bozulmuş Açlık Glukozu (IFG) (**)	
APG (en az 8 saatlik açlığı takiben)	**100-125**

(*) Glisemi venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile 'mg/dl' olarak ölçülür.
(**) 2006 yılı WHO/IDF Raporunda normal APG kesim noktasının 110 mg/dl ve IFG 110-125 mg/dl olarak korunması benimsenmiştir.
APG: Açlık plazma glukoz düzeyi, **2.st PG:** 2.st plazma glukoz düzeyi, **OGTT:** Oral glukoz tolerans testi, **IGT:** Impaired glucose tolerance, **IFG:** Impaired fasting glucose, **WHO:** Dünya Sağlık Örgütü, **IDF:** Uluslararası Diyabet Federasyonu.

2.3.5. Sınıflama

Özetlenen diyabet sınıflamasında dört klinik tip yer almaktadır. Bunlardan üçü (tip 1 diyabet, tip 2 diyabet ve gestasyonel diabetes mellitus (GDM)) primer, diğeri (spesifik diyabet tipleri) ise sekonder diyabet formları olarak bilinmektedir.

Tablo 2.3 Diabetes mellitusun etiyolojik sınıflaması (54)

I. Tip 1 diyabet (Genellikle mutlak insülin noksanlığına sebep olan β-hücre yıkımı vardır.)

A. İmmün aracılıklı

B. İdyopatik

II. Tip 2 diyabet (İnsülin direnci zemininde ilerleyici insülin sekresyon defekti ile karakterizedir.)

III. Gestasyonel diabetes mellitus (GDM) (Gebelik sırasında ortaya çıkan ve genellikle doğumla birlikte düzelen diyabet.)

IV. Diğer spesifik diyabet tipleri

A. **ß-hücre fonksiyonlarının genetik defekti** (monogenik diyabet formları)
- 20. Kromozom , HNF-4α (MODY1)
- 7. Kromozom, Glukokinaz (MODY2)
- 12. Kromozom, HNF-1α (MODY3)
- 13. Kromozom, IPF-1 (MODY4)
- 17. Kromozom, HNF-1ß (MODY5)
- 2. Kromozom, NeuroD1 (MODY6)
- Mitokondriyal DNA
- Neonatal diyabet (Örn. Kir6.2 mutasyonuna bağlı diyabet)
- Diğerleri

B. **İnsülinin etkisindeki genetik defektler**
- Leprechaunism
- Lipoatrofik diyabet
- Rabson-Mendenhall sendr.
- Tip A insülin direnci
- Diğerleri

C. **Pankreasın ekzokrin doku hastalıkları**
- Fibrokalkulöz pankreatopati
- Hemokromatoz
- Kistik fibroz
- Neoplazi
- Pankreatit
- Travma/pankreatektomi
- Diğerleri

D. **Endokrinopatiler**
- Akromegali
- Aldosteronoma
- Cushing sendr.
- Feokromositoma,
- Glukagonoma
- Hipertiroidi
- Somatostatinoma
- Diğerleri

E. **İlaç veya kimyasal ajanlar**
- Atipik anti-psikotikler
- Anti-viral ilaçlar
- ß-adrenerjik agonistler
- Diazoksid
- Fenitoin
- Glukokortikoidler
- α-İnterferon
- Nikotinik asit
- Pentamidin
- Proteaz inhibitörleri
- Tiyazid grubu diüretilkler
- Tiroid hormonu
- Vacor
- Diğerleri

G. **İmmun aracılıklı nadir diyabet formları**
- Anti–insülin reseptör antikorları
- Stiff-man sendr.
- Diğerleri

H. **Diyabetle ilişkili genetik sendromlar** (Monogenik diyabet formları)
- Alström sendr.
- Down sendr.
- Friedreich tipi ataksi
- Huntington korea
- Klinefelter sendr.
- Laurence-Moon-Biedl sendr.
- Miyotonik distrofi
- Porfiria
- Prader-Willi sendr.
- Turner sendr.
- Wolfram (DIDMOAD) sendr.
- Diğerleri

IV. Diğer spesifik diyabet tipleri

HNF-1α: Hepatosit nükleer faktör-1α, **MODY1-6:** Gençlerde görülen erişkin tipi diyabet formları 1-6 (maturity onset diabetes of the young 1-6), **HNF-4α** Hepatosit nükleer faktör-4α, **IPF-1:** İnsülin promotör faktör-1, **HNF-1β**: Hepatosit nükleer faktör-1β, **NeuroD1:** Nörojenik diferansiyasyon 1, **DNA:** Deoksi-ribonükleik asit, **DIDMOAD sendr.**: Diabetes insipidus, diabetes mellitus, optik atrofi ve sağırlık (deafness) ile seyreden sendrom (Wolfram sendromu).

2.3.6. Fizyopatoloji/Etiyoloji

2.3.6.1. Tip1 DM

Diyabetik hastaların %10-20'sini oluşturan Tip 1 Diabetes Mellitus, pankreas beta hücresinin selektif ve ilerleyici harabiyetine bağlı tüm diyabet hastalarını kapsamaktadır.

Tip 1 Diabetes Mellitus'un etiyolojisinde genetik eğilim ve çevresel faktörler sorumlu tutulmaktadır. Hastalık genellikle çocukluk ve adolesan yaşta başlamaktadır. Vakaların çoğunluğu tanı anında 30 yaşın altında bulunmaktadır (55).

Tip 1A diyabet: Genetik yatkınlığı (riskli doku grupları) bulunan kişilerde çevresel tetikleyici faktörlerin (virüsler, toksinler, emosyonel stres) etkisiyle otoimmunite tetiklenir ve ilerleyici β-hücre hasarı başlar. β-hücre rezervi %80-90 oranında azaldığı zaman klinik diyabet semptomları ortaya çıkar. Tip 1A diyabette başlangıçta kanda adacık otoantikorları pozitif bulunur.

Tip 1B diyabet: Otoimmunite dışındaki bazı nedenlere bağlı mutlak insülin eksikliği sonucu gelişir. Kanda adacık otoantikorları bulunmaz (54).

2.3.6.2. Tip2 DM

Her ne kadar Tip 2 diyabetin klinik belirtileri çoğunlukla 40 yaşın üzerinde ortaya çıksa da ve artan vücut ağırlığı ile ilişkili olsa da, genetik faktörlerin patofizyolojisinde baskın rol oynadığı görülmektedir. İkizlerde çok yüksek bulunan uyum oranı, farklı sosyal çevrelerde büyütülseler bile, ikizlerden birinde Tip 2 diyabet görüldüğünde diğerinde de sonraki yıllarda klinik olarak belirgin Tip 2 diyabet gelişme olasılığının çok yüksek olduğu anlamına gelmektedir. Genetik predispozisyon bu nedenle majör bir belirteçtir ve diyabetik fenotipin oluşmasında çevresel faktörlerin küçük bir etkisi olabilir. Bununla birlikte, yaşam tarzı ve diğer sosyal değişikliklerin oldukça büyük bir klinik önemi vardır. Bu faktörlerin hastalığın başlangıcı ve olası koruyucu stratejilerin uygulanma şansı üzerinde güçlü etkileri vardır.

Glikoz homeostazisi göz önüne alındığında, klinik açıdan aşikar tip 2 diyabet, tipik olarak aşağıdaki sıra ile gelişen ve hastalık sürecinin farklı evrelerini temsil etmesi olası üç patofizyolojik fenomen ile karakterizedir:

- İnsülin duyarlılığında azalma veya insülin direnci
- Göreceli insülin yetersizliği ile birlikte pankreas beta-hücrelerinin fonksiyon bozukluğu
- Karaciğerde glikoz üretiminde artış (56).

Tip 2 diyabette primer patolojinin beta hücre fonksiyon bozukluğu veya insülin direnci olmasında yaş, etnik farklılıklar, obezite ve diyabetin heterojenitesinin kısmen de olsa belirleyici olduğu ileri sürülmektedir (57).

Son yıllarda bunlara eklenen dördüncü bir görüş, primer defektin hiperinsülinemi olduğu ve insülin direncinin hiperinsülinemiye bağlı olarak oluştuğu hipotezidir. Hiperinsülineminin nonoksidatif glikoz kullanımını veya glikojen sentezini bozarak tıpkı Tip 2 diyabette olduğu gibi insülin direncine yol açabileceği ileri sürülmektedir (58).

2.3.7. Risk Faktörleri

TİP 2 DM için risk faktörleri:

- Ailede DM öyküsü.
- Beden kitle indeksi (BKİ)' si 27 kg/m^2 üzeri olan ve bel/kalça oranı 1.0'den büyük olan obez ve/veya android obezler
- Kırsal alandan kentsel alana göç edenler veya aktif bir yaşamdan pasif bir yaşama dönmüş kişiler
- Metabolik (sendrom X) sendromlu kişiler
- Diyabet prevalansı yüksek etnik gruplara mensup kişiler
- Yaş (45 yaş ve üstü)
- Öncesinde tespit edilmiş IFG(bozulmuş açlık glisemisi) veya IGT(bozulmuş glukoz toleransı) olması
- Hipertansiyon
- Hiperlipidemi (HDL <35 mg/dl, ve/veya (TG) >250 mg/dl)
- Gestasyonel DM veya 4000 gramdan daha ağır bebek doğurmuş olmak

- Sekonder diyabete yol açabilecek hastalığı olanlar
- Diyabetojenik ilaç kullananlar
- Glikozürisi bulunan kişiler
- Polikistik over sendromu olan kadınlar
- Şizofreni hastaları ve atipik antipsikotik ilaç kullanan kişiler
- Koroner, periferik veya serebral vasküler hastalığı bulunanlar (54,59,60)

2.3.8. Tedavi Yaklaşımları

Diyabet, bireylerin ve ailelerin yaşamlarının tüm yönlerini etkileyen, zorunlu yaşam biçimi değişiklikleri ve körlük, koroner arter hastalığı (KAH), böbrek yetmezliği, ayak yaraları gibi komplikasyonlar ile yaşam kalitesini azaltan, bu etkileri ile yaşam boyu süren bir hastalıktır (61).

Dünya Sağlık Örgütü ve Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) Tarafından Düzenlenen Uluslararası Diyabet Programı Toplantıları (SVD) nın diyabetik bireyler için belirlediği genel hedefler;

- Sağlıkta süreklilik gösteren iyileşme, nitelik ve nicelik olarak normal beklentilere yaklaşan bir yaşamın sağlanması,
- Araştırma çalışmalarını yoğunlaştırarak diyabet ve komplikasyonlarının önlenmesidir (62).

Diabetes Mellitus tedavisinde basamaklı tedavi uygulanır. Bunlar hasta eğitimi, egzersiz, diyet, oral antidiyabetikler ve insülin seklinde sınıflandırılabilir.

2.3.8.1 Hasta Eğitimi

Diyabetik hasta eğitiminin amaçları; hastanın kendisini daha iyi hissetmesini sağlamak, hastalığın daha iyi kontrolü ile hastalığın yan etkilerinden korunmak, tedavi giderlerini azaltmak ve hastanın yeni teknolojiyi kullanabilmesini kolaylaştırmaktır. Bu amaçlarla hasta eğitimi, hastanın diyabete yönelik bilgi ve deneyimini artırmak için sürdürülen çabaların tümünü içermektedir (63).

Diyabet, Avrupa'da körlüğe neden olan hastalıklar içinde birinci sıradadır. Bacak kesilmelerinin yarısından fazlasının sorumlusudur ve böbrek yetersizliğinin en önemli sebeplerinden birisidir. Eğitim programına alınan diyabetlilerde hastalığın yol açtığı

diğer organ hasarları %80, diyabetik ayak sorunlarından dolayı bacak, ayak kesilmeleri %50, acil tedavi gerektiren diyabet komaları %70 oranda daha az görülür (64).

- Diyabetik hasta eğitimi; hastaya özel, onun benimseyip uygulayabileceği şekilde düzenlenmeli, güncel ve sürekli olmalıdır: Çünkü; Diyabet yaşam boyu süren ilerleyici bir hastalıktır.
- İnsanlar öğrendiklerini unutabilirler.
- İlk verilen eğitim yeterli olmayabilir.
- Eğitim verildiğinde hasta eğitime açık olmayabilir.
- Hastanın hedefleri hekimin hedeflerinden farklı olabilir.
- Bilinenler yapılanlardan farklıdır. Eğitimin etkisi zamanla azalabilir.
- Zaman içinde verilen bilgiler değerini kaybedebilir, görüşler değişebilir, teknik gelişmeler artabilir (63).

Hastaya eğitim verilmesi ve danışmanlık yapılması gerektiğinde üç ana konu önemli bulunmaktadır. Bunlardan birincisi; hastalık ve hastalığın seyri konusunda hastanın bilgilendirilmesi gerekmektedir. İkincisi; hastalığın komplikasyonlarla seyrettiği ve bunların önlenmesinde uzun süreli kan glikoz kontrolünün önemli olduğunun vurgulanması gerekmektedir. Üçüncüsü ise, hastaların ve yakınlarının eğitime aktif olarak katılmaları sağlanmalı ve sorunları, yakınmalarını aktarma biçimleri dikkatle dinlenmelidir. Hastaların deneyimlerini aktarmalarına olanak verilmeli ve gerekiyorsa psikolojik yönden destek sağlanması gerekmektedir (63).

2.3.8.2. Egzersiz

Diyabette egzersiz,

- Mevcut komplikasyonlara adapte edilerek planlanmış düzenli fizik aktivite tüm diyabetli hastalara önerilir.
- Böyle bir program genel sağlık yararları ve kilo kaybını kolaylaştırması bakımından önemlidir.
- Düzenli fiziksel aktivite insülin direncini azaltır ve yüksek riskli kişilerde tip 2 diyabeti önler (54).

Egzersiz, vücut hücrelerinin insüline duyarlılığını, insülin reseptör sayısını, reseptörlerin duyarlılığını, hücrelerin glikozu depolama yeteneğini artırır. Karaciğer tarafından oluşturulan glikozu ve vücut yağını azaltır, adale kütlesini artırır. Kolesterol, trigliserid seviyelerini ve kan basıncını düşürür (65).

2.3.8.3. Diyet

Kan şekeri kontrolünü sağlamak için belirli besinlerin yenilmemesi ile ilişkili önerilere ilk kez Mısır Papirusları'nda rastlanmış ve günümüze kadar bilimsel çalışmalarla desteklenen çeşitli öneriler "Tıbbi Beslenme Tedavisi (TBT)" adı altında diyabet tedavisindeki yerini almıştır (66).

Tıbbi beslenme tedavisinin hedefleri, komplikasyon riskini azaltacak veya önleyecek düzeyde glisemi kontrolünü elde etmek, kardiyovasküler hastalık riskini azaltacak düzeyde lipit ve lipoprotein profilini sağlamak, vasküler hastalık riskini azaltacak hedef kan basıncına erişmektir. Böylece dislipidemi, hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar, nefropati, nöropati gibi kronik komplikasyonları önlemek veya tedavi etmek, sağlıklı bir yasam için uygun besin seçimini ve fiziksel aktivite düzeyini sağlamak seklinde olmalıdır (67).

Amerikan Diyetisyenler Birliği ve ADA, tip 1 ve tip 2 diyabetlilerin tanıyı izleyen ilk bir ay içinde, GDM olgularının ise tanıyı izleyen ilk hafta içinde mümkünse diyabet ekibinde bulunan bir diyetisyene sevk edilmesini ve tıbbi beslenme tedavisi için 2-3 vizitte toplam 2.5–3 saat ayrılması gerektiğini bildirmektedir (54).

Tıbbi beslenme tedavisi,

- Prediyabetli veya diyabetli hastalar bireyselleştirilmiş TBT almalıdır. Bu tedavi diplomalı bir diyetisyen tarafından en iyi biçimde sağlanır.
- Beslenme eğitimi prediyabetli veya diyabetli kişinin bireysel gereksinimlere, gerekli değişiklikleri yapabilirlik durumuna, değişime istekliliğine duyarlı olmalıdır.
- TBT, A1C düzeylerinde, Tip 1 diyabetlilerde yaklaşık %1, tip 2 diyabetlilerde %1-2, LDL kolesterol düzeylerinde 15-25 mg/dl azalma sağlar (54).

2.3.8.4. Oral Antidiyabetikler

Tip II diyabetli hastalarda, hiperglisemi ve metabolik bozukluk diyet ve egzersiz tedavileri ile kontrol altına alınamadığında karbonhidrat metabolizmasını düzeltebilmek amacıyla çeşitli oral ajanlar kullanılmaktadır. Tip II diyabetli hastaların büyük bir çoğunluğu oral hipoglisemik ajanlarla ek tedaviye gereksinim duymaktadır (68).

İnsülin'in diyabet tedavisindeki güçlü etkinliğine karşın ağız yoluyla alınamaması önemli bir sakınca oluşturur. Bu nedenle oral yoldan etkili olan antidiyabetikler ilaçların bulunması için uzun süre araştırmalar yapılmıştır. İlk olarak 1920'lerde bitkisel kaynaklı bir alkaloid olan dekametilendiguanid (Synthalin A) maddesi bulunmuştur. Bu madde kan glukoz düzeyini düşürmesi yanında belirgin hepatotoksik etki gösterdiğinden terkedilmiştir. Daha sonra bulunan bir alkaloid olan hipoglisin A maddesi de hipoglisemi oluşturmasına karşın toksik etkilerinin fazlalığı nedeniyle revaç bulmamıştır. 1940'ların başında tifo tedavisi için kullanılan bir sülfonamid türevinin hastalarda hipoglisemi oluşturduğu gözlemlenmiştir; bu maddenin köpeklerde belirgin bir hipoglisemi oluşturduğu ve panreatektomiden sonra bu etkinin ortadan kalktığı bildirilmiştir. Bu gözlemden, 1955 yılına kadar diyabet tedavisinde yararlanılmamıştır. Bu tarihte, karbutamid adlı sülfonilüre türevi ilaç tedaviye girmiş ve bunu daha az toksik olan diğer türevler izlemiştir. Daha sonra fenformin ve diğer biguanid türevleri tedaviye girmiştir. Bunu, 1990'larda sülfonilüreler gibi insülin salgılatıcı (sekretagog) olan, daha kısa etkili meglitinidler (repaglinid ve nateglinid) ve biguanidler gibi insüline duyarlaştırıcı olan tiazolidindionlar (rosiglitazon ve pioglitazon) izlemiştir. Nihayet 2000'li yılların başında önceki ilaçlara göre farklı bir mekanizma ile antidiyabetik etki yapan, insülin salgılatıcı ve glukagon salgılanmasını azaltıcı barsak hormonları olan ikretin-mimetik antidiyabetik ilaçlar tıbbi kullanıma girmiştir (41).

A. İnsülin Salgılatıcılar (sekretagoglar)

<u>Sülfonilüre türevi ilaçlar</u>

Sülfonilürelerin beta hücrelerine Ca^{2+} girişini artırmaları, onları dolaylı şekilde depolarize etmelerine bağlıdır. Bu hücrelerin membranında bulunan ATP'ye-duyarlı potasyum kanalları, hücre içinde doğal olarak oluşan ATP tarafından inhibe edilir (kapatılır).

Sülfonilüre türevi ilaçlar tedavinin başlangıcında pankreastan insülin salgılanmasını artırmak suretiyle terapötik etki oluştururlar. Bu etkiye toleransın oluştuğu ileri dönemde ise hedef hücrelerin insüline duyarlılığı artırmak suretiyle antidiyabetik etkinlik oluştururlar.

İnsanda kısa süre verildiklerinde, Langerhans adacıklarında alfa hücrelerinden glukagon salgılanmasını ve bu hormonun plazmadaki düzeyini etkilemezler. Uzun süre verildiklerinde ise glukagon salgısını genellikle inhibe ederler. Glukagon salgısında yaptıkları inhibisyon, fazla salgılanan insüline bağlı ikincil bir etki değildir; insülinden bağımsız olarak oluşur. Bu ilaçların pankreastan somatostatin salgılanmasını artırdıkları gösterilmiştir (41).

Meglitinidler

Meglitinid türevi ilaçların farmakolojik etki profili, etki süresinin kısa sürmesi dışında sülfonilürelerinkine benzer. Sülfonilüreler gibi, beta-hücresini sülfonilüre reseptör-1 (SUR1) aracılığı ile etkilerler. Böylece pankreas beta hücrelerinden insülin salgılanmasını artırırlar; salgılama üzerindeki etkilerinin sülfonilürelerininkinden önemli bir farkı, daha kısa sürmesidir (41).

B. İnsüline Duyarlılaştırıcılar

Biguanidler

Etki mekanizmaları sülfonilürelerinkinden farklıdır. Beta hücrelerini etkilemezler ve insülin salgısını artırmazlar. Etkilerinin pankreas dışındaki yapılar üzerinde olduğu sanılmaktadır. İnsülin düzeyini azaltırlar. Etki mekanizmaları kesinlikle bilinmemektedir. Başlıca üç mekanizma ileri sürülmektedir.

i)periferik dokularda insülinin etkinliğini reseptör sonrası düzeyde artırırlar. Anaerobik glikolizi hızlandırmak suretiyle glukoz utilizasyonunu artırırlar. Bunun sonucu laktik asid oluşumunu hızlandırırlar.

ii)ince barsaktan glukoz absorpsiyonunu azaltırlarsa da bunun pratik önemi kuşkuludur.

iii)glukoneojenezi azaltarak karaciğerden glukoz çıkışını azaltırlar; bu etkinin insülini potansiyelize etmeleri sonucu meydana gelmesi olasılığı vardır (41).

Tiazolidindionlar

Hücre düzeyindeki etki mekanizmaları tama olarak henüz aydınlatılamamıştır. Etkili olabilmeleri için ortamda insülin bulunmalı ve ona rezistans gelişmiş olmalıdır. Tiazolidindionlar, insülin hedef hücrelerinde özellikle yağ dokusu hücreleri (adepozitler)'de "peroksizom proliferatörünü aktive eden reseptör-gama adlı aslında bir nükleer transkripsiyon faktörü olan nükleer reseptörlere bağlanarak onu aktive ederler; başka bir değişle bu reseptörlerin agonistidirler (41).

C. İnkretin-mimetikler

Bu grup ilaçlar pankreas beta hücrelerinde insülin salgılanmasını artırırlar ve glukagon salgılanmasını azaltırlar. Midenin boşalmasını geciktirerek besin maddelerinin sindirimini ve barsaktan emilmesini yavaşlatırlar. Ayrıca iştahı azalttıkları için besin alımını azaltma ve kilo kaybı yapma potansiyelleri vardır. Kilo artırmamaları bakımından biguanidlere benzerler.

1. Glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) agonistleri
2. Dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) inhibitörleri (41)

Başlıca insülin salgılatıcı (sekretogog), insülin duyarlılaştırıcı (sensitizer) ve alfa glukozidaz inhibitörleri olarak üç grup oral antidiyabetik (OAD) vardır. Ayrıca yeni geliştirilen ve bir kısmı oral olarak kullanılabilen 'insülinomimetik' ilaçlar da tip 2 diyabet tedavisinde geniş kullanım alanı bulabilecektir (54).

OAD ilaçların kullanımı ile;

- Kan glikoz kontrolü sürekliliğinin sağlanması,
- Yan etkilerin en az olması,
- Kullanılan ilaçlar arasında olumsuz etkileşimin olmaması,
- İnsülin direncinin azaltılması,
- Diyabet komplikasyonlarının ortaya çıkısının veya ilerlemesinin önlenmesi,
- Pankreasın beta hücre fonksiyonlarının korunması hedeflenmektedir (69).

2.3.8.5. İnsülin ve Analogları

Daha iyi glukoz kontrolü sağlamak için, daha hızlı ve daha kısa etki süreli insülin preparatları ile zaman-etki profilleri daha stabil ve biyo etkinlikleri daha az değişken uzun etkili insülin preparatlarına ihtiyaç olduğu görüşü 1990'lı yıllarda belirginleşmiştir. Rekombinant DNA teknolojisinde ilerlemeler, bu yıllardan itibaren, absorbsiyon özellikleri ve biyolojik aktiviteleri fizyolojik insülin salınımına daha çok benzeyen yeni insülin moleküllerinin geliştirilmesine olanak tanımıştır (70).

Kısa etkili insülin analogları

İdeal bir kısa etkili insülin analoğunda olması gereken özellikler şunlardır:

1. Etkisi enjeksiyonu takiben 1 saat içinde başlamalı, etki süresi 4 saatten kısa olmalı,
2. Tüm hastalarda etkinliği benzer olmalı,
3. Etkinliği, regular insüline en az eşit veya daha fazla olmalı,
4. İmmünojenik olmamalı (antikor oluşumuna yol açmamalı),
5. Kimyasal olarak stabil olmalı,
6. Diğer insülinler ve insülin analogları ile karıştırılabilmeli.

Uzun etkili insülin analogları

İdeal bir uzun etkili insülin analoğunda olması gereken özellikler şunlardır:

1. Etkisi yavaş başlamalı, etki süresi en az 24 saat olmalı, günlük tek enjeksiyon şeklinde uygulanmalı,
2. Tüm hastalarda etkinliği benzer olmalı,
3. Etkinliği, insan insülinine en az eşit veya daha fazla olmalı,
4. İmmünojenik olmamalı (antikor oluşumuna yol açmamalı),
5. Kimyasal olarak stabil olmalı,
6. Kısa etkili insülinler ve insülin analogları ile karıştırılabilmeli (70).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. GEREÇLER

Ekstraksiyon ve Aktivite çalışmalarında kullanılan kimyasal madde, sarf malzeme ve cihazlar aşağıda sunulmuştur (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Kullanılan kimyasal madde, sarf malzeme ve cihazlar

	Kimyasal Madde Adı	**Marka**
1	Metanol	Merck
2	Etil-asetat	Merck
3	n-Hekzan	Merck
4	NaCl	Sigma
5	$NaHCO_3$	Sigma
6	KCl	Sigma
7	$MgCl_2$	Sigma
8	HEPES	Sigma
9	$CaCl_2$	Sigma
10	Glukoz	Sigma
11	De-iyonize Su	
12	Rat/Mouse Insulin 96 Well Plate Assay Kit	Linco-ELISA

3.2. BİTKİ MATERYALİ VE EKSTRAKSİYON

Bitki Materyali

Zizyphus jujuba Mill. bitkisi Eylül 2011' de Alanya' dan toplanmıştır. Bitki örneği, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim dalında saklanmıştır. Bitkinin açık havada ve gölgede kurutulmuş yaprakları ve taze meyveleri kullanılmıştır.

Ekstraksiyon

Bitkinin taze meyveleri (100 g) ve bitkinin gölgede kurutulmuş ve toz edilmiş yaprakları ise (100 g) ezilerek sırasıyla her defasında 500 mL *n*-Hekzan, EtOC, MeOH ile 3' er defa 37 °C' de ekstraksiyona tabi tutuldu. Yapraklardan ayrıca %5 su ile infüzyon hazırlandı. Daha sonra süzüntüler alçak basınç altında uçurularak ekstreler yoğunlaştırılarak liyofilizatörde tamamen kurutuldu. Elde edilen ekstre miktarları Tablo 3.2' de verilmiştir.

Tablo 3.2. Drogların ekstre miktarları

Drog	**Ekstre miktarları**
Meyve	n-Hekzan: 1,57 g EtOAc: 2,48 g MeOH:10 g
Yaprak	n-Hekzan: 3.09 g EtOAc: 3.01 g MeOH: 44,43 g İnfüzyon: 1.17 g

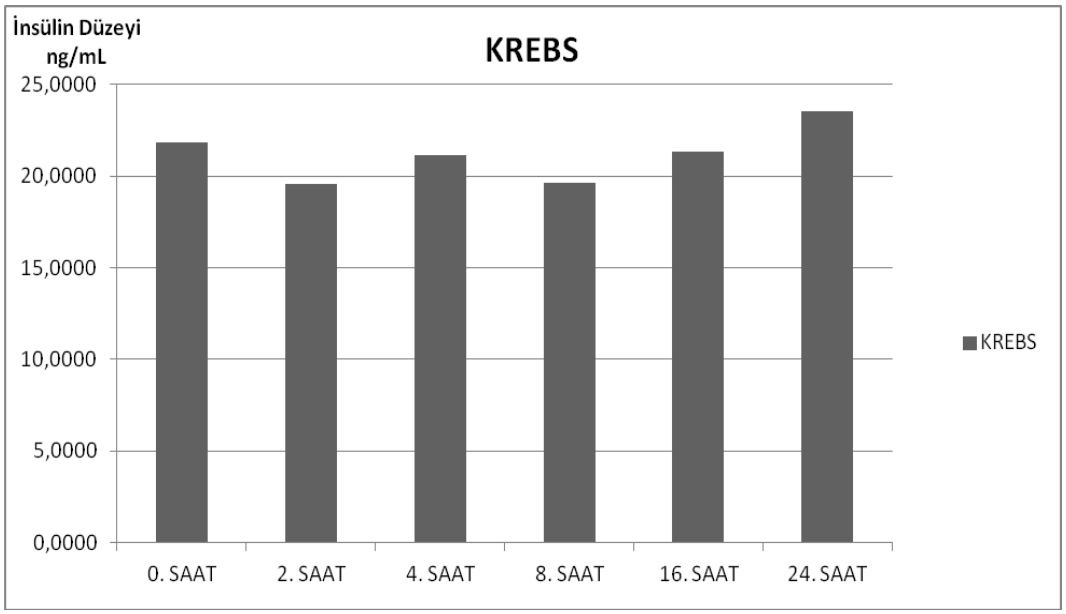
3.3. HÜCRE KÜLTÜR ÇALIŞMALARI

İnsülin sekrete eden pankreatik hücresi olan Beta-TC-6 (ATCC; katalog no:CRL-11506) hücre dizisi, hücrenin yaşam ortamını oluşturan Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM) çözeltisi içerisinde 37°C'de %5 CO_2'li etüv içerisinde inkübe edilerek yaşatıldı ve çoğaltıldı. Hücreler üzerinde gerçekleştirilen bütün deneyler laminar flow altında steril ortamda gerçekleştirildi.

İnsülin Miktar Tayini

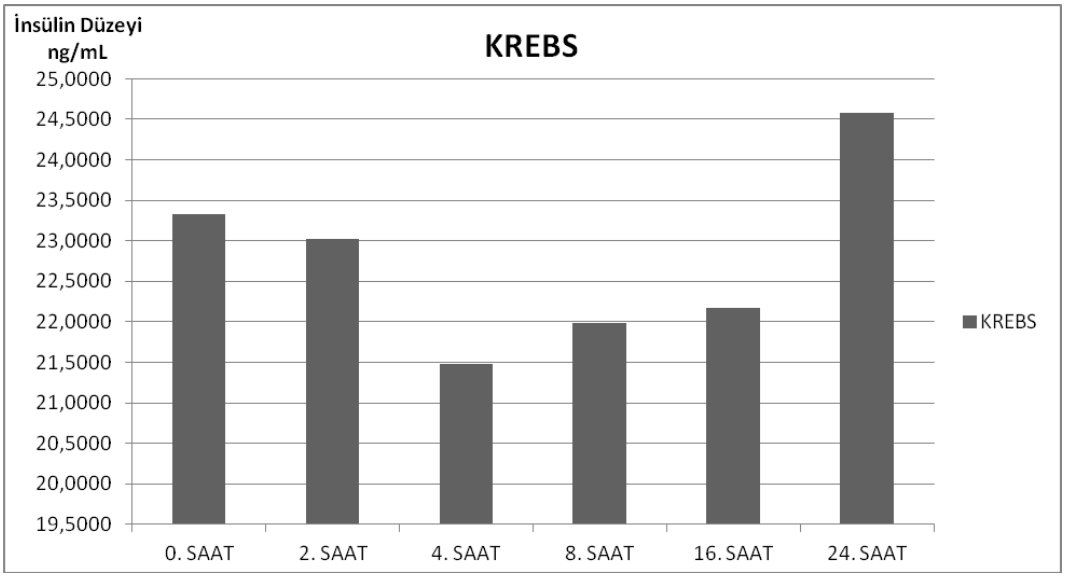
Çoğaltılan hücreler adezif hücreler olması nedeniyle %0.25 (w/v) Tripsin-0.53mM EDTA ile kaldırılarak 24'lük plakalar üzerine $2x10^6$ hücre/kuyucuk olacak şekilde ekim yapıldı. Hücrelerin insülin sekresyonu 11mM glukoz ile tetiklendi ve ekstrelerin 250-500-1000µg/ml dozunda glukozla tetiklenen insülin sekresyonu üzerinde inhibisyon dereceleri değerlendirildi. Pozitif kontrol olarak insülin sekretagogu olan gliklazid (10,100 ve 1000 µg/mL) kullanıldı. İnsülin miktar tayini ticari kit üzerinden (Cat.# EZRMI-13K) kit prosedürüne uygun olarak gerçekleştirildi.

Hücrenin yaşam ortamını oluşturan DMEM çözeltisi içerisindeki glukozun hücrelerin insülin sekresyonunu tetiklememesi için hücreler ekstrelerle muamele edilmeden önce Krebs çözeltisi içerisine alındı ve Krebs çözeltisi içerisindeki insülin salımının stabil halde küşük bir aralıkta seyrettiği gözlendi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Krebs çözeltisi içinde insülin salınımının stabil olarak seyretmesi

Pankreatik beta hücrelerinde insülin sekresyonu 11.1mM glukoz ile tetiklendikten sonra insülin düzeylerindeki artış en fazla 0., 2., ve 24. saatlerde gerçekleşti. O nedenle ekstreler uygulandıktan sonraki sonuçların hepsi bu değerlerin ekstreli değerlerden çıkartılması ile hesaplandı (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. Glukoz ile tetiklenmiş pankreatik beta hücrelerinde krebs çözeltisinin insülin salınımına etkisi

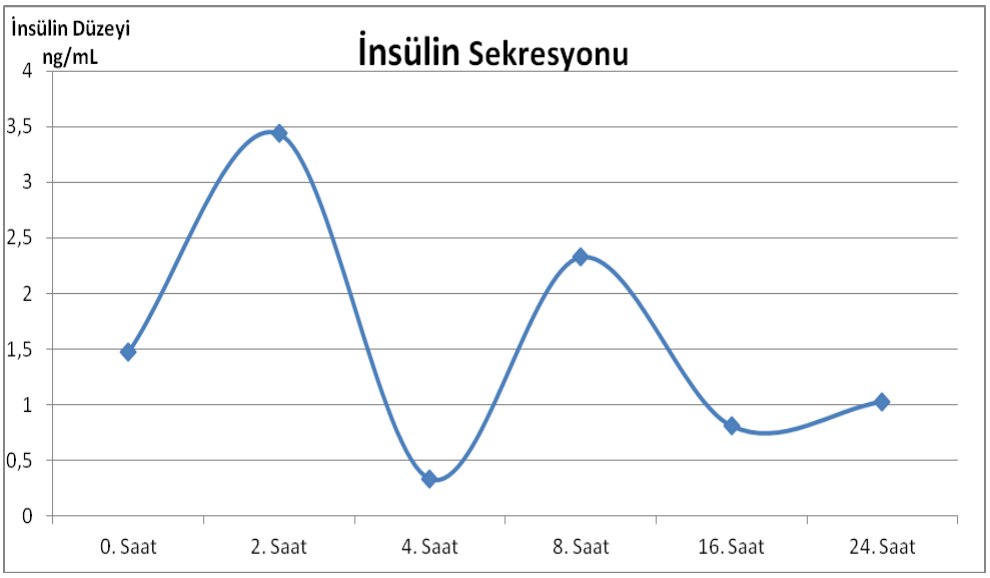
İstatistiksel Analiz

Çalışmada *Zizyphus jujuba* Mill. bitkisinin su, metanol ve etil asetat çözücüleri içerisinde hazırlanan yaprak ve meyve ekstrelerinin insülin sekresyonu üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla bazal insülin sekresyonu ve 11.1mM glukoz ile tetiklenmiş insülin sekresyonu ölçülmüş ve ekstrelerin insülin düzeyleri üzerindeki etkileri bu sonuçların ekstreli sonuçlardan çıkartılması suretiyle hesaplanmıştır. Çalışmada aynı hücre serisinden her bir doz ve ekstre için 3 tekrarlı ölçüm alınmıştır. Elde edilen sonuçlar, 0. saatteki değerlerle karşılaştırılarak 2. 4. 8. 16. ve 24. saatlerdeki insülin sekresyonundaki değişiklikler üzerinden sunulmuştur. Çalışmada SPSS 15.0 istatistik bilgisayar yazılımı kullanılarak gruplararası farklar için One-Way-Anova ve grup içi farklılıklar için Student-t testi kullanılmıştır. $P<0.05$ olan p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

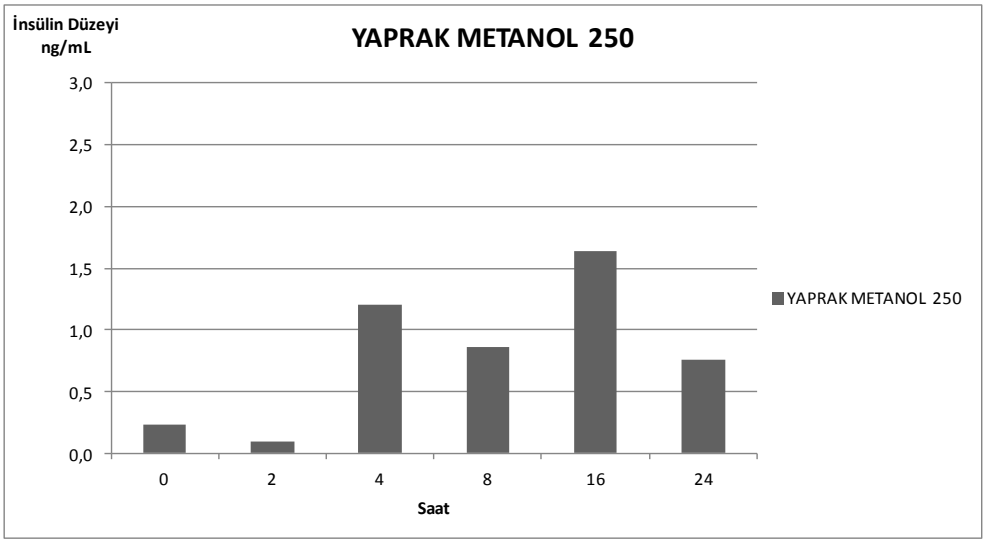
Zizyphus jujuba bitkisinin yaprak ve meyvelerinden metanol, etilasetat, su ile elde edilen ekstrelerinin panreatik beta hücresi olan Beta-TC-6 üzerinde insülin sekresyonuna etkileri aşağıda grafiklerle açıklanmıştır.

Ekim yapılan hücreler üzerinde yapılacak insülin düzeyinin ölçümünde insülin sekresyonu glukoz ile tetiklendi. Bu tetiklemede sadece glukoz kullanılarak pankreatik beta hücresinin insülin sekresyonuna etkisi incelendi. İnsülin sekresyonunun bifazik bir salım gösterdiği ve 2. saatte en yüksek düzeyine ulaştığı gözlendi (Şekil 4.1).



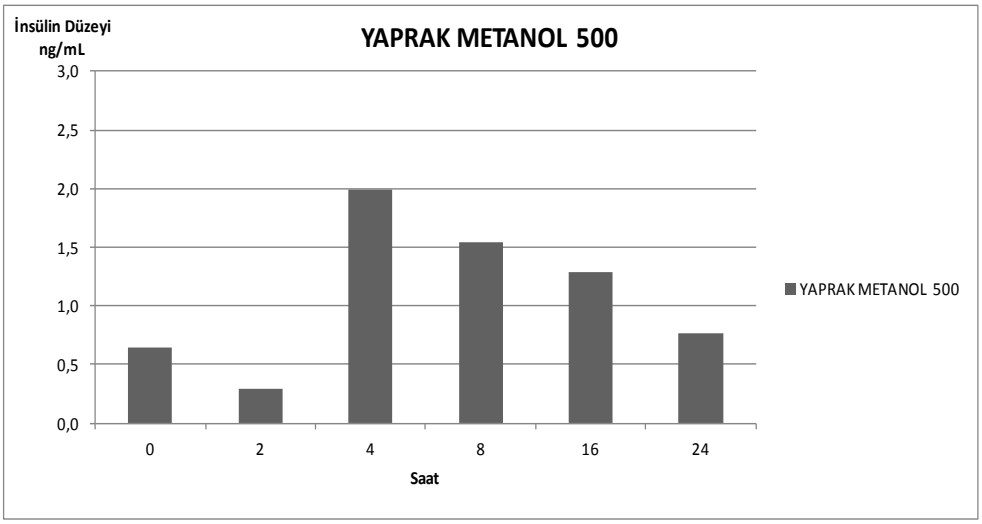
Şekil 4.1. Glukozun insülin sekresyonuna etkisi

Zizyphus jujuba yapraklarından elde edilen metanol ektresinden 250 µg/ml dozunda pankreatik beta hücreleri üzerine uygulandı. Elde edilen sonuçlara göre insülin miktarı 4. ve 16. saatte artış gösterdi ($p< 0.001$) (Şekil 4.2).



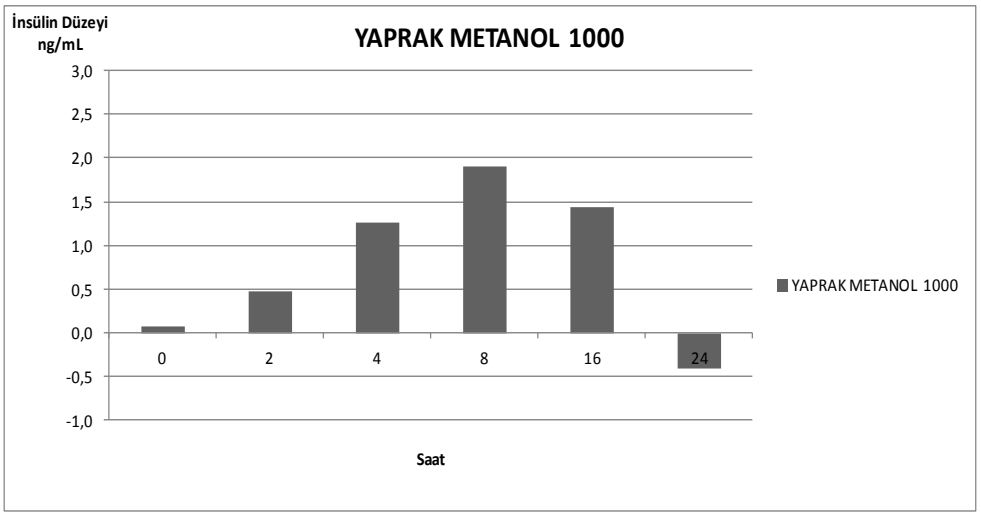
Şekil 4.2. Yaprak Metanol 250 µg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

Yapraklardan elde edilen metanol ektreleri 500 µg/mL uygulandığında insülin miktarı 4.saatte maksimum seviyeye ulaştı ($p< 0.001$). Daha sonra azalarak etki göstermeye devam etti (Şekil 4.3).



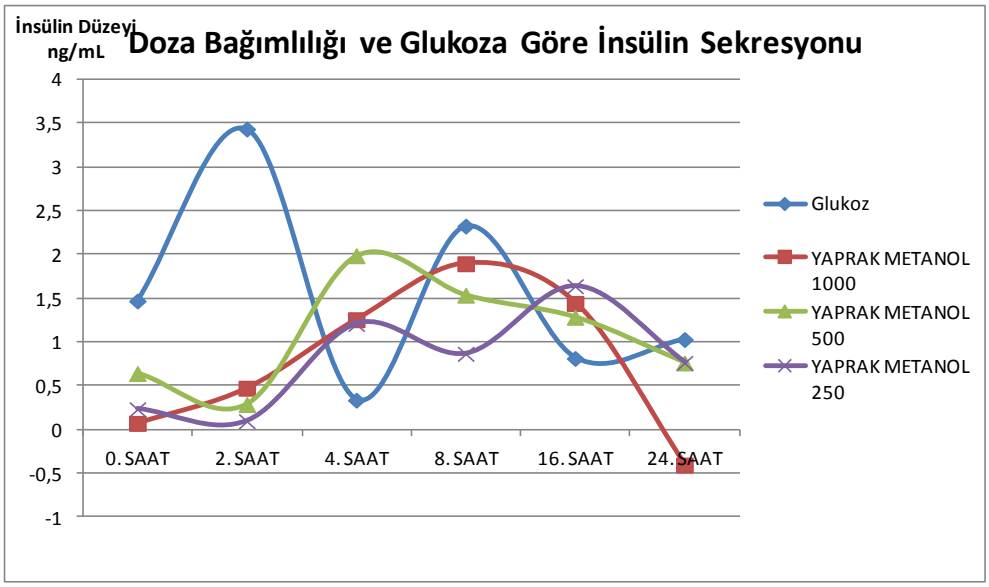
Şekil 4.3. Yaprak Metanol 500 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

Yaprak metanol ekstresinden 1000 μg/mL uygulandığında insülin miktarı 8.saate kadar artış gösterdi ($p< 0.001$) (Şekil 4.4).



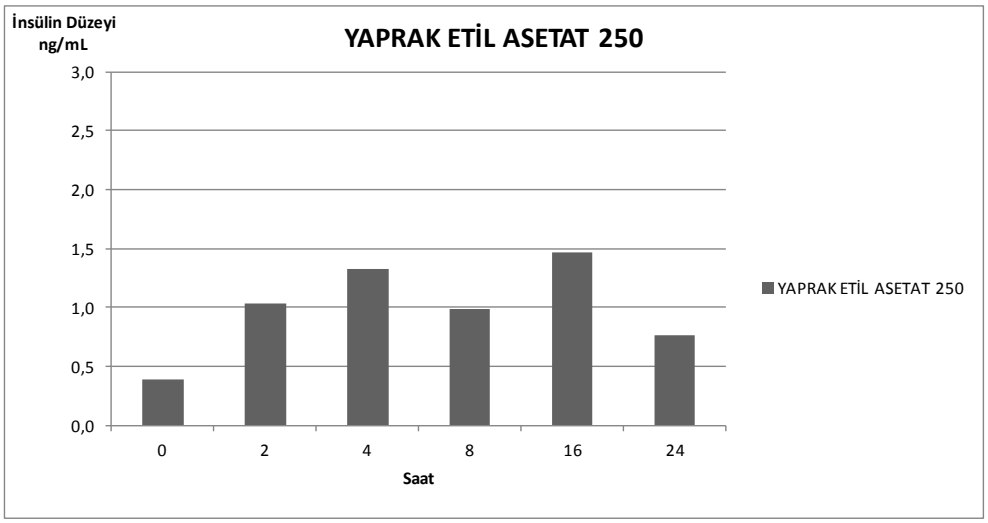
Şekil 4.4. Yaprak Metanol 1000 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

Yaprak metanol ekstrelerinin pankreatik beta hücreleri üzerinde insülin sekresyonu üzerine etkileri doza bağımlı olarak incelendiğinde; 250μg/mL dozunda glukozun tetiklediği bifazik salımın tam tersi bir salım gösterdiği, diğer dozlarında ise tek fazlı salım gösterdiği gözlendi (Şekil 4.5).



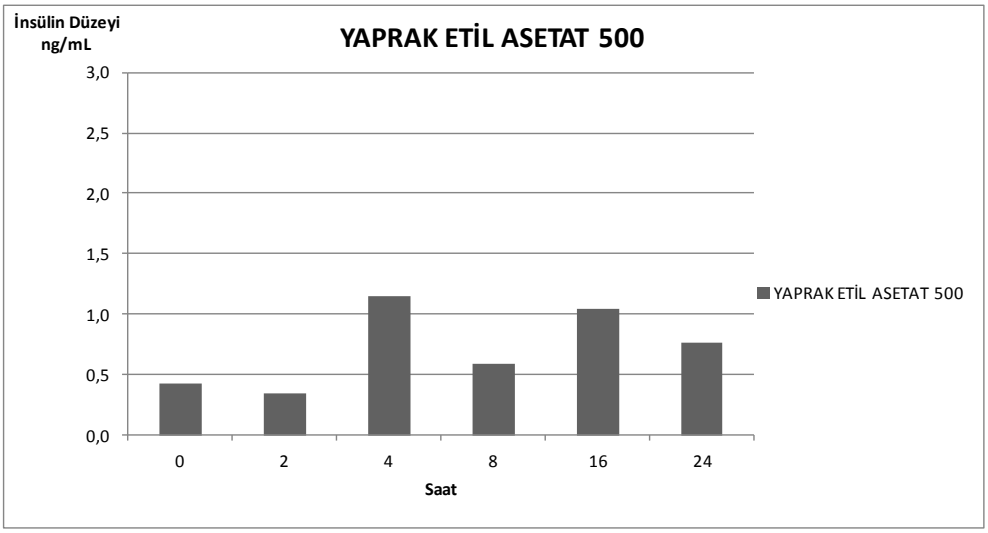
Şekil 4.5. Yaprak metanol ekstrelerinin insülin sekresyonu üzerinde doza bağımlılığı

Yapraklardan etilasetat ile elde edilen ekstreler 250 µg/mL dozunda hücreler üzerine uygulandığında insülin miktarı en fazla 16.saatte elde edildi ($p< 0.001$) (Şekil 4.6).



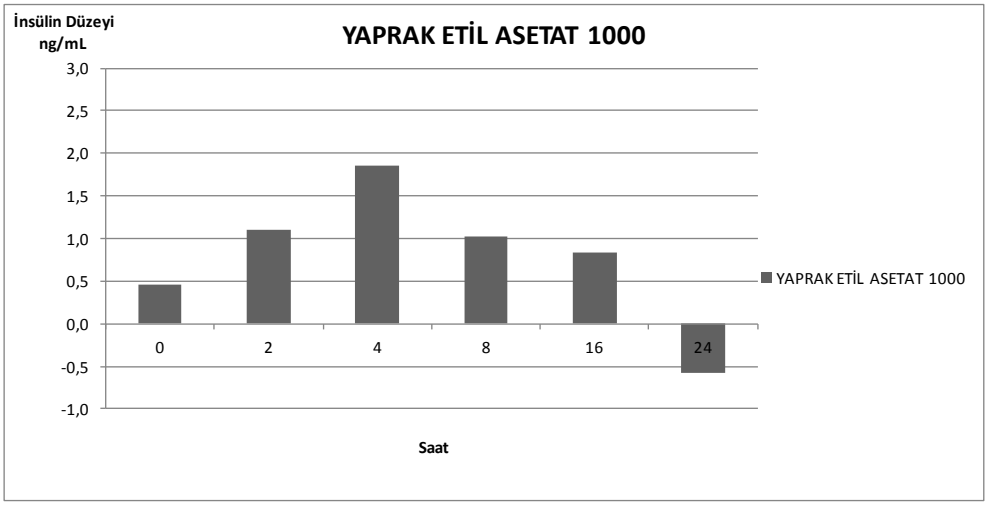
Şekil 4.6. Yaprak Etilasetat 250 µg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

Yaprak etilasetat ektresinin 500 µg/mL dozunda panreatik beta hücreleri üzerinde insülin sekresyonu üzerine etkisi en fazla 4.ve16. saatlerde gözlendi ($p< 0.001$) (Şekil 4.7).



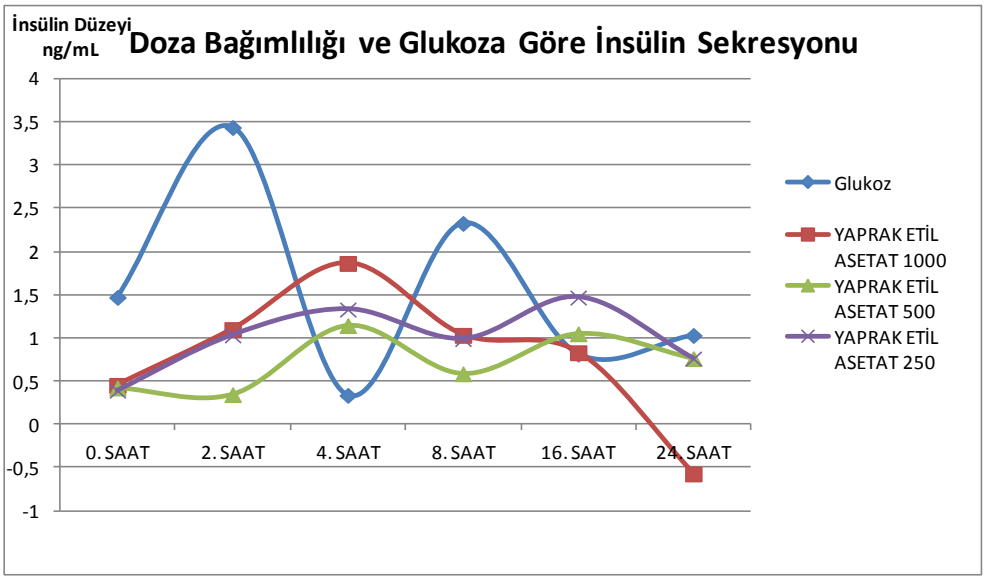
Şekil 4.7. Yaprak Etilasetat 500 µg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

Yapraklardan etilasetat ile elde edilen ekstre pankreatik beta hücreleri ile 1000mg/mL dozunda muamele edildiğinde en fazla insülin miktarı tetiklenmesi 4.saatte gözlendi ($p< 0.001$) (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Yaprak Etilasetat 1000 µg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

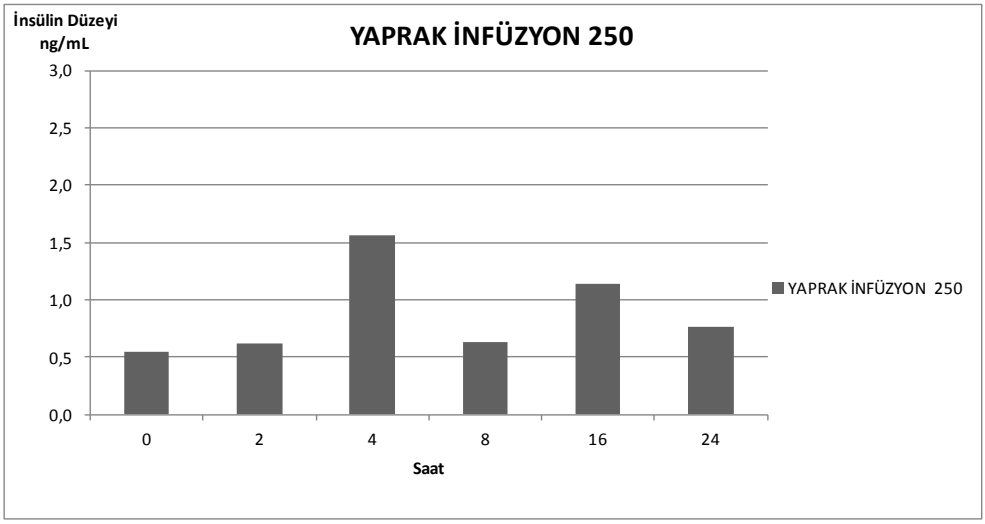
Yaprak etilasetat ekstrelerinin insülin sekresyonu üzerine etkileri incelendiğinde; her doz için glukozun yaptığı insülin sekresyonu ile ters yönde bifazik bir salım gösterdi ve bu salımın da doza bağımlı bir şekilde gerçekleştiği gözlendi (Şekil 4.9).



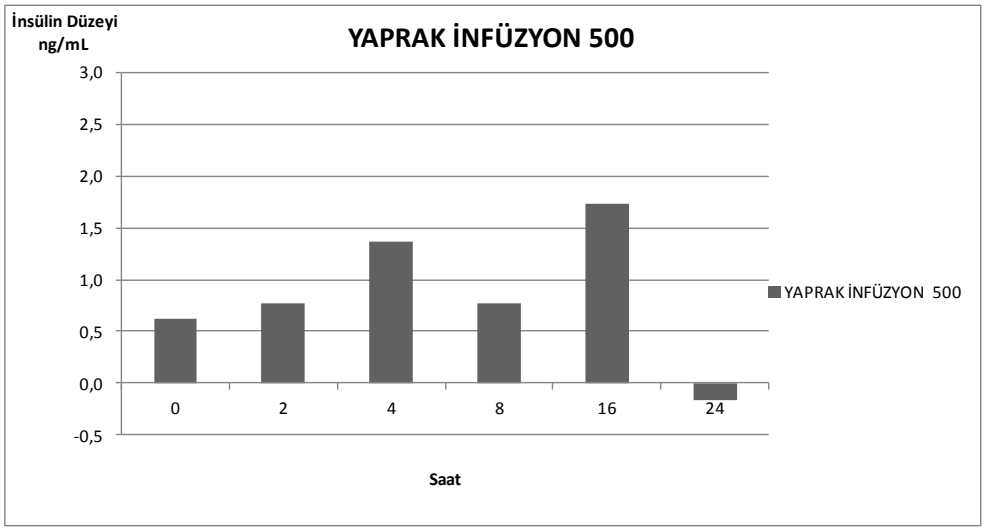
Şekil 4.9. Yaprak etilasetat ekstrelerinin insülin sekresyonu üzerinde doza bağımlılığı

Zizyphus jujuba yaprakları ile hazırlanan infüzyonlardan elde edilen ekstre (sulu ekstre) 250-500-1000 µg/mL oranlarında pankreatik beta hücreleri ile muamele edildi.

Şekil 4.10 ve 4.11'de insülin miktarının en fazla 4.ve16.saatte arttığı gözlendi ($p < 0.001$). Şekil 4.11 ve 4.12'de en düşük insülin seviyesi 24.saatte görüldü.

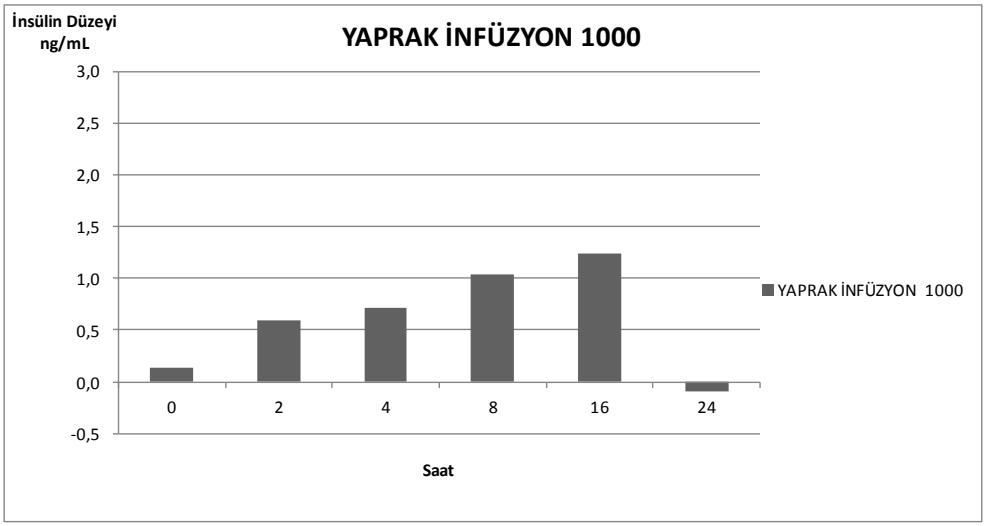


Şekil 4.10. Yaprak infüzyon 250 µg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi



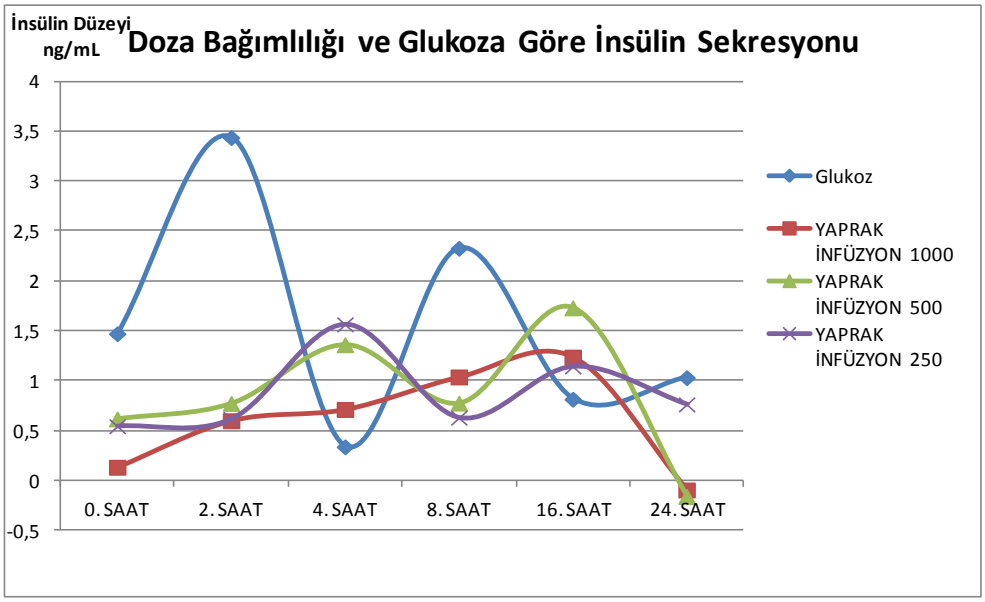
Şekil 4.11. Yaprak infüzyon 500 µg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

Zizyphus jujuba yapraklarından elde edilen infüzyon (sulu ekstre) pankreatik beta hücrelerine 1000µg/mL dozunda uygulnadığında 16. saate kadar düzenli bir şekilde insülin sekresyonunu tetiklediği gözlendi ($p< 0.001$) (Şekil 4.12).



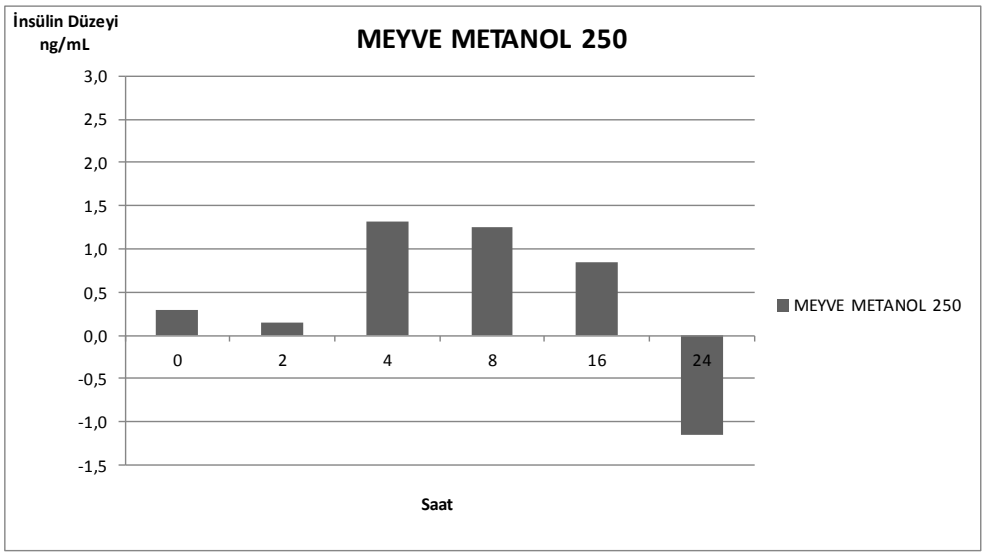
Şekil 4.12. Yaprak infüzyon 1000 µg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

Zizyphus jujuba yapraklarından elde edilen infüzyonlar pankreatik beta hücrelerine verildiğinde insülin miktarı 8.saatte doza bağımlı olarak arttı. 250 ve 500 µg/mL dozunda glukozun insülin sekresyonu üzerindeki etkisine ters bifazik özellikte bir salım gösterdiği tepit edildi (Şekil 4.13).



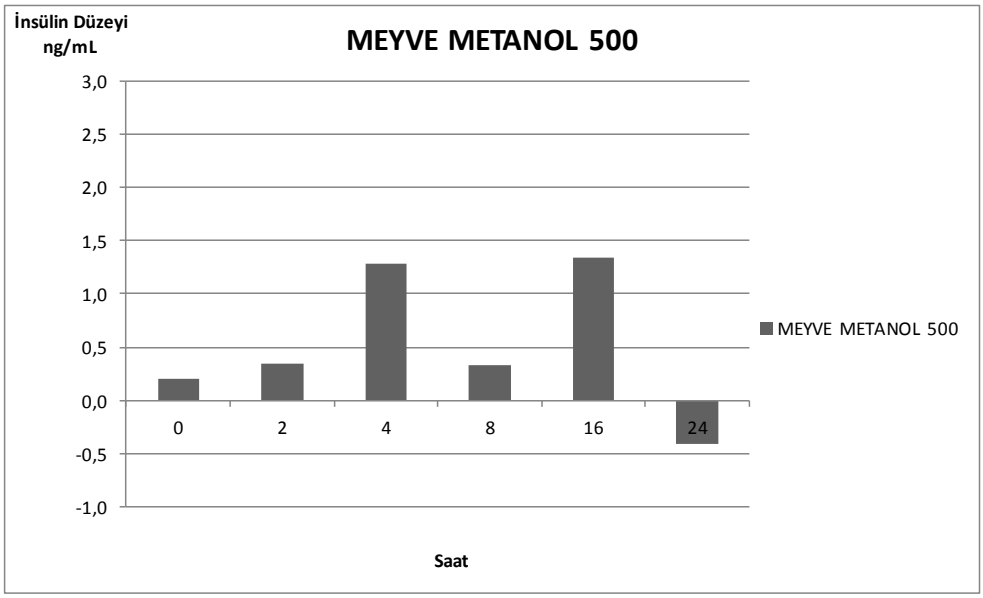
Şekil 4.13. Yaprak infüzyonlarının insülin sekresyonu üzerinde doza bağımlılığı

Zizyphus jujuba meyvelerinin metanol ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstreden 250 µg/mL pankreatik beta hücreleri üzerine uygulandı; insülin sekresyonunda artış en fazla 4.ve 8. saatlerde görüldü ($p< 0.001$) (Şekil 4.14).



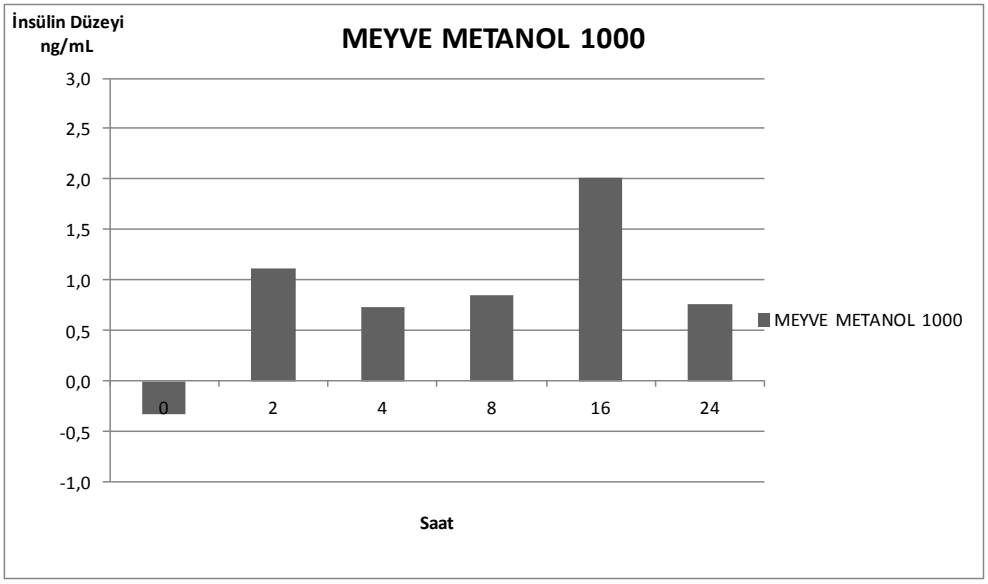
Şekil 4.14. Meyve metanol 250 µg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

Meyve metanol 500 µg/mL uygulanan hücrelerde en fazla insülin seviyesi 4.ve 16. saatlerde görüldü ($p< 0.001$) (Şekil 4.15).



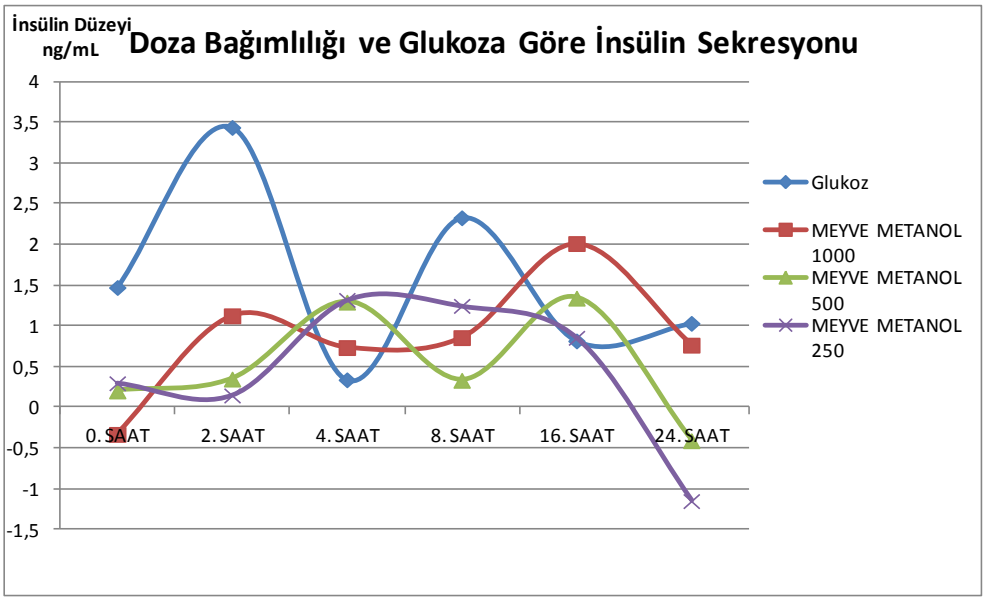
Şekil 4.15. Meyve metanol 500 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

Meyve metanol 1000 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi incelendiğinde 16. saatte insülin sekresyonunnun en yüksek düzeye ulaştığı görüldü ($p< 0.001$) (Şekil 4.16).



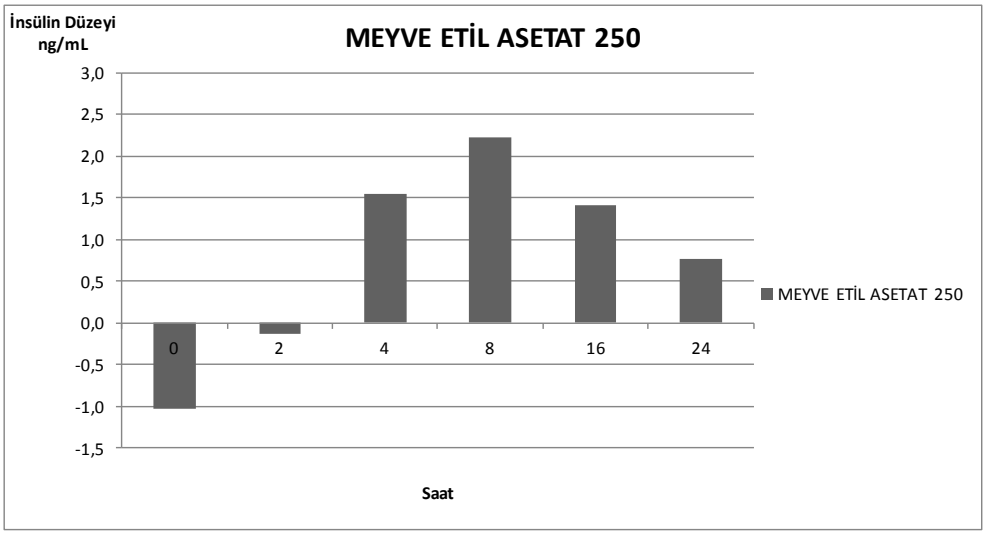
Şekil 4.16. Meyve metanol 1000 μg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

Meyve metanol ekstrelerinde 2. ve 16. saatlerde insülin seviyelerinin doza bağımlı olduğu gözlendi. Ayrıca 500mg/mL dozunda insülin sekresyonuna ters bifazik etki gösterdi (Şekil 4.17).

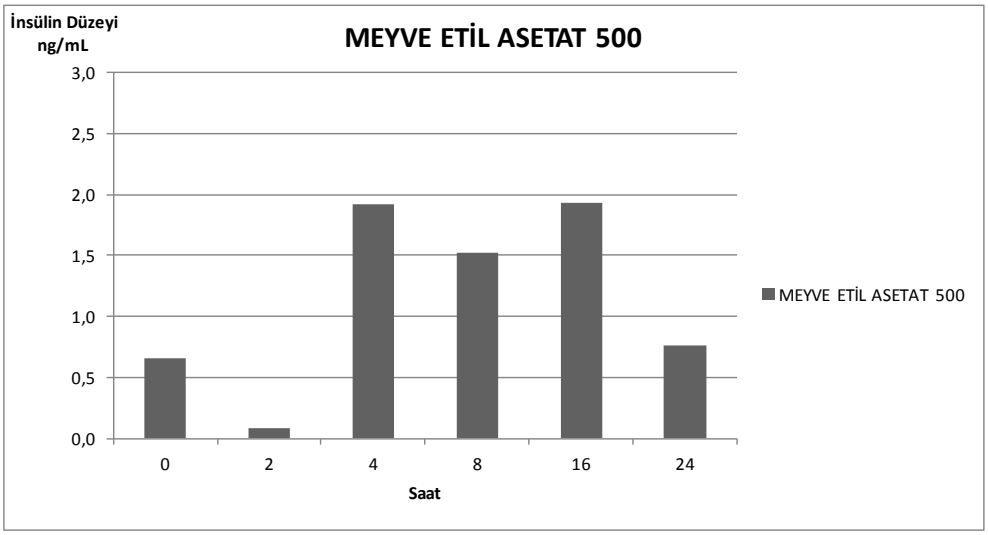


Şekil 4.17. Meyve metanol ekstrelerinin insülin sekresyonu üzerinde doza bağımlı etkileri

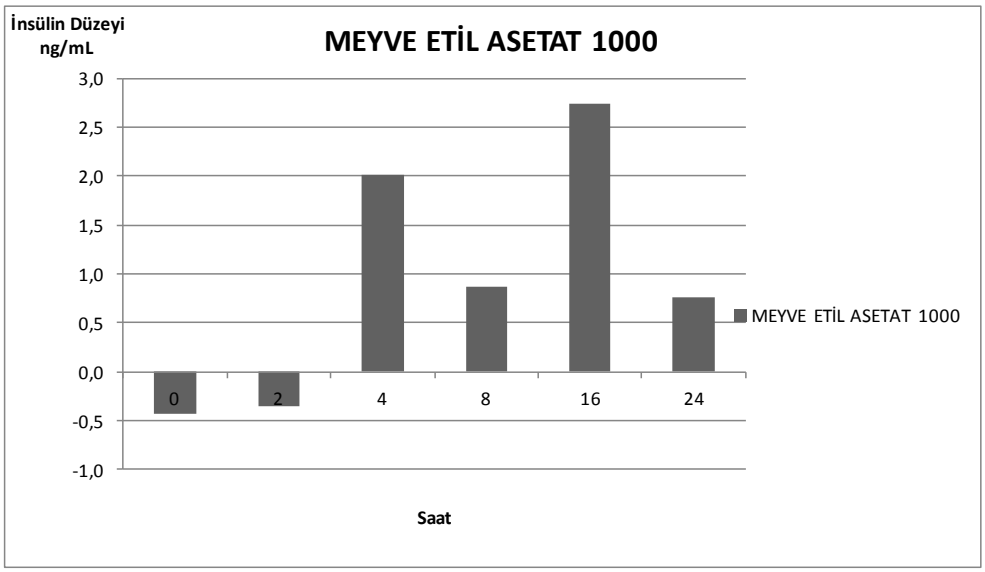
Meyve etil asetat ekstreleri için insülin miktarı uygulanan her doz için 0.saatten başlayarak arttı ($p< 0.001$) (Şekil 4.18-4.20).



Şekil 4.18. Meyve etilasetat 250 µg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

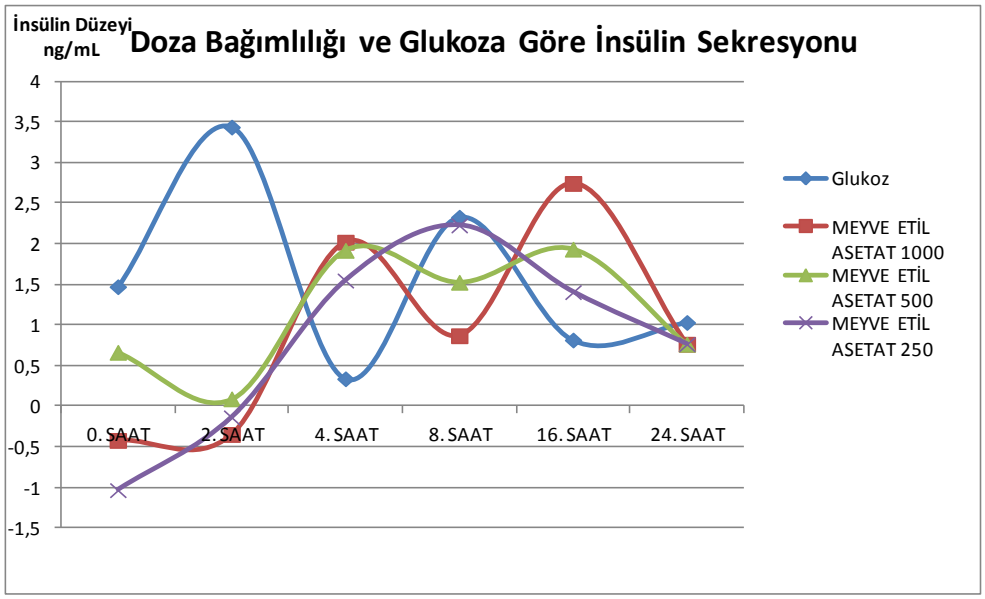


Şekil 4.19. Meyve etilasetat 500 µg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi



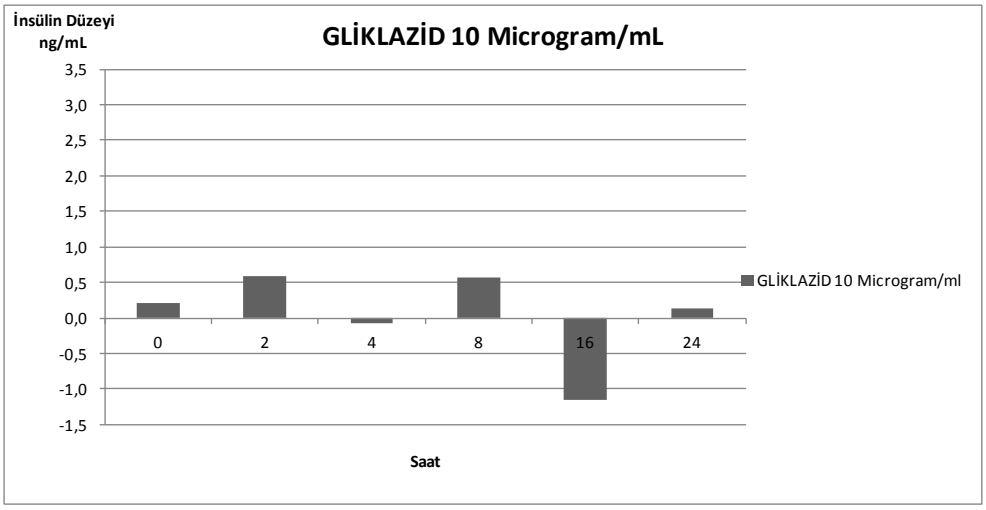
Şekil 4.20. Meyve etilasetat 1000 µg/mL nin insülin sekresyonuna etkisi

Meyve etilasetat ekstreleri uygulandığında pankreatik beta hücreleri üzerinde insülin sekresyonu 4.ve16.saate doza bağımlı olarak arttış gösterdi ($p< 0.001$). Ayrıca 1000µg/mL dozunda uygulandığında glukoz ile tetiklenen insülin sekresyonuna zıt yönde bifazik bir salım gösterdiği tespit edildi (Şekil 4.21).



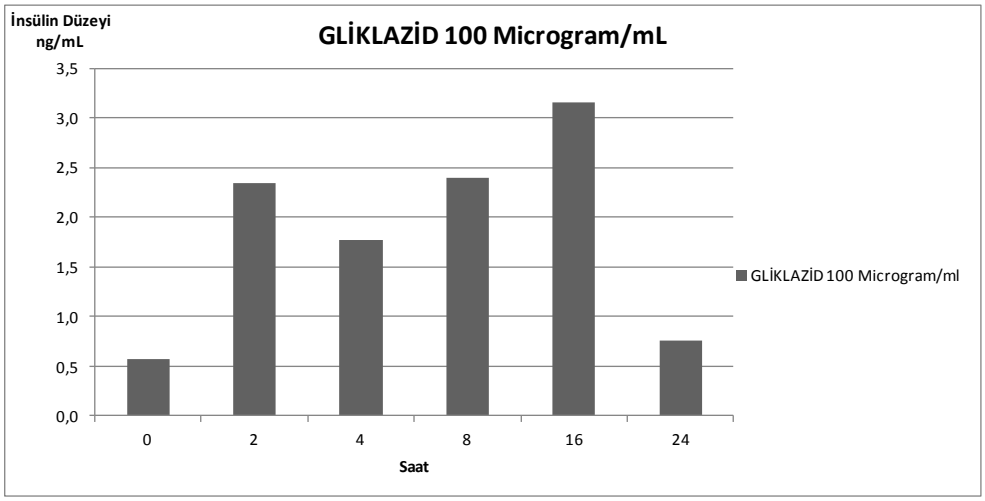
Şekil 4.21. Meyve etilasetat ekstrelerinin insülin sekresyonu üzerinde doza bağımlı etkileri

Gliklazid çeşitli dozlarda (10, 100 ve 1000 µg/mL) pankreatik beta hücreleri üzerine uygulandığında; 10 mg/mL dozunda insülin sekresyonu üzerinde önemli bir değişiklik oluşturmadığı gözlendi (Şekil 4.22).



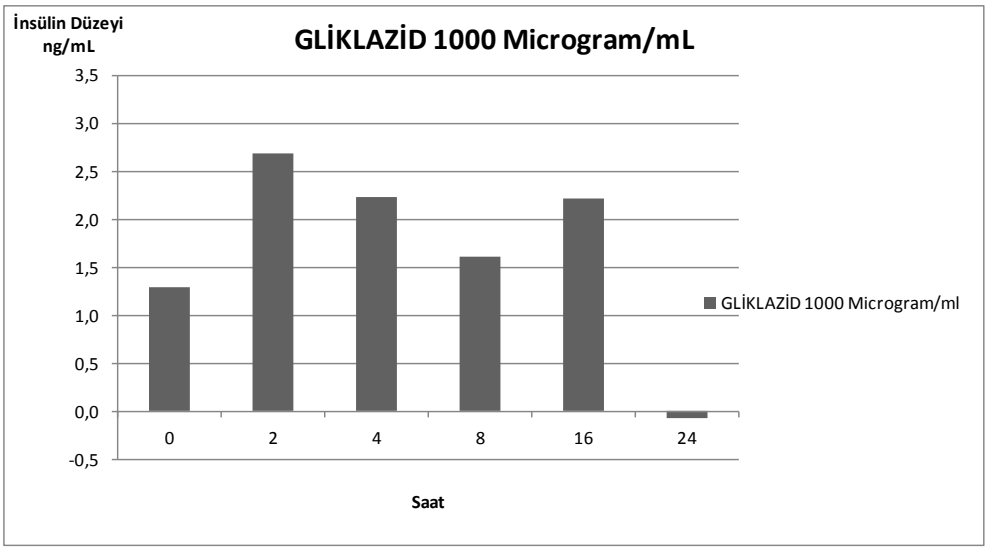
Şekil 4.22. Gliklazidin (10µg/mL) insülin sekresyonuna etkisi

Gliklazid pankreatik beta hücreleri üzerine 100 µg/mL dozunda uygulandığında; insülin sekresyonunu 16. saate kadar giderek artan şekilde tetiklediği gözlendi ($p< 0.001$) (Şekil 4.23).



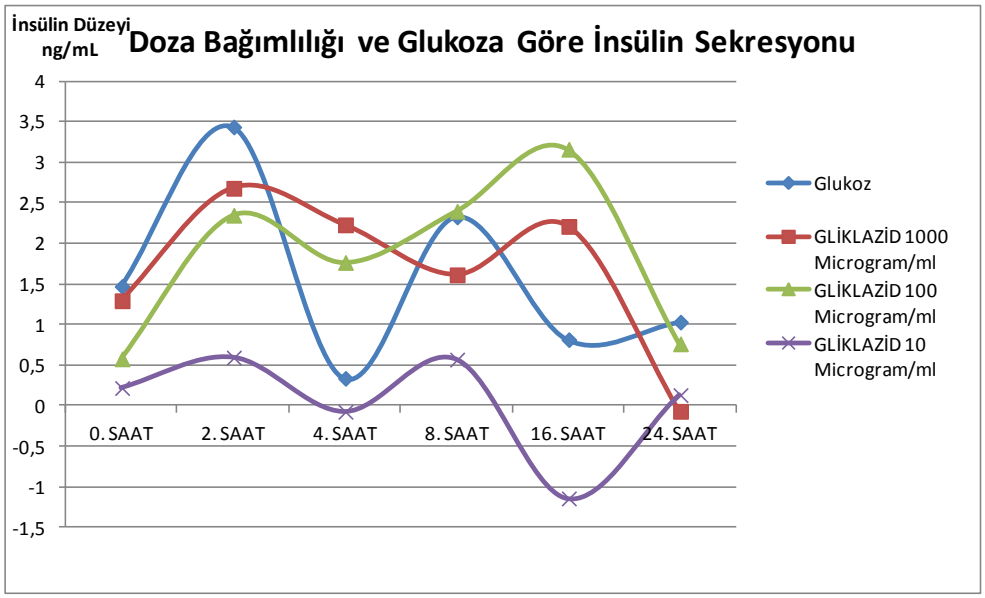
Şekil 4.23. Gliklazidin (100µg/mL)insülin sekresyonuna etkisi

Gliklazid pankreatik beta hücreleri üzerine uygulandığında 1000 µg/mL dozunda; 2. ve 16. saatlerde yüksek olmak üzere bifazik bir salım gösterdi ($p< 0.001$) (Şekil 4.24).



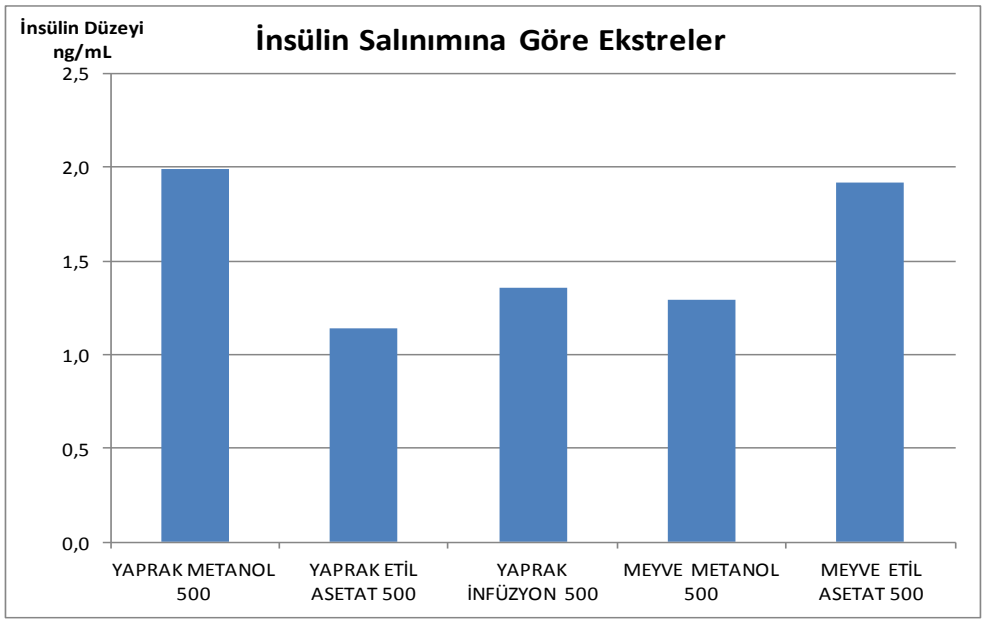
Şekil 4.24. Gliklazidin (1000µg/mL)insülin sekresyonuna etkisi

Gliklazid'in insülin sekresyonu üzerinde etkilerinin doza bağımlı olup olmadıklarına incelendiğinde 0., 2. ve 4. saatlerde doza bağımlı oldukları gözlendi (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. Gliklazid'in insülin sekresyonu üzerinde doza bağımlılığı

Zizyphus jujuba yaprak ve meyvelerinden elde edilen ekstrelerin insülin seviyeleri üzerine etkilerini birbirleri ile karşılaştırmak amacıyla glukoz ile insülin salımının tetiklendiği pankreatik beta hücrelerinde insülin salınımının en düşük seviyesi olan 4.saat seçildi. Ekstrelerin orta dozu olan 500 µg/mL kullanıldı. En fazla insülin salımı seçilen doz ve saatte yaprak metanol ekstresi ile gözlendi. İkinci ve üçüncü yüksek insülin sekresyonu sağlayan ekstrelerin ise sırasıyla meyve etilasetat ve yaprak infüzyon olduğu görüldü (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. İnsülin salınımına göre ekstrelerin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Zizyphus türleri sindirim rahatsızlıkları, karaciğer rahatsızlıkları, obezite, üriner sıkıntılar, deri enfeksiyonları, ateş, diyabet, diyare ve uykusuzluk gibi birçok rahatsızlığın tedavisinde geleneksel olarak kullanılan bitkilerdir (24). Türkiye'de bazı bölgelerde *Zizyphus jujuba* yaprakları hipoglisemik etkisinden dolayı kullanılmaktadır (25).

Besin öğeleri içinde beta hücrelerinin en duyarlı olduğu uyaran glukozdur (41). Bu yüzden pankreatik beta hücrelerinden insülin salınımını tetiklemek için glukoz kullanılmıştır. Glukoz verilmesi ile pankreatik beta hücrelerinde salıverilme hızı zamana göre değişim gösterir. Başlangıçtaki yükselme Langerhans adacıklarının beta-hücreleri üzerindeki glukoreseptörlerin glukoz tarafından aktivasyonuna bağlıdır. İkinci dönemdeki (geç başlayan) yükselme ise beta-hücresi içine giren glukozun indirekt etkisine bağlıdır (41). Bu, pankreastaki beta-hücrelerinin glukoz karşısında bifazik etkisindendir.

Deneyde ekstrelerin insülin sekresyonu üzerine etkisi saatlere göre incelendiğinde sadece glukoz uygulanan pankreatik beta hücrelerinde 0. ve 2. saatlerde insülin düzeylerinin yüksek olduğu görüldü. Bunun sebebi pankreatik beta hücrelerinin glukoz ile tetiklenmesi sonucu insülin depolarının hızlı bir şekilde boşalmasıdır (Şekil 4.1). Bu

yüzden kullanılan tüm *Zizyphus jujuba* ekstreleri ve gliklazid ile, genel itibariyle 0. ve 2. saatlerde ölçülen insülin düzeyleri glukozun aynı saatteki sonuçlarına göre daha düşük seviyededir (Şekil 4.5, 4.9, 4.13, 4.17, 4.21, 4.25).

Pankreatik beta hücrelerinin sadece glukoz ile muamelesinde 4. saat için ölçülen insülin miktarı 0. saate göre oldukça düşük seviyededir (Şekil 4.1). Sebebi insülin depolarının glukoz ile tetiklenmesi ile hızla boşalmış olmasıdır. Depolarda bitmeye yakın olan insülinin pankreatik beta hücrelerinde yeniden sentezlenmesi gerekir. Bu saatte glukozun düşük seviyede insülin sekresyonu sağlamasına karşın, kullanılan tüm ekstreler insülin miktarını glukoza göre daha fazla artırmıştır (Şekil 4.5, 4.9, 4.13, 4.17, 4.21, 4.25). İnsülin miktarındaki bu artış insülin salınımından ziyade, insülin sentezine bağlıdır. Bu da ekstrelerin glukozun bifazik salımında oluşturduğu ani düşüş ve yükselmenin önüne geçmek açısından dengeleyici bir rol oynayabileceğini gösterir.

Pankreatik beta hücreleri içine giren glukozun indirekt etkisi ile insülin sentezi başlar. Bu durum 8. saatte sadece glukoz uygulanan pankreatik beta hücrelerinde insülin seviyesinin yüksek olmasını sağlamaktadır (Şekil 4.1). Kullanılan tüm *Zizyphus jujuba* ekstreleri ve gliklazid'in insülin seviyesi, glukoza göre ölçüldüğünde insülin miktarının düşmeye başladığı gözlendi (Şekil 4.5, 4.9, 4.13, 4.17, 4.21, 4.25). Bu düşüş glukozun pankreatik beta hücreleri üzerinde indirekt etki oluşturmasına karşın, *Zizyphus jujuba* ekstrelerinin indirekt etkisinin glukoz kadar olmadığı ile açıklanabilir.

16. saatte sadece glukoz kullanılan pankreatik beta hücreleri üzerinde insülin salınımının yeniden azaldığı gözlendi (Şekil 4.1). Bu durum sentezlenmiş insülinin yeniden salınmaya başlamasından kaynaklanabilir. Bu saatte kullanılan farklı dozdaki ekstrelerin çoğu insülin seviyesini artırıcı etki gösterdi (Şekil 4.5, 4.9, 4.13, 4.17, 4.21, 4.25). Glukoz ile ters orantı gösteren *Zizyphus jujuba* ekstreleri insülin seviyesini artırıcı etkilerini, insülin salınımından bağımsız olduğunu gösterir.

24. saatte *Zizyphus jujuba* ekstrelerinin pankreatik beta hücreleri üzerinde insülin düzeylerini artıcı etkisinin, glukozunkine göre daha yüksek olduğu görüldü. İnsülin düzeylerini artırıcı bu etki 4. ve 8. saatlerdeki kadar fazla değildir (Şekil 4.1, 4.5, 4.9, 4.13, 4.17, 4.21, 4.25).

Glukoz ile tetiklenen insülin sekresyonunda 4. saatte elde edilen insülin düzeyleri bifazik salımın en düşük değerinin olduğu saat olması nedeniyle ekstrelerin karşılaştırılmasında 4. saatteki etkileri seçildi. Deneyde kullanılan farklı çözücülerle

elde edilen ekstrelerin 4. saatteki insülin seviyesi üzerine etkisi ölçüldü. Bunun için de ortalama doz olan 500 μg/mL seçilmiştir. Şekil 4.26 da görüldüğü gibi *Zizyphus jujuba*'dan elde edilen sırayla yaprak metanol 500 mg/mL ve meyve etilasetat 500 μg/mL ekstreleri birbirine çok yakın bir şekilde insülin düzeylerini artırdığı görüldü. Bunları sırayla yaprak infüzyon 500 μg/mL, meyve metanol 500 μg/mL, yaprak etilasetat 500 μg/mL izlemektedir.

Zizyphus jujuba ile ilgili ilk hipoglisemik çalışma 1994 yılında %3 ve %6 dekoksiyonları hazırlanarak gerçekleştirilen çalışmadır. Bu çalışmada tip 2 diyabetik sıçanlara dekoksiyonlar verilerek ikişer gün arayla kan glukoz düzeylerinde anlamlı derecede düşüş olduğu gözlenmiştir (25).

Zizyphus jujuba ile 2009 yapılan çalışmada bitki yapraklarının sulu-alkollü ekstresi kullanılmıştır. Kontrol ve diyabetik gruplarda kullanılan ekstrenin kan glukoz seviyesini 767.82 mg/dL den 250.94 mg/dl düşürdüğü gösterilmiştir. Ancak kontrol grubunun seviyesine düşüremediği görülmüştür (26).

Çeşitli çözücülerle *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd. ile yapılan bir çalışmada ektraksiyon çözücüsü olarak etanol, n-butanol, %70 etanol, etil asetat, petrol eteri kullanılmıştır ve en fazla antihiperglisemik aktivite %70 etanollü ekstre ile alınmıştır. İçinde bulunan en önemli saponin, kristinin-A HPLC cihazı ile doğrulanmıştır. En fazla aktivite gösteren %70 etanol, n-butanol, %70 etanol ekstreleri yumuşak ve sert kapsüllere konulmuş ve iki farklı formülasyon ile oluşturulan oral kapsüller oluşturulmuştur. Bu çalışma sonucu en yüksek saponin salımını %70 etanol ve yumuşak jelatinle oluşturulan kapsüller sağlamıştır. Bu formülasyon akut ve uzun dönem uygulamada en fazla salımı ve en yüksek antidiyabetik aktiviteyi sağlamıştır (21). Bizim çalışmamızda ise, yaprakların metanol (Şekil 4.5), etil asetat (Şekil 4.9) ve sulu ekstrelerinde (Şekil 4.13) 4.saatte glukozun bifazik salımı sırasında insülin depolarının boşaldığı süreç içerisinde insülin salımını tetiklediği ve insülin sekresyonunun arttığı 8. saatte insülin sekresyonunun 0. saate göre yine yüksek olduğu ancak tavan değere ulaştırmadan düzenleyici bir rol oynadığı gözlenmiştir (Şekil 4.13).

Bazı *Zizyphus* türlerinde diyabetik sıçanlarda beklenilen hipoglisemik etki gözlenmeyebilir. *Zizyphus sativa* yapraklarının alkol ile hazırlanmış ekstreler 100-400 mg/kg oral dozlarda normal (kontrol) ve alloksan-diyabetik sıçanlara uygulanmıştır. Kontrol grubunda 2,4,6, saat sonra kan glukoz düzeyinde düşüşe neden olmuştur. 24

saat içinde normal sınırlara dönmüştür. Ancak diyabetik sıçanlarda önemli bir etki gözlenmemiştir (71).

Yine yapılan bir çalışmada *Zizyphus spina-christi* yapraklarının n-butanol ile ekstresinin (ana glikoziti kristinin-A olan) kontrol grubu sıçanlarda bir ve dört hafta uygulanmış ve ölçülen parametrelerde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Buna rağmen streptozosin-diyabetik sıçanlarda bir ve dört hafta uygulama sonrasında serum glukoz seviyesini, karaciğer fosforilaz ve glukoz-6-fosfataz aktivitelerini önemli düzeyde düşürmüştür. Serum pirüvat seviyesinin ve karaciğer glikojen içeriğinin ise dört hafta sonrasında önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir. Serum insülin ve pankreatik cAMP seviyeleri de dört haftalık n-butanol ekstresi ile periyodik muamele sonrasında artmıştır (22). Bu çalışmada kullanılan n-butanol polar bir çözücüdür ve polar çözücü içerisinde antihiperglisemik etkinin kristinin-A'dan kaynaklandığı savunulmuştur. Bizim çalışmamızda da, polar çözücü olarak kullanılan sulu infüzyonla elde edilen sonuçlara göre, yaprak infüzyonu açısından 250 ve 500 μg/mL dozunda glukozun insülin sekresyonu üzerindeki etkisine ters bifazik özellikte bir salım gösterdiği tespit edildi (Şekil 4.13). Sulu infüzyonla elde edilen polar ekstrenin insülin sekresyonu üzerine etkisi n-butanol ekstresindeki gibi kristinin-A'dan kaynaklanmış olabilir.

Zizyphus spina-christi yaprakları ile yapılan bir diğer çalışmada diyabet olmayan, tip 1 ve tip 2 diyabetik sıçan grupları seçilmiştir. Öncelikle sadece glukoz verilen bu üç grupta kan glukoz düzeyinin arttığı, ancak tip 1 ve tip 2 diyabetik sıçanlarda artışın çok fazla olduğu gözlenmiştir. Yüklenen glukoza bağlı olarak, diyabet olmayan ve tip 2 diyabetik ratlarda serum insülin düzeyi artarken, tip 1 diyabetik ratlarda artış gözlenmemiştir. n-Butanol ekstresi (BE) ve kristinin-A(CA) ile beraber verilen glukoz ile değerlendirme yapıldığında, BE ve CA'nın diyabet olmayan ve tip 2 diyabetik sıçanlarda serum glukoz düzeyini düşürdüğü ve serum insülin düzeyini artırdığı gözlenmiştir; ancak tip 1 diyabetik sıçanlarda serum glukoz ve serum insülin seviyesinde önemli bir değişme olmamıştır. En kuvvetli hipoglisemik etki ekstre uygulamasından 60 dakika sonra oluşmuştur. Glibenklamid verildiğinde de serum glukoz seviyesini düşürücü ve serum insulin seviyesini artırıcı etkinlik gözlenmiştir. BE veya CA ile beraber glibenklamid verildiğinde BE ve CA, glibenklamidin serum glukoz seviyesinin düşürücü etkisini ve serum insulin seviyesini artırıcı etkisini potansiyelize etmiştir. Aynı çalışmada diazoksit tek başına verildiğinde ise serum glukoz seviyesi

artmış; serum insülin seviyesi ise düşmüştür. BE veya CA ile beraber diazoksit verildiğinde; BE ve CA, diazoksitin serum glukoz seviyesinin artırıcı ve serum insülin seviyesini düşürücü etkisini antagonize etmiştir. Üç ay gibi uzun süre BE ile uygulama sonrasında yapılan karaciğer ve böbrek testlerinde önemli bir değişme olmamıştır. Ayrıca yapılan histolojik ve patolojik incelemede de bir soruna rastlanmamıştır. Doksan gün peş peşe uygulanan BE sonrasında yapılan serum elektrolitlerinde ve hematolojik değerlerde de bozulma olmamıştır (24).

Ayrıca Michel ve ark.'nın (72) *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd'in Haziran 2009'da toplanan yapraklardan hazırladıkları etanol ekstresinde kersetin ve rutin düzeylerinin yüksek olduğu ve bu ekstrelerden hazırladıkları kapsüllerin antidiyabetik etkinliğe sahip olduğu savunulmuştur. Aynı çalışmada Haziran-Ekim arasında toplanan yapraklardan elde edilen ekstrelerdeki hipoglisemik etkinin içeriğindeki kersetin ve rutin gibi flavonoitlerden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda ise yaprak ve meyveler Eylül ayı içerisinde toplanması nedeniyle flavonoit içeriğinin yüksek olmasından hipoglisemik etkinin de buna bağlı olarak gerçekleşmiş olabileceğini düşündürmüştür. Bitkilerin toplanma zamanına göre flavonoit bileşenleri değişmesi nedeniyle farklı tarihlerde toplanan örneklerle içerik analizi de yapılarak farklı çalışmalarla farklı etki düzeyi elde edilebilir.

Zizyphus vulgaris L. meyvelerinden elde edilen sulu ekstre ile serum glukoz, insülin, düzeylerine bakılmıştır. Bu ekstrenin, kan glukoz seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir. Bazı meyvelerin barsaktan glukoz emilimini azaltarak hipoglisemik etki gösterdiği bilinmektedir. Bu çalışmada *Zizyphus vulgaris* L. meyvelerinin de bu yolla etki göstermiş olabileceği vurgulanmıştır. Yine aynı çalışmada çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan sulu ekstre ile muamele edilen diyabetik farelerde insülin düzeyinin düşmemesi, glukoz homeostazisinde ekstra bir pankreatik yolak olduğunu düşündürmüştür (20). Bizim çalışmamızda kullanılan metanol (Şekil 4.17), etil asetat (Şekil 4.21) ekstrelerinde ise, düşük dozlarda düzenleyici rol oynadığı, 1000µg/mL dozunda ise pozitif kontrol olarak kullandığımız gliklazid gibi bifazik etkiyi ortadan kaldırarak her saatte artırdığı gözlenmiştir.

Zizyphus jujuba yaprak ve meyvelerinden farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstreleri, farklı konsantrasyonlarda pankreatik beta hücreleri ile muamele edilmiş ve insülin düzeyleri ölçülmüştür. Kullanılan ekstrelerin insülin seviyelerini artırdığı ve bu etkinin bazılarında doza bağımlı oldukları gözlendi. Bu durum, ekstreler içindeki etken madde ya da maddelerin dozları ayarlanarak hipoglisemik etkilerinden faydalanılabilme imkanının olduğunu gösterir. Ayrıca pankreatik beta hücrelerinin glukoz ile tetiklenme sonucu salgılanan insülin miktarının düştüğü zamanlarda, *Zizyphus jujuba*'dan elde edilen ekstrelerin insülin miktarını artırdığı gözlendi. Bu durum uygulanan ekstrelerin insülin sekresyonu üzerine modülator etkisinin olduğunu; çeşitli nedenlerle fizyolojik olarak gerçekleşen ve istenmeyen insülin dalgalanmalarının önüne geçilebileceğini gösterir.

Sonuç olarak, *Zizyphus jujuba* ekstrelerinin pankreatik beta hücreleri üzerinde insülin miktarını artırıcı etkisi görüldü ve bu sonuçlara bakılarak hipoglisemik etki mekanizmasının sekretagog olarak veya insülin sentezini artırarak gerçekleştirdiği kanaatine varıldı.

6. KAYNAKLAR

1. Abdel-Zaher AO, Salim SY, Assaf MH, Abdel-Hady RH. Antidiabetic activity and toxicity of *Zizyphus spina-christi* leaves. Journal of Ethnopharmacology 2005; 101: 129–138.

2. Erenmemişoğlu A, Keleştimur F, Köker AH, Üstün H, Tekol Y, Üstdal M. Hypoglycemic effect of Zizyphus Jujuba leaves. Journal of Pharmacy and Pharmacology 1995; 47: 72-74.

3. Shirdel Z, Madani H, Mirbadalzadeh R, Investigation into the hypoglycemic effect of hydroalcoholic extract of Ziziphus Jujuba Leaves on blood glucose and lipids in Alloxan-Induced diabetes in rats Iranian Journal of Diabetes and Lipid Disorders 2009; 13-19.

4. Davis PH. Rhamnaceae. In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, 2, P. Davis (Ed.), Edinburgh University Press, Edinburgh (1965-1985): 523-541

5. R. Tschesche, A.H. Shah, G. Eckhardt. Sativanine-A and sativanine- B, two new cyclopeptide alkaloids from the bark of *Ziziphus sativa. Phytochemistry*. 1979; 18: 9-11

6. A.H. Shah, V.B. Pandey, G. Eckhardt and R. Tschesche: A 13membraned cyclopeptide alkaloid from *Ziziphus sativa*. *Phytochemistry*. 1985; 24(11): 2765-2767

7. Ziyaev R, Irgashev T, Israilov IA, Abdullaev ND, Yunusov MS. Alkaloids of *Ziziphus jujuba.* Structure of iusiphine and iusirine. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii.* 1977; 2: 239-243

8. Han BH, Park MH, Han YN. Cyclic peptide and peptide alkaloids from seeds of *Ziziphus vulgaris. Phytochemistry,* 1990; 29(10): 3315- 3319

9. Gong C, Yanjing B, Yuying Z, et al. Flavonoids from *Ziziphus jujuba* Mill var. *spinasa. Tetrahedron.* 2000; 56: 8915-8920

10. Zeng L, Zhang RY, Wang X. Studies on the constituents of *Ziziphus spinosus* Hu. *Acta Pharm Sin.* 1987; *22:* 114-120

11. Pawlowska AM, Camangi F, Bader A, Braca A. Flavonoids of *Zizyphus jujuba and Zizyphus spina-christi (L)* Wild (Rhamnaceae) fruits. *Food Chemistry*. 2000; 112: 858-862

12. Yoshikawa M, Murakami T, Ikebata A, et al. Bioactive saponins and glycosides. X. On the constituents of *Zizyphi spinosi* semen, the seeds of *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* Hu (1): structures and histamine release-inhibitory effect of jujubosides A1 and C and acetyljujuboside B. *Chem Pharm Bull.* 1997; 45: 1186-1192

13. Kurihara Y, Oohubo K, Tasaki H, et al. Studies on taste modifiers. I. Purification and structure in leaves of *Ziziphus jujuba. Tetrahedron.* 1988; *44 (1):* 61-66

14. Ikram M, Ogihara Y, Yamasaki K. Structure of new saponin from *Zizyphus vulgaris. Journal of Natural Products.* 1981; 44(1): 91-93

15. Lee S, Min B, Lee C, et al. Cytotoxic triterpenoids from the fruits of *Zizyphus jujuba. Planta Medica.* 2003; 69: 18-21

16. Kundu AD, Barik BR, Mandal DN, et al. Zizybernalic acid, a penta cyclic triterpenoid of *Ziziphus jujuba. Phytochemistry.* 1989; 28 (11): 3155-3158 ().

17. Shoei SL, Buh FL, Karin CL. Three triterpene esters from *Zizyphus jujuba. Phytochemistry*. 1996; 43(4): 847-851

18. Baytop T. Türkiye'de Bitkilerle Tedavi (İlaveli İkinci Baskı), Nobel Tıp Kitabevleri, 1999:230

19. Mahajan RT, Chopda MZ. Phyto-Pharmacology of *Ziziphus jujuba* Mill- A plant review. Review article 2009;3: 6: 320-329

20. Solati J, Soleimani N. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of Ziziphus vulgaris L. on streptozocin-induced diabetic adult male Wistar rats. Acta Diabetol 2010; 47: 219–223

21. Nesseem DI, Michel CG, Sleem AA, El-Alfy TS. Formulation and evaluation of antihyperglycemic leaf extracts of *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd. Pharmazie. 2009; 64(2): 104-9

22. Glombitza KW, Mahran GH, Mirhom YW, et al. Hypoglycemic and antihyperglycemic effects of *Zizyphus spina-christi* in rats. Planta Med. 1994; 60(3): 244-7

23. Cisse A, Ndiaye A, Lopez-Sall P, Seck F, Faye B. Antidiabetic activity of *Zizyphus mauritiana* Lam (Rhamnaceae). Dakar Med. 2000; 45(2): 105-7.

24. Kologlu S. Diabetes Mellitus Kologlu S. (ed), Endokrinoloji Temel ve Klinik. Birinci Baskı. Ankara, Medical Network & Nobel 1996; 368-85.

25. İmamoglu S, Akalın S, Yılmaz TM. Diyabet ve Siz. Ceren Tanıtım Ltd. Sti. 1995

26. İlhan GK. Yeni Tanı Konmuş Tip 2 Diyabet Hastalarıyla Kontrollü ve Kontrolsüz Diyabet Hastalarının Homosistein ve HbA1C Düzeylerinin Diyabetin Kronik Komplikasyonlarıyla İlişkisi. Uzmanlık Tezi, Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Bölümü, Biyokimya, İstanbul, 2007: 73

27. Peng W, Hsieh M, Lee Y, et al. Anxiolytic effect of seed of *Ziziphus jujuba* in mouse models of anxiety. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000; 72(3): 435-441

28. Han BH, Park MH. Studies on the sedative alkaloids from *Ziziphus spinosasemen* (seed). *Saengyak Hakhoechi*. 1986; 16(4): 233-238

29. D.S. H.L. Kim, J.M. Pezzuto and E. Pisha. Synthesis of betulinic acid derivatives with activity against human melanoma. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters.* 1998; 8: 1707-1712

30. Sarfaraz A, Ansari SH, Porchezhian E. Antifungal activity of alcoholic extracts of *Ziziphus vulgaris* and *Acacia concinna*. *Hamdard Medicus.* Bait al-Hikmah, Karachi, Pakistan. 2002; 14/15: 42-45

31. Elmahi M, Essassi EM, Hamamouchi M, Hamamouchi J. Study on the antimicrobial and antibilharzia activity of *Ziziphus vulgaris. Fitoterapia*. 1997; 68: 34-36

32. Chowdary NB, Padashetty NS. *In vitro* screening of antibacterial activity of leaves of Ber. *Current Research - University of Agricultural Sciences* (Bangalore). 2000; 29: 78-79

33. Mukharjee PK, Mukharjee K, Kumar MR, et al. Evaluation of the wound healing Activity of Some Herbal Formulations. *Phytother. Res.* 2003; 17: 265-268

34. Ganachari MS, Shiv K. Anti-ulcer properties of *Ziziphus jujube* Lam leaves extract in rats. *Journal of Natural Remedies.* 2004; 4: 103-108

35. Huang LYW, Cai B, Li D, et al. A preliminary study on the pharmacology of the compound prescription huangqin tang and its component drugs. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* 1990; 15: 115-128

36. Shiv K, Ganachari MS, Nagoor VSB. Anti-inflammatory activity of *Ziziphus jujuba* Lamk. leaves extract in rats. *Journal of Natural Remedies.* 2004; *4:* 183-185

37. Su BNCM, Farnsworth NR, Fong HH, et al. Activity-guided fractionation of the seeds of *Ziziphus jujuba* using a cyclooxygenase-2 inhibitory assay. *Planta Med.* 2002; 68: 1125-1128

38. Kim HY, Han SW. Zizi*phus jujuba* and *Codonopsis pilosula* stimulate nitric oxide release in cultured endothelial cells and kidney tissues. In *Asia Pacific Journal of Pharmacology*. 1996; 11: 26-29

39. Fukuyama Y, Mizuta K, Nakagawa K, et al. A new neo-lignan, a prostaglandin I2 inducer from the leaves of *Ziziphus jujuba. Planta Medica*. 1986; 6: 501-502

40. Ganachari MS, Shiv K, Bhat KG. Effect of *Ziziphus jujube* leaves extract on phagocytosis by human neutrophils. *Journal of Natural Remedies.* 2004; 41: 47-51

41. Kayaalp O. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji (12), 2, Pelikan Yayıncılık, Ankara, 2009:1039-1066

42. Kahn CR, Weir GC, King GL et al. Joslin's Diabetes Mellitus (14 th ed).Lippencott William & Wilkons, 2002:4

43. Galloway JA, Chance RE. Improving insulin therapy:Achievements and challenges. Horm Metb Res 1994;26: 591-8.

44. (2011) Anesthesia and Anesthesiology Teaching Site. http://www.anesthesia2000.com/Diabetes/physio1.htm (28.01.2013)

45. Karpuz H, Karpuz V. Tip 2 Diyabet Güncel Tanı ve Tedavi, İstanbul, Avrupa Tıp Kitapçılık Ltd. Sti. 2004

46. Başkal N. Diyabetin Tedavisinde Insülin. Ed: Erdogan G. (1997) Diyabetes Mellitusun Tedavisi. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi.

47. Arıkoğlu H, Erkoç DK, Özdemir H. İnsülin Salınımının Metabolik Sensörleri Pankreatik K_{ATP} Kanallarının Moleküler Genetik Yapısı ve Patolojisi, , European Journal of Basic Medical Sciences, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Konya, Türkiye, Eur J Basic Med Sci 2012; 2(2): 56-67

48. Tosun N, Satman İ, Erkoç Y, ve ark. T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü; Türkiye Diyabet Önleme ve Kontrol Programı Ankara 2011; s.2,

49. Hatemi H. Aktüel Tıp Dergisi, 1996; 7: 497- 499

50. Goldstein B.J, Müller-Wieland D. (Eds), 2004.Textbook of Type 2 Diabetes. Tip 2 Diyabet. 1. Baskı, Akman M, Akdeniz Z, Sucaklı B, Aksan A.D. Düzey Matbaası, İstanbul, 2004: 1-12.

51. King H, Rewers M. WHO Ad Hoc Diabetes Reporting Group: Global estimates for prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults. Diabetes Care 1993; 16: 157-77.

52. DiabetesPrevalance.http://www.google.com.tr/search?hl=tr&q=Prevalance.http %3A%2F%2F www.idf.org&btnG=Ara&meta=. (18.02.2009)

53. Diabetes Care; Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 1997;20:1183-97.

54. Satman İ, İmamoğlu Ş, Yılmaz C. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı,Tedavi ve İzlem Klavuzu-2009;s:15-79

55. Kar Ö. Tip 1 ve Tip 2 Diyabetes Mellitus Hastalarında Antikardiyolipin Antikor Seviyesi ve Karotis İntima Media Kalınlığının Karsılastırılması, Uzmanlık Tezi, S.B. İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul 2009:48

56. Özdoğan E. Tip 2 diyabet hastalarında kan lipid düzeylerinin hba1c ve obezite ile ilişkisi. Uzmanlık Tezi İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Koordinatörlüğü, İstanbul,2007:79

57. Groop LC, Widen E, Ferrannini E. Insulin resistance and insulin deficiency in the pathogenesis of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: errors of metabolism or of methods? Diabetologia 1993; 36: 1326-31

58. De Fronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM. In: Alberti KGMM, Zimmet P, De Fronzo RA, Keen H (eds), International Textbook of Diabetes Mellitus. Second edition., John Wiley & Sons Ltd. Chichester 1997; 81: 635-89

59. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM et al. Association of Nonalcoholic Fatty Liver Disease with Insulin Resistance. Am J Med. 1999; 107: 450- 455.

60. Elikara Y. Birinci Derece Yakınlarında Diabetes Mellitus Bulunan Ve Bulunmayan Sağlıklı Bireylerde İnsülin Direncinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi, Fatih Sultan Mehmet Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2006:68

61. Erol Ö. İnsülin Kullanan Diyabetlilerde Bireysel İzlem ile Kan Şekeri Kontrolü ve Hipolisemi Arasındaki İlişki., Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul,2003:104

62. İnsülin Bağımlı Olmayan Diabetes Mellitus(NIDDM) Tedavisi İçin Bir Masaüstü Kılavuzu. Avrupa NIDDM Politikası Grubu, Novo Nordisk,1993.

63. Yılmaz C, Yılmaz MT, İmamoğlu S. Diyabet 2000.Istanbul: Gri Tasarım Baskısı. S. 47-52

64. (2009).DiyabetEğitimi.http://www.novoturk.com/documents/article_page/document/diyabetegitimi.asp (07.06.2009).

65. Yılmaz C, Yılmaz T, İmamoglu Ş. Diabetes Mellitus'ta egzersiz tedavisi In: Diabetes Mellitus 2000, 2000, Gri Tasarım, 2000; 65-71.

66. Yılmaz C, Yılmaz T, İmamoglu Ş. Diabetes Mellitus'ta tıbbi beslenme tedavisi. In: Diabetes Mellitus 2000, Gri Tasarım, 2000; 53-64.

67. Özer E. Diyabette tıbbi beslenme tedavisi. Türkiye Klinikleri Endokrinoloji 2003; 1: 198-201.

68. Leong KS, Weston P. Diabetes Illustrated.: Current Medical Literature Ltd. London, 2001:17-21

69. Özcan S. Oral Antidiyabetik Tedavisinin Yönetimi. Ed: Erdogan S. (2002). Diyabet Hemsireligi. Istanbul: Tavaslı Matbaacılık. s:39-54

70. Yıldız BO. İnsülin Tedavisinde Yenilikler İç Hastalıkları Dergisi 2001; Ek1: 29-34

71. Anand KK, Singh B, Chand D, Chandan BK, Gupta VN. Effect of *Zizyphus sativa* leaves on blood glucose levels in normal and alloxan-diabetic rats. J Ethnopharmacol. 1989; 27(1-2): 121-7

72. Michel CG, Nesseem DI, Ismail MF. Anti-diabetic activity and stability study of the formulated leaf extract of *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd with the influence of seasonal variation. J of Ethnopharmacol 2011;133: 53-62