

71780

T.C.

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi

Genel Cerrahi Anabilim Dalı

**STREPTOZOTOSİNLE OLUŞTURULAN
DİABETE DENEYSEL
NESİDİOBLASTOZİSİN ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Celalettin VATANSEV

Tez Danışmanı

Prof.Dr. Adil KARTAL

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

KONYA/1995

İÇİNDEKİLER

Giriş	3
Genel bilgiler.....	4
Materyal ve metod.....	16
Bulgular.....	21
Tartışma.....	30
Sonuç.....	37
Özet.....	38
Kaynaklar.....	39

GİRİŞ

Diabetik hastaların definitif tedavisinde gerek pediküllü pankreas nakli gerekse sitozol haline getirilmiş adacık hücre naklinden beklenen sonuçlar elde edilebilmiş değildir. Bu alandaki çalışmalar yoğun bir şekilde sürmektedir.

Pankreasın adacık hücrelerinin bilinen klasik yaklaşım dışında değişik şekillerde stimülasyonu ile insülin üretimini artırmak ya da adacık hücrelerinin mitozunu sağlamak diabetikler için deneysel planda da olsa yeni bir ümit ışığı olmuştur.

Hamsterlerin pankreasları baş düzeyinde selofan teyplerle çepeçevre sarılarak hafifçe bağlandığında zaman içinde pankreas kanal ve kanalikül epitelinde proliferasyon ve bu kanalların terminallerindeki epitel hücrelerinden tomurcuklanarak -Trofik faktörlerin etkisiyle- yeni insülin üretim alanlarının yani adacık hücrelerinin geliştiği ortaya konmuştur. Buradan hareketle streptozotosin ile diabetik yapılan hamsterlerin pankreasları selofanla wrapping (sarma) yapıldığında yaklaşık olarak yarısında diabetlerinin düzeldiği görülmüştür. Halen insanlarda uygulanmamış olan bu metodolojinin güvenilirlik alanını belirlemek üzere değişik hayvan olarak ratları, materyal olarak da polipropilen, krome katgüt ve polisülfonu seçerek deneysel nesidioblastozisi araştırmayı amaçladık. Çalışmada yine streptozotosinin yol açtığı diabeti ne ölçüde deneysel nesidioblastozisin geri çevrilebildiğini ve hangi materyalin daha elverişli olduğunu ortaya koymak istedik.

GENEL BİLGİLER

PANKREASIN GENEL ANATOMİSİ

Pankreas yumuşak, sarımtırak, uzun, erişkinde 12-15 cm uzunluğunda, 70-100 gr ağırlığında, ince eliptik şekilde, ikinci vertebra hizasında retroperitoneal yerleşimli bir organdır. Arka karın duvarında duodenum konkavitesinden dalak hilusuna kadar transvers olarak uzanır. Beş bölümü olup hiç birinin harici bir işareti yoktur. Bunlar: baş, uncinant, boyun, gövde ve kuyruktur(1).

Pankreas, ön ve yukarıdan duodenum, mide ve dalakla, ön ve aşağıda duodenum, jejunum, transvers kolon ve dalakla irtibatlıdır. Önünde mezokolon olup pankreas başı üzerinde çok kısa olduğundan kolonun pankreasla direkt temas halinde olmasını sağlar. Pankreas arkasında sağ renal ven, vena kava, portal ven, diyafragma krusu, aorta, çöliak pleksus, torasik kanal, süperior mezenterik damarlar, splenik damarlar, sol böbrek ve damarları vardır. Nispeten fikse olan bu yapılar nedeniyle pankreas lezyonları arkaya doğru değil öne küçük omentuma doğru uzanırlar. Lobulasyonu iyi olan pankreas, büyük salgı bezlerinden biridir.

PANKREASIN FİZYOLOJİK ANATOMİSİ

Pankreasta iki farklı tipte doku vardır:

- 1- Asiniler : Duodenuma sindirim için gerekli sıvıyı salgırlarlar.
- 2- Langerhans adacıkları: Salgıladıkları hormonları doğrudan kana verirler.

İnsan pankreasında küçük kapillerler etrafına yerleşmiş her biri yaklaşık 100 mikron çapında, bir milyon civarında Langerhans adacığı vardır. Adacıklarda

alfa, beta ve delta olmak üzere morfoloji ve boyanma özellikleri ile birbirinden ayırt edilen üç belli başlı hücre tipi vardır. Bütün hücrelerin %60'ını oluşturan beta hücreleri insülin salgılar. Langerhans adacıkları tüm pankreas ağırlığının %1-2'sini oluşturur. Glukagon salgılayan alfa hücreleri toplam hücrelerin %25'idir. Delta hücreleri ise yaklaşık %10 oranında bulunur ve somatostatin salgırlar.

İlk defa 1922 yılında Banting ve Best tarafından pankreasdan izole edilen insülinin karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmaları üzerine önemli etkileri vardır. İnsülinin plazma yarı ömrü 6 dakika olup 10-15 dakikada dolaşımdan temizlenirler. Hedef organlardaki etkilerini başlatmak için insülin, moleküler ağırlığı 300.000 olan membran reseptör proteinlerine bağlanır. Bu reseptörü aktive edip insülin etkilerini başlatır.

İnsülin, beta hücrelerinden salgılandıktan sonra duktal sisteme geçmeden direkt olarak kan dolaşımına katılır ve bu nedenle internal sekresyon olarak adlandırılır. Esas fonksiyonu glukojenin adale ve karaciğerde depolanmasını sağlayarak ve karbonhidratların oksidasyonunu artırarak kan glukoz seviyesini azaltmaktır. İnsülin sekresyonu esas olarak kan glukoz seviyesinin kontrolü altındadır. Fizyolojik oranlarda sekretin intravenöz yolla verildiğinde, insülin sekresyonunu artırdığı gözlenmiştir. Bu muhtemelen sekretinin vagal sitimülasyonla insülin miktarını artırması şeklindedir(Vagal sitimülasyon-mide asit salınımı-sekretin sekresyonu). Bununla birlikte vagotominin herhangi bir etkisi yoktur(2).

Glukagon, alfa hücrelerinden insülin ile birlikte salgılanır ve vücuttaki glukoz seviyesini kontrol eder. Karaciğerden glukoz salınımı etkisine ilave olarak farmakolojik dozlarda glukagon :

- 1- Safra kesesi kontraksiyonuyla safra akımını stimüle eder.
- 2- Özofagus, mide ve intestinal motiliteyi inhibe eder.
- 3- Mide asidi ve pankreas sekresyonunu azaltır.

Adacık hücrelerinden salgılanan diğer hormonlar somatostatin, vazoaaktif intestinal peptit ve pankreatik polipeptitdir(1).

DIABETES MELLİTUS

Şekerli diabet , kanda glukoz düzeyinin yükselmesi, glukozun idrara geçmesi ile kendini gösteren kronik bir metabolizma hastalığı olarak tanımlanır. En göze çarpıcı şekilde bozulan karbonhidrat metabolizması olmakla birlikte yağ ve protein metabolizmasında da bozukluklar vardır. Hastalığa yol açan esas kusur insülin eksikliğidir. Bu insülin eksikliği mutlak olabileceği gibi nisbi de olabilir. Kanda ve adacık hücrelerinde insülin çok az veya hiç yoktur. Buna Tip 1 Diabet veya Juvenil Tip Diabet denir. Bazı diabet hastalarında ise kanda insülin vardır. Buna da Tip 2 Diabet veya Erişkin Tip Diabet denir.

Tip 2 diabette genetik faktörün etkisi kesindir. Tek yumurta ikizlerinde yapılan çalışmalarda diabetik olanın sağlam kardeşinde ileriki yıllarda diabet %100'e yakın oranda ortaya çıkacaktır. Bu diabette kandaki insülin miktarı normaldir , hatta yüksek düzeyde olabilir. Bu insülinin yapısında ve biyolojik

aktivitesinde bozukluk yoktur. Bilinen bozukluk dokuların insülin etkisine az duyarlı olmasıdır(3).

Yapılan eksperimental deneylerde total pankreatektomi yapılanlarda insüline duyarlı bir diabet ortaya çıkar. Pankreasın bir kısmı yerinde bırakılırsa adacık dokusunda süratli bir rejenerasyon görülür. Buna karşın köpeklerde rejenerasyon görülmez(3).

Şimik bileşikler ile geçici veya sürekli diabet yapmak mümkündür. Bunlardan Alloksan geçici, Streptozotosin(STZ) kalıcı beta sitotoksik etkisi olan bileşiklerdir. Deney hayvanlarına streptozotosin verilince saatler içinde hiperglisemi meydana gelir. Sıçanlara aralıklı olarak az miktarlarda verilirse, bir süre sonra hiperglisemi meydana geldiği görülür. Bu sıçanların adacık dokusunda lenfosit birikmesi bulunduğu gözlenmiştir.

Bazı fare türlerinin genetik gruplarında ensefalomiyokardit virüsünün M varyantı ile karşı karşıya kalmalarından Tip 1 diabete benzeyen bir tablo ortaya çıkar. Adacık dokularında lenfosit infiltrasyonu bulunduğu tesbit edilir. Bu model, Tip 1 diabette viral etkenin otoimmün mekanizmayı harekete geçirerek beta hücre harabiyetine neden olduğu düşüncesini desteklemektedir. Bazı ülkelerde viral enfeksiyonların daha sık olduğu salgın yıllarında daha yüksek sayıda yeni Tip 1 diabet vakası saptanmıştır. Hastalığı yeni başlamış Tip 1 diabetli hastaların kanında Coxackievirus B4 için spesifik antikor bulunmuştur. Bu bulgular Tip 1 diabetin etyolojisinde virus rolünün doğrudan olmadığını, viral enfeksiyonu izleyen immünolojik olayların diabete neden olduğunu göstermektedir.

Tip 1 diabetin otoimmün hastalık olduğu düşüncesini destekleyen diğer bir bulgu, hastaların kanında adacık hücre antikorlarının bulunmasıdır. Bu antikorlar IgG sınıfındadır ve adacığın A, B, D ve PP hücreleri ile reaksiyona girerler.

Tip 2 diabet ile HLA (Human leucocyte antigens) arasında bir ilişki yoktur. Tip 1 diabette bazı HLA grupları diabeti olmayanlara oranla daha yüksek oranda bulunur. Bunlar HLA - B8; BW15, B18, DW3 ve DW4'dür.

Tip 2 diabette genetik olarak geçen, çok defa orta yaşlarda, seyrek olarak gençlerde uzun süre sonra sinsi bir şekilde diabetin ortaya çıkmasına neden olan faktörün ne olduğu bilinmemektedir. Bilinen noktalar bu tip diabette, şişmanlık, gebelik, ağır stresler, kortizol, büyüme ve tiroid hormonlarının hastalığın ortaya çıkmasını kolaylaştırdığıdır(3).

HİPOGLİSEMİ ve HİPOGLİSEMİ YAPAN NEDENLER

Kan şekerinin hipoglisemik düzeye inmesi patolojik bir durumdur. Gliseminin aşırı derecede düşmesinden ileri gelen belirtilerin en önemlileri merkezi sinir sistemine aittir. Beyin dokusu normal şartlarda enerji kaynağı olarak sadece glukoz kullanır. Diğer substratlar, aminoasitler, yağ asitleri ancak uzun süren hipoglisemi durumlarında glukozun yerini doldurmak üzere kullanılırlar.

Beyin dokusunun glukozdan yoksun kalması oksijen kullanımını ileri derecede azaltır, anoksiye neden olur. Glukoz noksanlığı sonucu Na⁺ ve K⁺ nun hücre içine geçmesine bağlı olarak beyin ödemi meydana gelir.

Glukoz noksanlığının neden olduğu belirtiler kan şekerinin % 45 mg' ın altına düşmesinden sonra ortaya çıkar. Ancak kan şekeri düzeyi ile belirtilerin şiddeti arasında kesin bir ilişki yoktur. Kritik kan şekeri düzeyinin altında hipoglisemi belirtileri görülmeyebildiği gibi, daha yüksek kan şekeri düzeylerinde belirtilerin ortaya çıkması mümkündür. Bu sonucusuna, beyin kan dolaşımı ateroskleroz nedeni ile bozulmuş olan yaşlı kimselerde daha sık rastlanır.

Hipoglisemiye ait belirtilerin ilki sempatik ve adrenerjik sisteme bağlı olan sinirlilik, baygınlık, açlık hissi, titreme, çarpıntı ve terlemedir. Bu belirtilerin ortaya çıkması ve derecesi kişiden kişiye farklılık gösterir. Burada sempatik sistemin duyarlık eşiği rol oynar. Ayrıca kan şekerinin düşme hızının da rolü olsa gerektir. Sempatik ve adrenerjik sistemin uyarılmasına bağlı olan bu belirtilerin yanı sıra baş ağrısı, bulanık veya çift görme, şuur bulanıklığı, konfüzyon hali görülür. Daha ağır durumlarda, konvülziyon, paralizi ve koma oluşabilir. Solunum ve dolaşım gibi hayati fonksiyonları kontrol eden merkezlerin etkilenmesi sonucu ölüm meydana gelebilir. Kan şekeri zamanında yükseltirse belirtiler kaybolur. Ancak, ağır ve uzun sürmüş olan, beyin hücrelerinin tekrar fonksiyon kazanmasına imkan vermeyecek derecede harab olmasına neden olmuş hipoglisemilerde, kan şekeri normale dönse de belirtiler düzelmez. Hipoglisemiden ölenlerin beyin dokusunda ufak nekroz odakları bulunur. Bunlar iskemik nekrozlardır; en çok kortekste, bazal ganglionlarda ve vazomotor merkezlerde görülür(3).

Hipoglisemilerin Sınıflandırılması :**1- Besin alınmasından sonra meydana gelen hipoglisemiler;**

Fonksiyonel, reaktif hipoglisemiler

Diabetin erken döneminde görülebilen hipoglisemi

Dumping sendromu

Lösine bağlı hipoglisemi (lösine aşırı duyarlılık)

Früktoza bağlı hipoglisemi (Herediter früktoz entoleransı)

Galaktoza bağlı hipoglisemi (Galaktozemi)

2- Organik hipoglisemiler veya açlık hipoglisemileri

Nesidioblastozis (Beta hücresi hiperplazisi)

İnsülinoma (Beta hücresi tümörü)

Pankreas dışı tümörler (Mezetelioma, karsinoma)

Otoimmün hipoglisemiler (insülin antikorlarına bağlı)

Ağır karaciğer parankim hastalığı ve hepatektomilerden sonra görülen
hipoglisemiler

Glikojen depo hastalığı

Hipofiz yetersizliği

3- Ekzojen hipoglisemiler

İnsüline bağlı

Sülfanilüre grubu ilaçlara bağlı

Alkole bağlı

NESİDİOBLASTOZİS

Hiperinsülinizm geçmişte idiyopatik hipoglisemi, lösine hassas hipoglisemi, familial hipoglisemi, yeni doğan insülinoması ve nesidioblastozis olarak isimlendirilirken şimdilerde kalıcı hiperinsülinemik hipoglisemi olarak isimlendirilmektedir. Son 30 yılda yeni doğan ve çocukluk döneminin dirençli hipoglisemisinin bir sebebi olduğu açıkca ortaya konmuştur(4).

Bir yaşın altındaki çocukların dirençli hipoglisemisinin en yaygın sebebi infantil nesidioblastozistir(6). Hastalığın tarihi seyri içinde değişik şekillerde tanımlanması terminolojide karışıklık oluşturmaktadır. İzole beta hücresi adenomu, diffüz beta hücresi hiperplazisi, mikroadenomatosis, fokal adacık hücresi adenomatozu, fonksiyonel beta hücresi bozukluğu ve nesidioblastozis bu tanımlardan bazılarıdır(7,8,9,10,11). Bu olguların klinik ve biyokimyasal olarak ayrılması mümkün değildir ve son immünohistokimyasal çalışmalar bunların farklı antiteler değil fetal hayatta pankreas dokusundaki uygunsuz gelişmenin varyantları olduğunu düşündürmektedir(12).

Laidlaw, pankreas kanal hücrelerinin yeni asiner doku ve adacık hücreleri meydana getirebileceğini ileri sürerek blastik duktus hücrelerinden anormal olarak gelişen pankreas adacık hücrelerini vurgulamak üzere buna nesidioblastozis adını verdi(13). Brown, Young, Yakovac, Baker ve Hummeler düzeltilemeyen hipoglisemili çocuklarda diffüz nesidioblastozisin varlığına ilk kez dikkati çektiler ve son iki otör bu endokrin anomalinin sadece insüline spesifik boyama metoduyla teşhis edilebileceğini vurguladılar(14,15).

İnsidans:

Nesidioblastozis yeni doğan dönemindeki kalıcı hipogliseminin en sık sebebini oluşturur. Stanley ve Baker tarafından farklı merkezlerin gözden geçirilmesi sonucu yayımlanan rapor göstermiştir ki, kalıcı hipoglisemi gösteren yeni doğanların %50'sinde nesidioblastozis gösterilmiştir(16).

Bir yaşından büyük çocuklarda ketotik hipoglisemi (açlığa bağlı fonksiyonel hipoglisemi) hipogliseminin en sık sebebini oluşturur. Hiperinsülinizm bu yaş grubunda çok nadirdir. Fakat eğer tesbit edilecek olursa genellikle bunun sebebi adacık hücre adenomu gibi iyi sınırlanmış bir lezyona bağlı olabilir. Carcassone ve arkadaşları 1971 den 1981'e kadar yaptıkları literatür taramasında bir yaşından büyük hiperinsülinizmlili 64 hastanın 47'sinde lokalize lezyon tesbit etmişler. Buna karşılık bu dönemdeki 160 hiperinsülinemik yeni doğanın 37'sinde lokalize lezyon bulmuşlardır(17).

Histopatoloji:

Başlıca iki histopatolojik nesidioblastozis formu tarif edilmiştir. Lokal ve yaygın form; Witte ve arkadaşlarına göre lokal lezyonlar, nesidioblastozisli hastaların 1/3'ünde (178 hastanın 65'inde) tesbit edilmiştir(18). Son zamanlarda Goosseris ve arkadaşları ise lokal ve diffüz formların eşit sıklıkta görüldüğünü bulmuşlardır(19). Lokal lezyonlar genelde kolayca tanınabilirler, geç çocukluk çağında görülen soliter adenomlardan adacık şeklindeki hücre tümörleri olan nodüler hiperplazi şeklinde olabilirler. Nodüler hiperplazili olanlar duktal ve insüliner komplekslerin ve dev çekirdekli hipertrofik insülin hücrelerini içerir. Bu

lezyonlar , çok küçük olabilir, dik yerleşimli veya multifokal veya yaygın nezidioblastozisle birlikte olabilirler(5).

Diffüz nesidioblastozisin histopatolojik değişikliklerini tanımlamak oldukça zordur. Bu formdaki histolojik anomaliler Heitz, Polak ve Bloom tarafından tanımlandı. Bunlar; total endokrin sahanın artışı, duktuloepiteliyal hücreler arasında yer alan endokrin hücrelerin bir kısmının veya tamamının epitelyumunda tomurcuklanma ve somatostatin hücrelerinin sayı, büyüklük, granülasyon miktarında azalmadır(12,20).

Son zamanlarda bir çok araştırmacı grup, nezidioblastozisin hem fokal hem de yaygın formundaki bulguların esasını, pankreasın beta hücrelerindeki DNA ve çekirdek miktarındaki artış olduğunu belirtmişlerdir. Her ne kadar bu bulgudaki kesinlik tam açıklanmamış ise de bu değişiklik, temeldeki fonksiyonel defektin bir sonucu olarak beta hücrelerinin artmış metabolik fonksiyonunun göstergesidir (19,21,22).

Nesidioblastozis, muhtemelen genetik bir zemin üzerinde beta hücrelerinin fonksiyonel defektine bağlı gelişmekte olup, halen üzerinde araştırmalar yapılmaktadır. Aynsley-Green ve arkadaşları; nesidioblastozisli bir hastanın pankreas hücre kültüründe, kısa süreli insülin sekresyon çalışmasında glukoz karşı insülin cevabında eşik değerinin önemli derecede azaldığını göstermiştir. İnsülin salınımı ve biyosentezi oldukça düşük glukoz konsantrasyonlarında maksimum olarak uyarılmaktaydı (4 mmol/L konsatrasyonda),(11).

Nesidioblastozisli hastaların genetik bir zeminde gelişeceği bir çok ailesel birikim gösteren raporlarla desteklenmiştir. Landau ve Schiller 31 hastanın 15'ini 6 aile içinde tesbit etmiştir(23,24).

Klinik :

Teşhis spesifik immünohistokimyasal metodlarla hormon üreten hücrelerin tanımlanmasına dayanır. Bazı pankreaslarda lokalize adenom ya da mikroadenomatozis diffüz nesidioblastozisle birlikte bulunabilir(12).

Kalıcı hiperinsülinemik hipoglisemisi bulunan çocuklarda yapılan laparotomi ile parsiyel ya da total pankreatektomi sonucu vakaların tümünde nesidioblastozis tesbit edilmiştir(11).

Hastaların çoğu doğumdan sonraki ilk üç gün içinde konvülsiyonu da içeren hipoglisemi semptomları gösterirler. Bunların büyük bir kısmı diabetik annenin bebeğine benzer bir fizik görünümüne sahiptirler(25,26). Nesidioblastozis, beklenmeyen erken neonatal ölüme sebep olabilir. İlk altı aydan sonra hiperinsülinizm görülen vakalarda hastalığın lokalize formu düşünülebilir (27,28).

Nesidioblastozisin yeni doğandaki şiddetli formu, doğumdan sonra 48 saat gibi kısa bir süre ile aşkar hale gelir. Kan şekeriindeki düzensizlik karakteristik olup beslenmeden sonra bir saat veya daha az sürede hipoglisemi epizotları gelişebilir(4).

Nesidioblastozisin hafif formda hipoglisemi doğumdan sonra altı aya kadar gecikebilir ve bir yaşına doğru sıklık giderek azalır. Bir yaş ve üzerindeki çocuklarda hipoglisemi atakları ara ara çıkabilir. Açlığa karşı tolerans çok sınırlı olup üç ile altı saat arası bir açlık hipoglisemiyi ortaya çıkarır(4).

Klinik bulguların esasını merkezi sinir sistemindeki şeker konsantrasyonunun düşüklüğü oluşturur. Yeni doğan dönemdeki klinik bulgular siyanoz, laterji, hipotoni, hipotermi, beslenme güçlüğü, tiz sesle ağlama, irritabilite ve konvülsiyon gibi nonspesifik, daha büyük çocuklarda ise generalize konvülsiyon en aşikar ve en sık klinik bulgudur. Aşırı katekolamin deşarjına bağlı olarak ortaya çıkan solukluk, titreme, taşikardi ve soğuk terleme gibi belirtiler esas olarak büyük çocuklarda görülür(29,30).

Klinik bulgular nonspesifik olduğu için glukozun ölçülerek tesbit edilmesi ve glukoz uygulaması ile semptomların kaybolduğunu göstermek önemlidir. Nörolojik hasar ve mental gerilik süt çocuğunun geç dönemlerine doğru aşikar hale gelir(31).

Her ne kadar yeni doğan dönemindeki nesidioblastozisten etkilenen çocuklarda spesifik fiziksel bulgu olmasa da iki bulgu özellikle şüphe ettiricidir. Birincisi bu bebekler gebelik yaşlarına göre daha iridirler. Bunlar yüksek karbonhidratlı besinlerle uzun süre beslendiklerinde hipoglisemiyi baskılayarak daha da şişman hale gelebilirler. İkinci bulgu ise bu çocuklarda belirgin ve ilerleyici karaciğer büyümesinin olmamasıdır(5).

MATERYAL ve METOD

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Kliniği Deney Laboratuvarı, Histoloji ve Patoloji Anabilim Dalı ile iş birliği içinde gerçekleştirilen çalışmada 40 adet, 116 ile 285 gr ağırlığında erişkin Wistar Albino cinsi erkek ratlar kullanıldı.

Ratlar eter inhalasyon anestezisi ile uyutuldu. Tüm ratlar, sağ kulaklarına metal plak ve numarator yardımıyla 1'den 40'a kadar numaralandırıldı. Ağırlıkları elektronik tartı aletiyle belirlendi. Ratlardan, streptozotosin(STZ) verilmeden önce kuyruk veninden insülin enjektörüyle 0.5 cc kan örneği alındı. Bu kan örneklerinden açlık kan şekeri(AKŞ), spektrofotometrik glukoz oksidaz yöntemiyle çalışan Biotrol isimli kit ile, plazma insülin değerleri ise Radioimmunassay(RIA) yöntemiyle, DPC isimli kit kullanılarak Tecnicon otoanalizör cihazında ölçüldü. Aynı zamanda Medi-Test Combi 9 stick yardımıyla idrar şekerlerine bakıldı. Anestezi altında tüm ratlara 40 mg/kg/gün tek doz olmak üzere 4 gün süreyle streptozotosin intraperitoneal olarak verildi (Şekil 1) . Kullanılan STZ, 1gr streptozotosin 2 - deoxy - 2 - [[(methylnitrosoamino) carbonyl] amino] - α - D - glucopyranose, 220 mg citric acid anhydrous yapıda olup Zanosar preparatı olarak kullanılmaktadır ve Upjohn Company Kalamazoo firmasına aittir. 5. günde ratlar tartıldı, idrar şeker değerleri tekrar belirlendi.

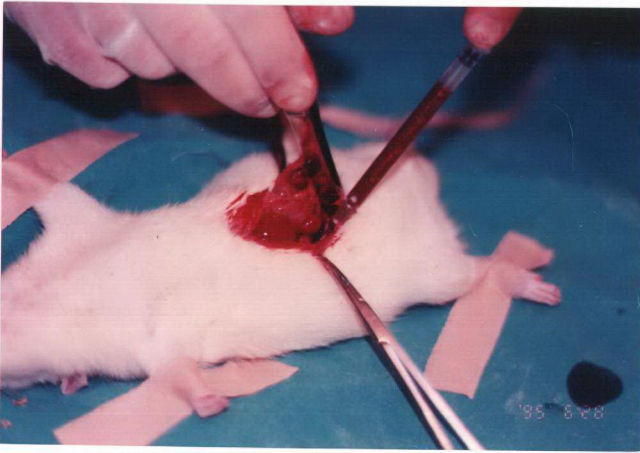


Şekil 1: Ratlara intraperitoneal streptozotosin enjeksiyonu

STZ sonrası 5.günde 40 rat 10'ar deneklik 4 gruba ayrıldı.

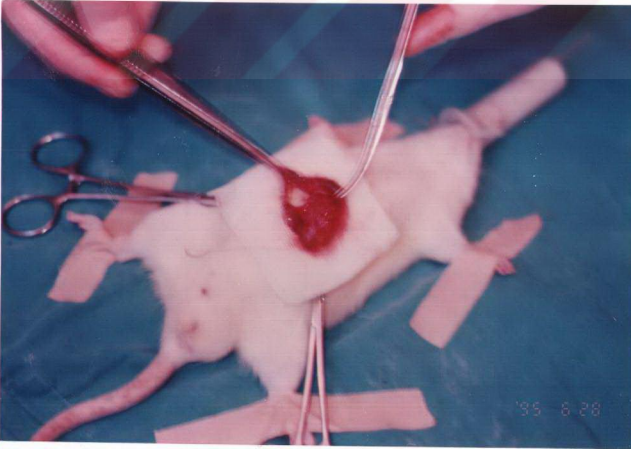
- | | | |
|-----------|--|-------------|
| I. Grup | : STZ - Kontrol grubu + Sham ameliyatı | (10 adet) |
| II. Grup | : STZ + Polipropilen ile Wrapping(Sarma) grubu | (10 adet) |
| III. Grup | : STZ + Krome Katgüt ile Wrapping grubu | (10 adet) |
| IV. Grup | : STZ + Polisülfon ile Wrapping grubu | (10 adet) |

Tüm gruplardaki ratların anestezi sonrası karınları traş edildi. Median kesiyle laparotomi yapıldı. AKŞ ve insülin değerlerinin bakılması için vena portadan insülin iğnesi ile 2,5 cc kan örneği alındı(Şekil 2). Sonra kontrol grubundaki ratların pankreasları prepare ve manüple edildi.



Şekil 2: Açık rat karnından V.porta yoluyla kan örneği alınması.

STZ + Polipropilen ile wrapping grubundaki(II.Grup) ratlara aynı şekilde laparotomi yapıldıktan sonra pankreasları prepre edildi. Pankreasın başı hizasından avasküler peripankreatik dokudan geçilerek burs şeklinde pankreas çepeçevre, transkapsüler polipropilenle(5/0, atravmatik) dönüldü ve parankimde yaralanma olmamasına özen gösterildi. Pankreas kanalında parsiyel stenoz yapacak şekilde bağlandı(Şekil 3).



Şekil 3: Pankreas başının wrappingi (sarılması).

STZ + Krome katgüt ile wrapping grubunda(III.Grup) tüm deneklere I. Grupta olduğu gibi wrapping, 2/0 atravmatik krome katgüt ile yapıldı.

STZ + Polisülfon ile wrapping grubunda(IV.Grup) materyal olarak polisülfon kullanıldı. Wrapping materyali olan polisülfon, hemodiyaliz ünitesindeki filtrelerden elde edilerek gaz sterilizatörde sterilize edildi. Bu gruptaki deneklerin pankreasları en ince barsak - tel iğnesine geçirilen 2 mm enindeki polisülfon teyple sarıldı.

Laparotomi yapılan tüm ratların karınları atravmatik ipek sütür materyali ile kapatıldı. Denekler özel kafeslerde 3 hafta bekletildi. Deneklere bu süre içinde standart sıçan yemi ve su verilip, klinik seyirleri izlendi. 3 hafta sonra anestezi altında tüm ratların ağırlıkları ve idrar şekerleri tekrar tesbit edildi. Deneklerin hepsine relaparotomi uygulandı. Vena portalarından insülin iğnesi ile AKŞ ve insülin değerlerine bakılmak üzere tekrar kan örnekleri alındı. Daha sonra histopatolojik inceleme amacıyla tüm deneklere total pankreatektomi yapıldı.

Postmortem pankreas piyesleri %10'luk formaldehit solüsyonunda histopatolojik inceleme için fikse edildi. Yıkama işlemini takiben alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edilen parçalar parafine gömülerek bloklandı. 5 mikron kalınlığında alman kesitler Hematoksilen - Eozin , Gomori'nin Aldehit Fuksin, Halami Modifiye Aldehit Fuksin histokimyasal metodlarıyla boyandılar.

İstatistiksel Analiz:

APPS/Minitab istatistik programıyla bilgisayarda, Student's T testi ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık $P < 0.05$ ve daha düşük değerler kabul edildi.



BULGULAR

Klinik Bulgular:

Çalışma boyunca tüm ratlara streptozotosin verilmeden önce, STZ verildikten sonra 5.gün ve wrapping döneminde hergün klinik olarak gözlemlendi. Streptozotosin verildikten sonra ratların idrar debilerinde, yem ve su tüketimlerinde, tüylerinin dökülmesinde artış, ağırlık ve cilt altı yağ dokularında azalmanın olduğu (Diabet bulguları) görüldü.

I. Grupta (Kontrol grubu) STZ öncesi ve sonrası(5.gün), ağırlık değerleri arasında farklılık vardı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı($P<0.05$). STZ ve sham operasyonu sonrası tüm denekler progressif olarak kilo kaybettiler. Bu grupta 3 denek 9 ve 11. günlerde kaybedildi(Tablo 1).

Tablo 1: Kontrol grubu deneklerin ağırlık ölçümleri.

	STZ öncesi (Bazal ağırlık)	STZ sonrası (5. Gün)	Sham Op. sonrası (21. Gün)
Ratlar	Ağırlık (gr)	Ağırlık (gr)	Ağırlık (gr)
1.	276	240	-
2.	190	162	143
3.	172	155	165
4.	173	149	120
5.	228	201	193
6.	263	123	-
7.	252	247	220
8.	187	151	131
9.	157	132	112
10.	192	120	-

II. Grupta STZ verilmeden önceki bazal ağırlık değerleri ile STZ verildikten sonraki(5.gün) ağırlık değerleri arasında fark istatistiksel olarak anlamlıydı($P<0.05$). Wrapping döneminde hayvanların 3'ü 10,13 ve 15.günlerde kaybedildi. Wrapping sonrası yaşayan deneklerde uygulama öncesine göre hayvanların üçünün kliniğinde bariz düzelme görüldü($P<0.05$). Bu deneklerin ağırlıklarının 5.gün değerlerinden yüksek olduğu ve uygulama öncesi bazal ağırlıklarına yaklaştıkları gözlemlendi($P>0.05$),(Tablo 2).

Tablo 2: Polipropilen ile Wrapping grubu deneklerin ağırlık ölçümleri.

	STZ öncesi (Bazal ağırlık)	STZ sonrası (5. Gün)	Wrapping sonrası (21. Gün)
Ratlar	Ağırlık (gr)	Ağırlık (gr)	Ağırlık (gr)
1.	200	120	-
2.	273	180	263
3.	285	235	230
4.	148	100	157
5.	290	240	232
6.	165	100	-
7.	240	180	166
8.	267	241	237
9.	150	92	-
10.	130	90	124

III. Grupta denekler STZ öncesi bazal ağırlıklarını, STZ sonrasında anlamlı şekilde kaybettiler($P<0.05$). Wrapping döneminde bu gruptan 5 denek 7,8,10,15 ve 18. günlerde kaybedildi. Yaşayan deneklerin 2'sinin 5.gün değerlerine nisbetle kilo almaları anlamlı olup diğer deneklerin ağırlıkları azalmaya devam etti($P<0.05$). Bu 3 deneğin ağırlıklarının 5.gün değerlerinden yüksek olduğu ve bazal ağırlıklarına yaklaştıkları gözlemlendi.($P>0.05$),(Tablo 3).

Tablo 3: Krome katgüt ile wrapping grubu deneklerin ağırlık ölçümleri.

	STZ öncesi (Bazal ağırlık)	STZ sonrası (5. Gün)	Wrapping sonrası (21. Gün)
Ratlar	Ağırlık (gr)	Ağırlık (gr)	Ağırlık (gr)
1.	320	244	-
2.	183	175	186
3.	170	155	187
4.	189	104	-
5.	240	130	-
6.	182	180	160
7.	170	152	140
8.	148	135	110
9.	240	170	-
10.	220	168	-

IV. Grupta STZ öncesi ve sonrası(5.gün) denekler yine anlamlı şekilde kilo kaybettiler($P<0.05$). Wrapping döneminde bu gruptan 4 denek 10,14,17 ve 18.günlerde kaybedildi. Yaşayan 6 deneğin 2'sinin 5.gün değerlerine oranla

ağırlıklarında artışın anlamlı olup diğer 4 deneğin ağırlıklarında azalmanın devam ettiği gözlemlendi.($P<0.05$). Bu 2 deneğin ağırlıklarının 5.gün değerlerinden fazla olup uygulama öncesi bazal ağırlıklarına yaklaştıkları gözlemlendi($P>0.05$),(Tablo 4).

Tablo 4: Polisülfon ile wrapping grubu deneklerin ağırlık ölçümleri.

Ratlar	STZ öncesi (Bazal ağırlık)	STZ sonrası (5. Gün)	Wrapping sonrası (21. Gün)
	Ağırlık (gr)	Ağırlık (gr)	Ağırlık (gr)
1.	155	116	149
2.	200	166	140
3.	261	220	200
4.	188	150	-
5.	207	167	146
6.	116	108	-
7.	170	138	121
8.	160	128	155
9.	220	159	-
10.	240	180	-

Laboratuvar Bulgular:

STZ verilmeden önce ratların açlık kan şekeri değerlerinin 80-140 mg/dl, plazma insülin değerlerinin 20-40 μ IU/ml, idrar şekerinin negatif olduğu görüldü ve bu durum normoglisemik ve normoinsülinemik olarak değerlendirildi.

Streptozotosin verilerek diabet oluşturulan her bir gruptaki ratın açlık kan şekeri seviyesinin 140 mg/dl'nin üzerinde olup idrar şekerlerinin 1000 mg/dl'den fazla ve plazma insülin seviyelerinin 20 μ IU/ml'nin altında olduğu görüldü ve hiperglisemik(diabet) olarak kabul edildi.

I. Grupta(Kontrol grubu) STZ verilmeden önce ve sonra AKŞ seviyelerinin bariz olarak yükselerek hiperglisemik düzeylere geldiği($P<0.001$), insülin değerlerinin ise azaldığı görüldü($P<0.001$). Sham operasyonu sonrasında bu gruptaki tüm deneklerde AKŞ değerlerinde artma($P<0.001$), insülin değerlerinde azalmanın devam ettiği gözlemlendi($P<0.001$). 5.gün ve 21.gün AKŞ ve insülin değerleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olması($P>0.05$), yaşayan denek sayısının düşük olması nedeniyledir(Tablo 5).

Tablo 5: Kontrol grubu deneklerin AKŞ ve insülin değerleri.

Ratlar	STZ öncesi		STZ sonrası(5. Gün)		Sham Op. sonrası (21. Gün)	
	AKŞ (mg/dl)	İnsülin (μ IU/ml)	AKŞ (mg/dl)	İnsülin (μ IU/ml)	AKŞ (mg/dl)	İnsülin (μ IU/ml)
1.	126	25.6	290	10.2	-	-
2.	120	24.4	264	8.7	255	7.5
3.	120	38.7	195	6.3	123	30.5
4.	129	27.8	206	6.7	202	8.3
5.	102	20.2	227	5.9	214	6.1
6.	100	37.1	255	4.1	-	-
7.	133	28.8	201	17.3	238	10.4
8.	103	37.2	189	15.2	201	14
9.	118	25.4	229	3.2	239	3.4
10.	120	21.9	225	3.5	-	-

II. Gruptaki deneklerin STZ verilmeden önce ve sonraki AKŞ, insülin değerleri arasında anlamlı bir fark olup STZ vildikten sonra AKŞ değerlerinde belirgin bir artma görülürken($P<0.001$), insülin değerlerinde azalma anlamlıydı($P<0.001$). Wrapping sonrası yaşayan 7 deneğin üçünde AKŞ ve insülin değerlerinin çalışma öncesi normal değerlere yaklaştığı tesbit edildi($P<0.05$). Bu üç denekte 5.günde yükselmiş olan AKŞ'nin azaldığı($P>0.05$), normal değerlerin altında olan insülin değerinin yükselerek normal sınırlara yaklaştığı görüldü($P>0.05$), (Tablo 6).

Tablo 6: Polipropilen ile wrapping grubu deneklerin AKŞ ve insülin değerleri.

Ratlar	STZ öncesi		STZ sonrası (5. Gün)		Wrapping sonrası (21. Gün)	
	AKŞ (mg/dl)	İnsülin (μ IU/ml)	AKŞ (mg/dl)	İnsülin (μ IU/ml)	AKŞ (mg/dl)	İnsülin (μ IU/ml)
1.	120	36	199	5.2	-	-
2.	119	30.6	230	19.1	115	28.3
3.	137	18.3	213	8.3	220	7.2
4.	125	21.3	200	10.28	124	23.4
5.	141	20.3	196	12.56	211	7.1
6.	128	40.1	240	21.8	-	-
7.	135	18.46	253	4	218	12.38
8.	115	30.1	245	9.4	240	10
9.	125	24.2	192	17.8	-	-
10.	110	33.4	295	5.8	117	29.2

III. Gruptaki deneklerin STZ verilmeden önceki ve sonraki 5.günde AKŞ değerlerinde bariz bir artma görülürken($P<0.001$), insülin değerlerinde de yine azalmanın olması anlamlıydı($P<0.001$). Wrapping sonrası bu grupta yaşayan 6 denegin üçünün de normoglisemik ve normoinsülinemik seviyelere geldiği gözlemlendi($P>0.05$). Bu 3 denekte 5.günde yüksek bulunan AKŞ değerlerinin düştüğü, insülin değerlerinin artarak normal seviyeler arasına geldiği izlendi. 5.gün ile 21.gün insülin değerleri ortalaması farkı anlamsızdı($P>0.05$), (Tablo 7).

Tablo 7: Krome katgüt ile wrapping grubu deneklerin AKŞ ve insülin değerleri.

Ratlar	STZ öncesi		STZ sonrası (5. Gün)		Wrapping sonrası (21. Gün)	
	AKŞ (mg/dl)	İnsülin (μ IU/ml)	AKŞ (mg/dl)	İnsülin (μ IU/ml)	AKŞ (mg/dl)	İnsülin (μ IU/ml)
1.	129	21.6	283	3.8	240	7
2.	140	24	250	7.8	135	21.4
3.	125	21	305	15.8	80	36.5
4.	137	36.6	394	3.6	-	-
5.	118	22	467	5.8	-	-
6.	105	22.5	200	4.48	220	3.2
7.	131	24.3	231	8	232	7.4
8.	123	20.48	287	4.52	291	3.5
9.	121	31.4	255	4.9	-	-
10.	135	21.5	280	4.48	-	-

IV. Grup deneklerinde ise STZ verilmeden önce ve sonraki 5.gün AKŞ değerlerinde belirgin bir artma($P<0.001$), insülin değerlerinde ise azalma tesbit edildi($P<0.001$). Wrapping sonrası bu grupta yaşayan 6 deneğin 2'ünde de AKŞ değerleri normoglisemik($P<0.05$), insülin seviyeleri ise normoinsülinemik değerlere geldi($P<0.05$). Bu gruptaki 2 deneğin 5.gündeki yüksek AKŞ seviyelerinde düşme, insülin değerlerinde ise artarak normal sınırlara gelmesi anlamlıydı. Grup denekleri tümüyle karşılaştırıldığında 5.gün AKŞ ve insülin değerleri ile 21.gün değerleri arasındaki fark anlamsızdı($P>0.05$), (Tablo 8).

Tablo 8: Polisülfon ile wrapping grubu deneklerin AKŞ ve insülin değerleri.

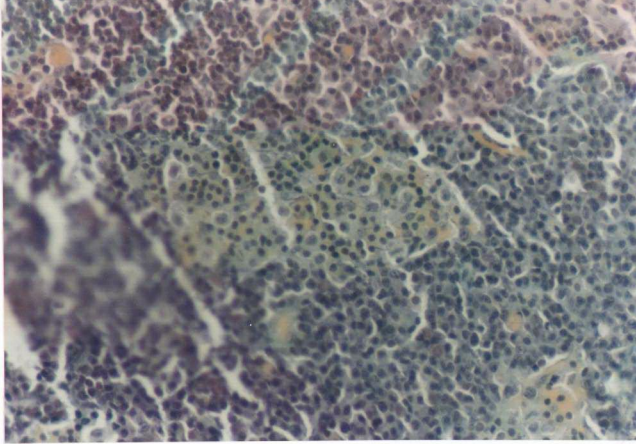
Ratlar	STZ öncesi		STZ sonrası (5. Gün)		Wrapping sonrası (21. Gün)	
	AKŞ (mg/dl)	İnsülin (μ IU/ml)	AKŞ (mg/dl)	İnsülin (μ IU/ml)	AKŞ (mg/dl)	İnsülin (μ IU/ml)
1.	140	20.1	273	6.4	127	26.2
2.	134	28.42	302	4.64	298	5.2
3.	100	32.3	300	6.52	350	4.1
4.	126	25.6	198	8	-	-
5.	103	38.3	264	16.42	270	15.2
6.	111	24.2	178	7.1	-	-
7.	112	32.4	227	13	230	8.2
8.	112	27.1	225	9.6	125	22.4
9.	117	30.8	164	14.8	-	-
10.	123	21.5	250	7.4	-	-

Histolojik Bulgular :

Yapılan ışık mikroskopik inceleme sonucunda endokrin adacıklarında ve hacminde azalma görüldü. Aldehit Fuksin boyamalarında arterlerin elastika internalarının net bir şekilde boyanması bu boyanın aktif olarak çalıştığının göstergesidir.

Var olan adacıklarda yapılan değerlendirme sonucunda kısmi olarak yeşil renkli alfa hücreleri ağırlıklı olmak üzere adacıkta gözlenirken beta hücreleri gözlenemedi. Bu boya metoduna göre koyu mor renkli gözlenmesi gereken beta hücreleri pankreasın tüm kesiti boyunca gözlenmedi(Normoglisemik ve normoinsülinemik denekler dahil).

Adacık sayılarının normale yakın olduğu, ancak çaplarının küçük olması dikkat çekici bulgulardandı(Şekil 4).



Şekil 4: Wrapping sonrası 21.günde rat pankreaslarının histolojik görüntüsü (II.Grup), (Diğer grupların histolojik görüntüsü de buna benzerdi).

TARTIŞMA

Sreptozotosin ile beta hücreleri tahrip edilerek diabetik yapılmış olan özellikle hamsterlerin pankreasları baş tarafından ince (0.5-2 mm) selofan teyple sarıldığında; diabetik hamsterlerin %50 oranında normoglisemik olduğu gösterilmiştir(32).

Tüm adacık hücrelerinin fakat özellikle beta hücrelerinin indüklenmesine yol açan bu deneysel nesidioblastoziste wrappingin neden olduğu kısmi kanal obstrüksiyonu kanaliküler epitel hücrelerinin hiperplazisine götürür. Bu kanalikül hücrelerinden de tomurcuklanma yoluyla yeni endokrin adacıkları gelişmektedir (33,34,35).

Hemen hemen bu alandaki tüm çalışmalar Suriye hamsterlerinin pankreasları üzerinde ve yalnız selofan sarılarak ortaya konmuştur. Ancak bir grup çalışmacı yayınlanmamış çalışmalarında, bu deneysel çalışmaların hamsterlere spesifik olmayıp rat ve kedilerde de oluşturulduğunu yazmaktadırlar(36).Bu çalışmaların bir diğer ilgi çekici yanı literatürdeki deneysel nesidioblastozisin büyük bölümü aynı merkezden, Kanada'dan yayımlanmış olmasıdır.

Her ne kadar araştırmacılar bu sonuçların hayvana spesifik olmadığını ileri sürmekte iselerde selofana spesifik olup olmadığı konusunda bir bilgiye yer vermemektedirler. Ve de selofanın bu etkiyi nasıl yaptığı konusunda net bir bilgi sahibi değildirler.

İşte yukarıda verilen bazı karanlık noktalara açıklık getirmek üzere başlattığımız bu çalışmada acaba gerçekten hamsterler dışında böyle bir sonuç elde etmek mümkün müdür ? Yine selofanla sarma yerine diğer tür materyallerle yapılacak sarmaların etkisi nasıl olacaktır düşüncesinden hareketle yola çıktık. Çalışmalarımızın sonuçlarını da bu düşünce sistematığı üzerinden irdelleyeceğiz.

Çalışmamızda streptozotosin verilen tüm deneklerin diabetik olduğu klinik ve laboratuvar bulguları ile kanıtlanmıştır. STZ öncesi ve sonrası 5.günde alınan AKŞ ve insülin değerleri arasındaki fark istatistiksel bakımdan anlamlıydı($P<0.001$). Değişik çalışmalarda streptozotosinin diabet yapma dozu 30-40 mg/kg/gün (3 gün süre ile) olarak verilmektedir(36). Çalışmamızda gün uygulamasını 4'e çıkararak STZ'nin diabet geliştirme etkisinden kesin emin olmayı amaçladık. Hayvanlarda görülen polifaji, polidipsi ve poliüri gibi bulgular laboratuvar bulgularıyla uyum içindeydi.

Yalnız STZ verilen bilahare sham ameliyatı yapılan kontrol grubunda STZ öncesi bazal ağırlık ve sonrası 5.günde ağırlık değerleri arasındaki fark istatistiksel bakımdan anlamlıydı. Bu gruptaki denekler biri dışında sürekli olarak kilo kaybettiler. Deneklerin 5.gün ile sham operasyonu sonrası 21.günde ağırlıkları arasındaki farkın istatistiksel yönden anlamlı olması diabetlerinin devamını gösteriyordu. Bu da STZ'nin geri dönüşümsüz beta hücrelerini tahrip ettiğinin kanıtıydı.

Literatürde pankreası sarmak için selofan dışında bir materyale rastlamadığımızı belirtmiştik. Çalışmalarımızda polipropilen ile sarma yaparak onun

etkisini görmek istedik(II. Grup). Bu grupta 3 deneğin diabetinde klinik iyilik tesbit edilirken ağırlıklarının da STZ öncesi değerlere yaklaştığı görüldü. Grupta 3 denek kaybedildiğinden 7 deneğin 3'ünde iyi derecede klinik sonuç olumlu olarak görüldü. Literatürde polipropilen kullanan çalışma olmadığı için sonuçlar selofan ile sarılan çalışmaların sonuçlarına uygunluk göstermektedirler(36).

Krome katgütle sarma yapılan deneklerden (III.Grup) 5, pankreasları polisülfonla sarılanlardan(IV.Grup) 4 denek kaybedilirken her iki grupta 2 şer denekte ağırlıkları yönünden iyilik görüldü. III.grupta 3, IV.grupta 4 denekte klinik sonuçları iyi değildi.

Tüm gruplarda bazal ve 21.gün AKŞ ve plazma insülin değerleri ortalamaları arasındaki fark ileri derecede anlamlı($P<0.001$) olduğu halde; 5. ve 21.günlerin AKŞ ve insülin değerleri arasındaki fark anlamlı değildi($P>0.05$). Bu değer yaşayan denek sayısının düşük olması nedeniyledir. Pankreasları selofanla sarılan diabetik hamsterlerin %50'sinin 7. haftanın sonunda kan şekerlerinin normale döndüğü; kontrol grubunda ise bu oranın %12 olduğu gösterilmiştir(32). Çalışmamızda kontrol grubunda yalnız bir denek sham operasyonu sonrası normoglisemik(1/7, %14) hale dönerken II.grupta 3, III.grupta 2, IV.grupta 2 denek normoglisemik ve normoinsülinemik düzeye geldi.

Deneklerimiz wrappingden sonra 3. haftanın sonunda sakrifiye edildi. Deneysel nesidioblastozisin öncülüğünü yapan Rosenberg ve arkadaşları bu tür çalışmalar için prototip hayvan olarak(pankreası itibariyle) hamsterleri seçmiş ve yine klasik wrapping materyali olan selofanı kullanmıştır. 7 hafta bekledikten sonra

%50'lik ve %12'lik deney ve kontrol gruplarında sırasıyla (serum insülin ve şeker düzeylerinde) iyilik elde etmişlerdir. Çalışmamızda çalışma gruplarında sırasıyla elde edilen %43, %40, %33'lük iyilik AKŞ'de düşerek normale gelme, insülin düzeylerinde de azalma şeklinde kendini göstermiştir. Elde ettiğimiz yüzde başarı oranları literatür değerlerine uygun verilerdir.

Streptozotosinle diabet geliştirilen deneklerde pankreasın selofanla sarılması kanalikül epitelinde hiperplaziye götürür. Distal uçtaki bu epitel hücrelerinden torumcuklanma yoluyla yeni adacık hücreleri meydana gelir. Bu hücreler beta ağırlıklı olmak üzere alfa ve delta hücrelerini de içerir(36). Bu experimental nesidioblastozistir. Selofanın pankreas adacık hücreleri üzerinde mitojenik etkisi vardır(35). Bunun olabilmesi için selofan teypin pankreas kanalını kısmen daraltması gerekir. Aksi halde nesidioblastozis görülmez. Rosemberg ve arkadaşlarının yaptığı böyle bir çalışmada, pankreasın duodenal lobu wrapping dışında tutulduğu için bu lobun ne kanalında epitelyal hiperpilazi ne de adacık hücrelerinde artış görülmüştür(37).

Çalışmamızda wrapping yapılan 3 grupta da ne kanal ya da kanaliküllerde epitelyal hiperpilazi ne de net nesidioblastozise rastlanmadı. Bunun nedeni nedir ? Streptozotosinle diabet geliştirilen deneklerde wrappingden sonra klinik ve laboratuvar değerlerinde belli oranlarda düzelme (normoglisemi ve normoinsülinemi) görülmesine karşın bulgular neden histolojik olarak kanıtlanamamıştır ?

- Denekler rat olduğu için mi ?

- Wrapping (sarma) iyi yapılamadığından mı ?

- Selofan kullanılmadığından mı ?
- Histolojik yöntemler immünohistokimyasal olmadığından mı ya da kullanılan boya ve tekniğin yetersizliği mi ?
- Wrapping süresi kısa olduğundan mı ?
- Işık mikroskobu kullanıldığından mı ?

gibi bir takım sorulara cevap vererek tartışmamızı açmaya çalışalım.

Bir çalışma grubunun yayınlanmamış çalışmaları dışında tüm deneysel nesidioblastozis Suriye hamsterleri üzerinde yapılmıştır. Bu grup, deneysel nesidioblastozisin hayvana spesifik olmadığını vurgulamakla beraber; rat pankreaslarının wrappingi hamsterlerden daha güçtür. Ayrıca hamsterlerin pankreasları lobar özellik gösterdiğinden kanalın kısmi obliterasyonu pratik olarak daha kolay olmaktadır. Bu konuda ratların deneysel nesidioblastozis için ideal bir hayvan grubu olmadığını söyleyebiliriz. Nitekim pankreasları insanda olduğu gibi geniş bir duodenal ansa çevrilmiştir. Ancak deneysel nesidioblastozisi çalışmak için mutlaka hamster aramaya gerek yoktur. Ratlar da hamster kadar olmamakla beraber bu çalışmada kullanılabilir.

Rat pankreasının özellikleri göz önünde bulundurularak baş ile pankreas arasında peripankreatik iki avasküler alan seçildi. Buradan girilerek dikişlerin kaymasını önlemek üzere burs şeklinde transkapsüler dikiş kondu ve çok sıkımadan bağlama yapıldı. Sakrifiye edildiklerinde materyellerin yerinde ve aynı sıklıkta olduğu görüldü. Bu nedenle wrappingin yeterliliğinin tartışma götürmediği kanısındayız.

Nesidioblastozis hep selofan wrappingle başarılıdır. Acaba bu selofanın bir özelliğidir ? Çalışmamızda selofan yerine polipropilen, krome katgüt ve polisülfon kullanarak kontrol grubuna göre elde ettiğimiz anlamlı sonuçlar(Klinik bulgu, AKŞ, idrar şekeri ve insülin düzeyleri) nesidioblastozisin wrapping materyaline spesifik olmadığını göstermektedir. Buna göre histolojik bulgularımızın yeterli olmayışı selofan kullanılmadığına bağlanamaz. Nitekim selofan yerine kullandığımız polisülfon iyileştirilmiş bir selofan türevidir diyebiliriz.

İmmünohistokimyasal yöntem adacık hücreleri için idealdir. Metodolojide kullandığımız yöntem de bu hücreleri görmeye yeterli olmakla beraber immünohistokimyasal yöntemler kadar efektif değildir. Biz piyesin(pankreatektomi) alınmasından mikroskop altına kadar gelen aşamada, bazı teknik inceliklerin çalışmamızda umduğumuz sonuçlara varmakta engel olduğu kanısındayız.

Wrapping süresini 4 hafta veren çalışmalar olduğu gibi 2 haftanın yeterli olduğunu söyleyenler de bulunmaktadır(35). Bizim wrapping süremiz 3 haftaydı.

Acaba ışık mikroskobu yerine elektron mikroskobik çalışmalar olsaydı sonuç ne olurdu ? Adacıklar ışık mikroskobunun gözünden kaçmış olabilir. Kaldı ki, sadece nesidioblastozis değil kanalikül epitelinde olan hiperplaziler de ışık mikroskobunda belirtilmemiştir. Nesidioblastozis bu hiperplazik epitel hücrelerinin terminalinden kaynaklanacağı için epitel hiperplazisini göremeyen ışık kaynağı nesidioblastozisi de kaçırmış olabilir. Bu konunun öncüsü Rosemberg ve

arkadaşları ilk çalışmalarının sonuçlarını elektron mikroskobundan elde etmişlerdir(37).

Bu yorumlarımızdan klinik ve laboratuvarında elde ettiğimiz iyi sonuçların histolojik olarak tam kanıtlanamamasında preparatların hazırlanmasından başka immünohistokimyasal değerlendirme yapılmayıp, yalnız ışık mikroskobuyla değerlendirilmenin rolü olduğu kanısındayız .

Daha sağlıklı sonuçlar için geniş rat grupları üzerinde daha iyi ve titiz boyama teknikleriyle, elektron mikroskobundan yararlanarak benzer çalışmalar yapılmasının faydalı olacağı inancındayız.

SONUÇLAR

-Deneysel nesidioblastozis tüm literatürde yaygın olarak kullanılan hamsterlere spesifik değildir.

-Deneysel nesidioblastozis pankreas sarmada kullanılan selofan materyalinede spesifik değildir.

-Hamster yerine rat, selofan yerine polipropilen, krome katgüt ve polisülfon kullanmakla da benzer sonuçlar elde edilebilir.

-Klinik ve laboratuvar olarak kanıtladığımız nesidioblastoziste en iyi sonuçlar polipropilen ile elde edilmesine rağmen bunun böyle olduğunu kanıtlamak için daha geniş gruplar üzerinde çalışmak gerekir.

-Histolojik verilerin daha sağlıklı olması için tüm aşamalarda, boyama tekniğinde(immünohistokimyasal), değerlendirmede(elektron mikroskobu gibi) gerekli titizliğin gösterilmesi gereklidir.

ÖZET

Kırk özel tip rata 40 ml/kg/gün(4 gün süreli) intraperitoneal streptozotosin verilerek tümünde deneysel diabet oluşturuldu. Diabetin olduğu klinik bulgu, açlık kan şekeri , idrar şekeri ve plazma insülin değerleri ile gösterildi. Diabetik hayvanlar 10 ar deneklik 4 guruba ayrıldı.

- I. Gruba(Kontrol grubu) sham ameliyatı yapıldı.
- II. Grubta pankreas baş düzeyinde polipropilen ile ,
- III. Grubta pankreas baş düzeyinde krome katgüt ile ,
- IV. Grubta pankreas baş düzeyinde polisülfonla sarıldı.

Üçüncü haftanın sonunda kontrol grubunda 1(%14), II.grupta 3(%43), III.grupta 2(%40), IV.grupta 2(%33) denekte düzelme görüldü. Diabetleri düzeldi. Bu düzelme klinik ve laboratuvar olarak kanıtlandı. Düzelen denekler kilo aldı. AKŞ, idrar şekeri ve plazma insülin değerleri normal seviyelere geldi.

Klinik ve laboratuvar bulguları, histolojik olarak net bir şekilde desteklenemedi. Bu durum metodolojideki aksamalara bağlandı.

Sonuçta deneysel nesidioblastozis hayvandaki pankreas ve materyale spesifik değildir. Hamster yerine rat, selofan yerine polipropilen, polisülfon gibi sarma materyalinin de kullanılabilceği kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. Quinlan MR. *Anatomy and Embryology of the Pancreas*. In Zuidema GD, eds: *Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract*, WB Saunders Company III, Philadelphia, 1991, 3-8.
2. Akalın S. *Pankreas adacık fizyolojisi*. Sayek İ. *Temel Cerrahi*, Güneş Kitabevi Ankara 1991, Cilt:2,983-997
3. Alp H, *Diabetes Mellitus*, *Endokrin Hastalıklar*, İstanbul 1987, 1, 207-296.
4. Landau H, Schiller M. *Persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy and childhood*. In Schiller M. *Pediatric Surgery of the Liver, Pancreas, and Spleen*. WB Saunders Company, Philadelphia, 1991, 187-201.
5. Davenport M, and Howard ER. *Surgical treatment of pancreatic disease in childhood*. In CD Johnson and CW Imrie(Ed.), *Pancreatic Disease*, Siproinger Verlag, London 1991, 333-350.
6. Baker L and Stanley CA. *Hyperinsulinism in infancy. A pathophysiologic approach to diagnosis and treatment*. In *Recent Progress in Pediatric Endocrinology*(Ed.) Chumello G, Loran Z, 1977, pp. 89-100. London : Academic Press.
7. Schwartz JF, Zwiren GT. *Islet cell adenomatosis and adenoma in an infant*. *Pediatrics*, 1971, 79, 232-238.
8. Kloppel G, Altenahr E, Manke B. *The ultrastructure of focal islet cell adenomatosis in the newborn*. *Virchows Archiv A:Pathological Anatomy and Histology*, 1975, 366, 223-236.
9. Pagliara AS, Karl IE, Haymond M, Kipnis DM. *Hypoglycaemia in infancy and childhood. Part I*. *Journal of Pediatric*, 1973, 82, 365-379.
10. Pagliara AS, Karl IE, Haymond M, Kipnis DM. *Hypoglycaemia in infancy and childhood. Part II*. *Journal of Pediatric*, 1973, 82, 558-577.
11. Aynsley -Green A, Polak JM, Gough MH, Keeling J, Ashcroft SH, Turner RC, Baum JD. *Nesidioblastosis of the pancreas: definition of the syndrome and the management of the severe neonatal hyperinsulinaemic hypoglycaemia* . *Archives of Diseases in Childhood*, 1981, 56, 496-508.
12. Heitz PU, Kloppel G, Hacki WH, Polak JM, Pearse AGE. *Nesidioblastosis: the pathologic basis of persistent hypoglycaemia in infants*. *Diabetes*, 1977, 26, 632-642.
13. Laidlaw GF, *Nesidioblastosis: islet tumour of pancreas: American Journal of Pathology*. 1938, 14, 125-134.

14. *Yakovac WC, Baker L, Hummeler K. Beta-cell nesidioblastosis in idiopathic hypoglycemia of infancy, J. Pediatr. 1971, 79, 226-231.*
15. *Brown RE, Young RB. A possible role for the exocrine pancreas in the pathogenesis of neonatal leucine-sensitive hypoglycaemia. American Journal of Digestive Diseases. 1970, 15, 65-72.*
16. *Stanley CA, Baker L, Hyperinsulinism in infants and children : diagnosis and therapy. Adv Pediatr, 1976, 23, 315-355.*
17. *Carcassonne M, Delarne A, Le Tourneau JM. Surgical treatment of organic pancreatic hypoglycemia in the pediatric age. J. Pediatr Sur, 1983, 18, 75-79.*
18. *Witte DP, Greider MH, De Schryver-Kecskemeti K, et al.: The juvenile endocrine pancreas: Normal and idiopathic hyperinsulinemic hypoglycemia. Semin Diagn Pathol, 1984, 1, 30-42.*
19. *Goosens A, Gepts W, Saudubray JM, et al.: Diffuse and focal nesidioblastosis . A clinicopathological study of 24 patients with persistent neonatal hyperinsulinemic hypoglycemia. Am J Surg Pathol, 1989, 13, 766-775.*
20. *Polak JM, Bloom SR, Decrease of somatostatin content in persistent neonatal hyperinsulinemic hypoglycemia. In Andreania D, Lefebvre PJ, Marks V.(Ed.), Current Views on Hypoglycemia and Glucagon. London Academic Press, 1980, pp.367-378.*
21. *Ariel I, Kerem E, Schwartz - Arad D, et al.: Nesidioblastosis - a histologic entity ? Hum Pathol 1988, 19, 1215-1218.*
22. *Rahier J, Falt K, Muntefering H, et al.: The basic structural lesion of persistent neonatal hypoglycemia with hyperinsulinism: Deficiency of pancreatic D cell or hyperactivity of B cells ? Diabetologia 1984, 26, 282-289.*
23. *Landau H, Glaser B, Hirsch HJ, et al.: Persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy -- Long - term experience with 28 patients. Presented at the 27 th annual meeting of European Society for Pediatric Endocrinology, Copenhagen, 1988 (abstr 14)*
24. *Mathew PM, Young JM, Abu-Osba YK, et al.: Persistent neonatal hyperinsulinism. Clin Pediatr, 1988, 27, 148-151.*
25. *Misugi K, Misugi N, Sotos J, Smith B, The pancreatic islet of infants with severe hypoglycemia. Arch of Pathology, 1970, 89, 208-220.*
26. *Woo D, Scopes JW, Polak JM. Idiopathic hypoglycemia in sibs with morphological evidence of nesidioblastosis of the pancreas. Archives of Diseases in Childhood 1976. 51, 528-531.*

27. Aynsley-Green A, Moncrieff MW, Storrs N, Ratter S, Benedict CR, Wilkinson RH. Isolated ACTH deficiency: metabolic and endocrine studies in a seven-year old boy *Archives of Disease Childhood*. 1978, 53,499-502.
28. Aynsley-Green A, Polak JM, Keeling J, Gough MH, Baum JD. Averted neonatal death due to nesidioblastosis of the pancreas. *Lancet* 1978, i, 550-551.
29. Cornblath M, Schwartz R. *Disorders of Carbohydrate Metabolism in infancy*, Philadelphia: W.B. Saunders, 1976,
30. Cornblath M, Ganzon AF, Nicolopoulous D, Baens GS, Hollander RJ, Gordon MH, Gordon HH. *Studies of carbohydrate metabolism in the newborn infant. III. Pediatrics*, 1961. 27,378-389.
31. Zuppinger KA, *Hypoglycemia in Childhood. Monographs in Pediatrics*, 4. Basel: S. Karger, 1975.
32. Rosenberg L, Duguid WP, Brown RA, Vinik AI. Induction of nesidioblastosis will reverse diabetes in Syrian golden hamster. *Diabetes* 1988, 37,3, 334-341.
33. Rafaeloff R, Rosenberg L, Vinik AI. Expression of growth factors in a pancreatic islet regeneration model. *Adv. Exp Med Biol* 1992, 321, 133-140.
34. Rosenberg L, Vinik AI. In vitro stimulation of hamster pancreatic duct growth by an extract derived from the "wrapped" pancreas. *Pancreas* 1993, 8,2,255-260.
35. Rosenberg L, Vinik AI. Induction of endocrine cell differentiation: a new approach to management of diabetes. *J Lab Clin Med* 1989, 114, 1, 75-83.
36. Rosenberg L, Class D, Duguid WP. Trophic stimulation of the ductal / islet cell axis: a new approach to the treatment of diabetes. *Surgery* 1990, 108, 2, 191-197.
37. Rosenberg L, Brawn RA, Dugud WP. A new approach to the induction of duct epithelial hyperplasia and nesidioblastosis by cellophane wrapping of the hamster pancreas. *J Sur Res* 1983, 35,1,63-72