Atatürk Üniversitesi
Tıp Bülteni
24, (4) 827-835, 1992

DENEYSEL OLARAK DİABET MEYDANA GETİRİLMİŞ KÖPEKLERDE KAN ŞEKERİ TAYİNİ (x)

Dr. Necati KAYA (xx)
Dr. Seçkin GÜNDÜZ (xxx)
Necati UTLU(xxxx)
Dr. İsa ÖZAYDIN(xxxxx)

ÖZET :

Çalışmamızda her iki cinsten erişkin melez 20 adet köpek kullanıldı. Bu köpeklerin açlık kan şekeri (AKŞ) 106±18 mg/dl bulundu. Sonra bu köpekler eşit iki gruba ayrıldı. II. grupta parsiyel pankreatektomi yapıldı ve her iki grup üzerinde glukoz tolerans testi (GTT) uygulandı. sonuçlar istatistiki olarak karşılaştırıldığında aralarındaki farkın çok önemli ($p<0.001$) bulunmasına rağmen parsiyel pankreatektomili köpeklerinde glukozu tolera ettiği ve öldürücü diabetin oluşmadığı gözlendi.

GİRİŞ

Karbohidrat metabolizması "enzimatik" ve selluler" seviyede regüle edildiği gibi kan glukozunu etkileyen faktörler tarafından da regüle edilir. Bunların hepsi fonksiyonel olarak ilişkilidir (1-5).

Glukozun intraselluler olarak fazla bulunması halinde kullanılması ile ilgili enzimlerin hepsi aktive olur. Buna karşılık glukoneogenezisten sorumlu enzimlerin aktivitesi azalır. Genel olarak metabolitlerin kandaki miktarlarının artması hormonların salgılanma hızını etkilediği gibi, hormonların sekresyon hızının değişmeside metabolik yolların işleyişini etkiler (1-5).

İnsulinin yetersiz salgılanması veya insulin antagonistlerinin aktivitesinin artması halinde, ağır metabolizma bozuklukları şeklinde kendini gösteren Diabetis Mellitus meydana gelir. Bu bir kalıtsal hastalık olup, hayvanlarda nadiren görülür. Ancak özellikle köpeklerde ileri yaşlarda rastlanır. Ancak pankreatogen diabetden başka hipofizer (glukoz merkezinin uyarılmasına sebep olan kısımda iltihap, kanama, kuduz, sinirsel gençlik hastalığı v.s.) ve hepatogen (karaciğer harabiyeti sonucu) diabet vardır. Her iki durumda da ketosiz meydana gelir ve dia-

(x) Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Araştırma Fonunca Desteklenmiştir.
(xx) Atatürk Üniversitesi, Vet. Fak. Biyokimya Bilim Dalı Doçenti.
(xxx) Atatürk Üniversitesi, Vet. Fak. Cerrahi Anabilim Dalı Doçenti.
(xxxx) Atatürk Üniversitesi, Vet. Fak. Biyokimya Bilim Dalı Arş. Gör.
(xxxxx) Atatürk Üniversitesi, Vet. Fak. Cerrahi Anabilim Dalı Yrd. Doç.

bet vardır. Her iki durumda da ketosiz meydana gelir ve diabet koması görülür. (6-8).

Pankreas hücreleri bol miktarda çinko içerir. Çinkoda proteolitik enzimlerin aktivatörü olduğundan insulin oluşumunu artırır. Dithizon gibi çinko kompleksi bağlayan bileşiklerin verilmesi insulin oluşumunu azaltır ve diabet mellitusa neden olur. Alloksan verilmekle de insulinin oluşumu azaltılır. İnsulin yıkılması özellikle insulinaz tarafından karaciğerde yapılır (4).

Pankreas Hakkında Anatomik Bilgi:

Pankreas, endokrin salgısıyla karbonhidrat metabolizmasında, ekzokrin salgısıyla sindirimde görev alan exo-endocrin bir bezdir.

Köpeklerde pankreas, mide ve karaciğerin gerisinde columna vertebralisin ventralinde, duodenumun dorsalinde, çoğu median hattın sağında ve az kısmı sola geçmiş olarak yer almış pembe renkli bezsel bir organdır. Kaba yapısı bir V harfine benzer. V'nin kolu pars descendens duodeni ile giderek lobus dexteri, bir kolu sola giderek lobus sinisteri ve iki kolun yaptığı açının tabanında bulunan kısım organın corpus pankreatisini oluşturur.

Embriyoda pankreasın iki taslağı vardır. Bunlardan biri dorsal, öteki ventral taslaktır. Bu taslaklardan herbirinin birer akıtıcı kanalı vardır. Bu taslaklar birleşerek pankreası oluşturur. Fakat kanallar birleşmediğinden organın iki akıtıcı kanalı vardır. Ventral taslağa ait olanı ductus pancreaticus major (Wirsingianus), dorsal taslağa ait olanı ductus pancreaticus minor (accessorius) (santorini) adını alır. Ductus pancreaticus major, ductus choleductusla birleşerek diverticulum duodeniye, ductus pancreaticus accessorius ise bunun biraz distaline açılır.

Pankreas, tükrük bezi gibi tubuloalveolar bir bezdir. Pankreas adacıklarının varlığı ve hücrelerin, biri dışta koyu (protoplazma), diğeri içte açık (granula) renkli iki bölge göstermesiyle tükrük bezinden ayırt edilir (9-10).

MATERYAL VE METOD

Çalışmalarımızda her iki cinsten sağlam erişkin melez ve ağırlıkları 15-25 kg olan 20 adet köpek kullanıldı. Köpekler deneye tabi tutulmadan önce iki haftalık standart dietle beslendi. Köpekler iki gruba ayrıldı. Birinci grup (n=10) kontrol grubu, diğer grup ise (n=10) parsiyel pankreatektomi gerçekleştirdiğimiz deneysel gruptur.

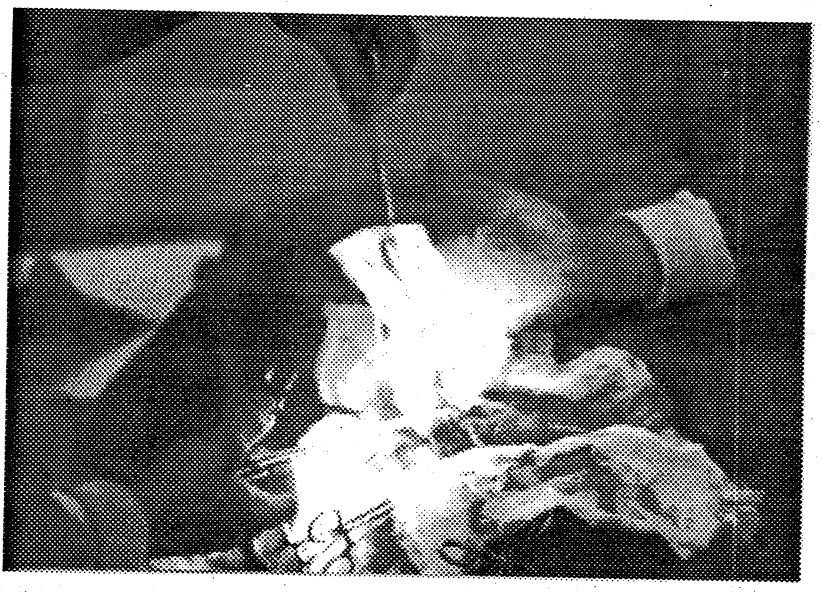
Kan Numunelerinin Toplanması:

Açlık kan şekeri, anestezi sonrası ve postoporatif dönemlerde kan numunelerinin alınması için köpeklere V. cephalica antebrachium'dan fleksible intraket (branül) uygulandı ve bunlar deney süresince venada bırakıldı. Kan alınacağı

zaman intraketin kapağı açılarak kan alındı, sonradan kapaklar tekrar yerine yerleştirildi. Gerek açlık kan şekeri, anestezi sonrası ve operasyon sonrası için gerekse GTT için alınan kan numunelerinde glukoz oksidaz metodu ile glukoz tayini yapıldı (2).

Anestezi:

Her iki gruptaki köpeklerin anestezisi içinde Xylozine (% 2 Rompun-Bayer) Ketamin HCl (50 mg/ml Ketalar) kombinasyonu kullanıldı (Dissosiyatif Anestezi). Bunun için 2 mg/kg dozda xylazine'in 2 mg/kg dozda kas içi enjeksiyonundan 5 dakika sonra 20 mg/kg dozda ketamin yine kas içi enjekte edilerek operasyon için uygun anestezi oluşturuldu (Resim-1).

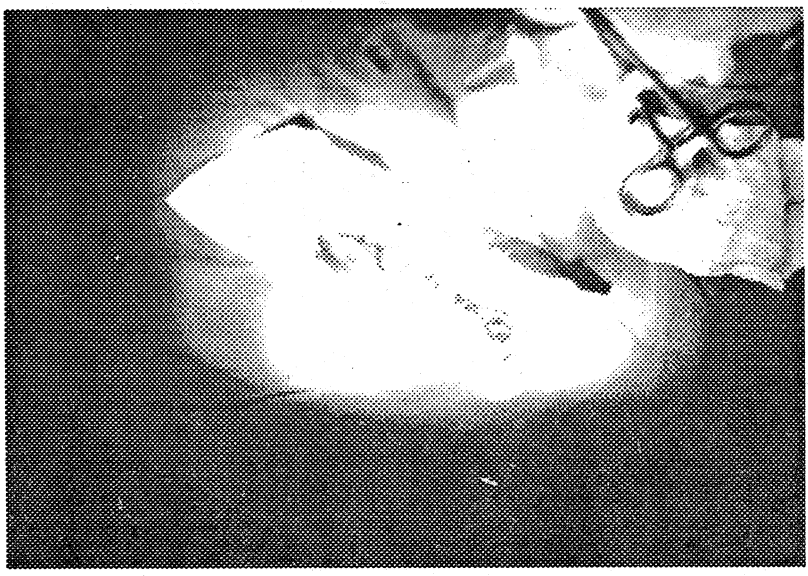


Resim-1: Pankreatektomi Yapılırken

Operasyon Tekniği:

Her iki gruptaki köpeklerde de operasyon median hattan gerçekleştirildi. Anesteziyi izleyerek operasyon sahası traş ve dezenfekte edildikten sonra operasyon sahası steril serviyetlerle sınırlandırıldı, median hatta deri ensize edildi. Deri altı bağ dokular ve linea alba küt diseksiyonla açılarak periton bir makasla kesildi. I. grupta periton ve kaslar katkütle, deri ipek iplikle dikilerek operasyon tamamlandı. II. grupta ise pankreas anotomik yerinde bulunurak duodenumla birlikte ensizyon bölgesinden karın boşluğu dışarı çıkarıldı. Organa kaudal uçtan başlayarak corpus pankreatis'in craniolindeki ductus pankreaticus majora kadar tüm eklentilerinden ve mezenterial damarlardan (damarla ligatüre edilerek) ayırt edildi. Bezin orta kısmına ipek iplikten bir ligatür konarak 1/2 kadarı ductus pank-

reaticus accessorius'la birlikte kesilerek uzaklaştırıldı. Kanamalar kontrol edildikten sonra operasyon yarası I. grupta olduğu gibi kapatıldı. İşlemin bitiminde karın boşluğuna 1.000.000 İÜ. kristal penisilin enjekte edilerek operasyon koruyucu bir pansuman altına alındı (Resim-2).



Resim -2: Kısmen Alınmış Pankreas

Post-Operatif Bakım:

Hayvanlar 4-5 gün süreyle 800.000.İÜ. proksin penisilin enjeksiyonu kas içi yolla yapıldı. Operasyon sonrası günlerde hayvanlar normal gıda ile beslendi. Post-operatifin 3 gününde bu köpeklere 0.5 g/kg glukoz verilerek GTT yapıldı. Operasyon sonrası 7. gününde de dikişler alındı.

BULGULAR

Kontrol grubundaki hayvanlarda AKŞ 106±18 mg/dl, anestezi sonrası glukoz değeri 140±32 mg/dl ve operasyon sonrası glukoz seviyesi ise 155±27 mg/dl bulundu. Kontrol ve deney grubundaki köpeklere yüklenmiş olan 0.5 g/kg glukozun değişik zamanlarda ki değerleri tablo-1'de gösterilmiştir. Ayrıca kontrol grubu ve deney grubunun değerleri grafik-1'de gösterilmiştir.

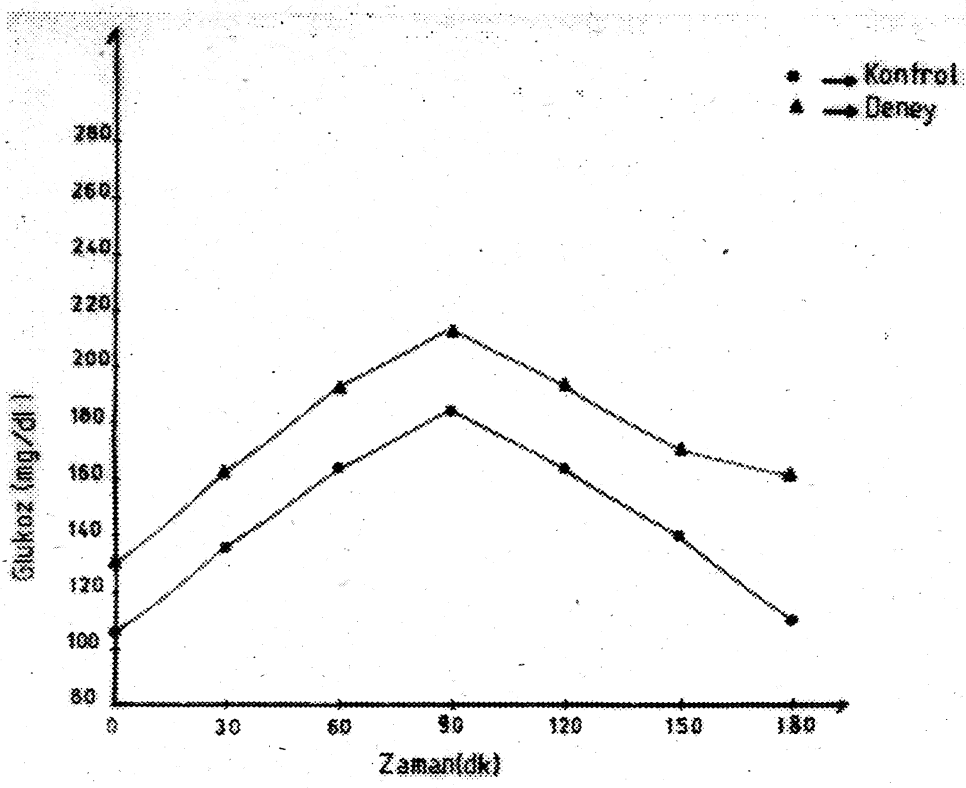
Kontrol grubu ile deney grubu hayvanlara yüklenmiş olan 0.5 g/kg glukozun aynı zaman aralıklarında ki fark çok önemli ($p<0.001$) bulundu. Yapılan analizler tablo-2'de gösterilmiştir.

Tablo-1: Kontrol ve Deney Grubu Hayvanlarında GTT esnasındaki Glukoz Seviyeleri.

Gruplar	Parametre	n	Zaman Aralıkları (Dakika)						
			0	30	60	90	120	150	180
Kontrol Grubu	Glukoz mg/dl	10	106±18	137±20	164±22	183±14	165±14	139±10	110±10
Deney Grubu	Glukoz mg/dl	10	130±12	162±2	192±25	214±17	194±13	170±15	160±11

Tablo-2: Kontrol Grubu İle Deney Grubu Hayvanlarına Yüklenmiş Olan 0.5 g/kg Glukozun Aynı Zaman Aralıklarındaki Değer Arasında Yapılan Analizler.

Paremetreler	n	Zaman Aralıkları (Dakika)						
		0	30	60	90	120	150	180
t	10 3.636	10.577	9.889	12.640	4.519	6.651	4.887	
p	<	0.001	0.001	0.001	0.001	0.0001	0.001	0.001



Grafik1. Kontrol ve Deney grubu hayvanlarda GTT

TARTIŞMA

Kontrol ve parsiyel pankreatektomili köpeklerde glukoz seviyeleri ve GTT incelendi. Çalışmalarımızda gerek numunelerin toplanması kolaylığı ve gerekse anlamlı sonuçlar elde edebileceğimiz düşüncesiyle kan serumu kullanıldı. Böylece hem de parsiyel pankreatektomili köpeklerde glukoz tolerans testi yapılarak sonuçlar incelendi. Köpeklerdeki normal serum glukoz değerleri, diğer araştırmacıların buldukları değerlerden önemli derecede farklı bulunmadı (11-15). Sözedilen araştırmacıların sonuçları tablo-3'de verilmiştir.

Tablo-3: Sağlam Köpeklerdeki Serum Glukoz Seviyeleri Araştırmalarına Ait Değerleri.

Araştırmacılar	Hayvan Sayısı	Normal Değerler mg/dl
Malcolm D. Williams ve Arkadaşları (11)	12	82 ± 2.42
Nobert Senninger ve Arkadaşları (12)	12	77.8 ± 7.6
Fischer U. ve Arkadaşları (13)	4	69,3 ± 25,2
D. Alderbon ve Arkadaşları(14)	50	77,4 ± 15
Derek Alderso ve Arkadaşları (15)	12	115 ± 25'den daha düşük
Bizim Çalışmalarımızın Sonuçları	20	106 ± 18

Gerek kontrol grubu gerekse deney grubundaki hayvanlarda glukoz seviyelerinin 90. dakikada maksimum olduğunu ve bu dakikadan sonra glukoz seviyelerinin düştüğü görüldü. Ancak bu düşüş kontrol grubunda daha belirgindi. Deneysel grupta ise yüklemeden 3 saat sonra bile AKŞ seviyesine ulaşılmadı. Buna rağmen parsiyel pankreatektomili köpeklerde öldürücü diabet görülmediği söylenebilir. Çünkü değerlerin AKŞ'nin çok üzerinde olmadığı gibi hayvanın normal yaşamınıda sürdürdüğü gözlendi. Normal grup ile deney grubu için bulunan GTT sonuçları arasında yapılan "t" testi sonucu aralarındaki farkın çok önemli ($p<0.001$) olduğu bulundu. İnsuline bağımlı diabetli insanlardaki bütün hormonal ve metabolik mozuklukların tedavi edilemeyen köpeklerde de görüldüğü literatürde kayıtlıdır (14,16,17). Bu özellik, endogenez insulin üretim bozukluğu ve hiperglukagonemi gibi hayvanların hormonal durumuna bağlı olabilir (14,16).

Pankreatektomili köpeklerin, pankreatik glukogandan biyokimyasal olarak ayırt edilemeyen gastrik stoklarından glukogen ürettiği bildirilmektedir (16,17). Buradan da anlaşılacağı üzere köpeklerin pankreasının büyük bir kısmının alınması sonucu insulin üretiminin durdurulması yanı sıra başka kaynaklardan glukogan üretimi öldürücü diabeti kamçılamaktadır.

Nobert Senninger ve arkadaşları yapmış olduğu bir araştırmada (12), glandular kütlesinin üçte biri civarında vascular olmuş pankreatik fragmentler en az bir yıl jejunal pouch çevresinde kaldığını ve diabeti engelleyen yeterli derecede endokrin fonksiyonunun olduğunu açıklamışlardır. Aynı araştırmacılar, postkoperatif periotta pankreasın üçte ikisinin çıkarılmasıyla bütün örneklerde glukoz seviyesinin limitler içerisinde kaldığını bulmuşlardır (12).

Çalışmalarımızda kullanılan köpeklerde öldürücü diabetin oluşmasını pankreasın kısmen (1/2'sinin) alınmasından kaynaklanmaktadır. Çünkü köpeklerde gliseminin korunması için adacıkların en az % 13-20'sinin gerekli olduğu rapor edilmiştir (18-20).

SUMMARY

DETERMINATION OF BLOOD GLUCOSE IN THE DOGS PERFORMED DIABET EXPERIMENTALLY

20 healthy ault mongrel dogs of both sexes, weighing14-25 kg were used in this study. Fasting blood glucose level of these dogs was found 106±18 mg/dl. After then these dogs were divided into two equal groups. Group 2, was performed patial pancreatictomy and both groups were performed oral glucose tolerance tests. When the results were compared statistically, despite differences between them were very important (P<0.001), it was observed that partial pancreatictomy dogs also tolerated glucose and motral diabet didn't occur.

KAYNAKLAR

1- Robert K.M., Daryl K.G., Peter A.M., and Victor W.R., Harpers Biochemistry, twenty-Second edition, Appleton and Lange, Norwolk, Connecticult/ Los Atos California, 1991, 179-189.

2- Norbert W.T., Textbook of Clinical Chemistry, West Woshington Square Philadelphia, PA. 1986, 775-828.

3- Albert L.L., Biochemistry, Second Edition, New York 1975, 829,852.

4- Ersoy E., Bayşu N., Ertürk K., ve Üstdal M., Biyokimya A. Ünv. Vet. Fak. Yayınları Ankara, 1986, 357-410.

5- Jiro J.K., Clinical Biochemistry of Domestic Amimals, Third Edition, New York 1980, 2-48.

6- Altan, M.Y., Evcil Hayvanların İç ve Deri Hastalıkları, Ankara Üniv. Vet. Fak. Yayınları, 1971.

7- Ökten, B., Evcil Hayvanların Göz Hastalıkları, Ankara Ünv. Vet. Fak. Yayınları, 1971.

8- Urman, H.K., Sinir Sistemi Patolojisi Ankara Üniv. Vet. Fak. Yayınları, 1977.

9- Doğuer S., Erençin Z., Evcil Hayvanların Komparatif Splanchnologie'si A. Ünv. Vet. Fak. 1965, 188.

10- Taşbaş M., Tecirlioğlu S., ve Dursun N., Evcil Memeli Hayvanların Karşılaştırmalı Osteologia Komparatif Splanchnologiası, Ankara Ünv. Vet. Fak. Yayınları, 1985, 106.

11- Malcohm D.W., Richard W., Robert W.B., William D.S., and George A.P., Transplantation of Pancreatic İslets in Dogs, Am J Vet Res, 47, no 7, July 1986.

12- Nobert S., Heidelberg, West-Germany Frank G.M., David H.V.B., and Julio C.U.C., İntestinalization of Pancreatic Fragments in Dogs, Surgery, Gynecology obstetrics, April 1986. Volume 162.

13- Fischer U., Besch W. Freyse E.-J., Canine C-Peptide For Characterization of Experimantal Diabetes in Dogs, Endocrinologda Experimantalis, Vol. 19, 1985.

14- Alderson D., Walsh T.N., and Farndon J.R., İslet Cell Transplantation In Dianetic Dogs: Studies Of Graft Function and Storage, Br. J. Surg. 1984, Vol 71. October, 756-760.

15- Alderson D., and Frandon J.R., The Effects of Transplant Mass on Insulin Release by Collagenase-dispersed Pancreatic Fragments in The Diabetic Dog, World J. Surg. 8, 598-604, 1984.

16- Root G., Carlstrom S., Diurnal variations in blood glucose, 3-hydroxybutyrate acetoacete, plasma free fattyacids and glycerol in diabetics Acta Med. Scand 1972, 191, 559-563.

17- Flig P., Marliss E., Ohman J.L., Cahill GF., Plasma amino acid levels in diabetic ketoacidosis, Diabetes, 1970, 19, 727-9.

18- Sun AM. Coddling JA., Haist RE., A study of glucose tolerance and insulin response in partially depancreatised dogs. Diabetes 1974, 23, 424-32.

19- Bewick M., Mundy AR., Eaton B., Watson F., Endokrine function of the heterotropic pancreatic allotransplant in dogs, Transplantation 1981, 31, 23-5.

20- Toledo-Pereyra L.H., Castellanos J., Manifacio G., and Lillehei R.C., Basic requirements of pancreatic mass for transplantation, Arch, Surg., 1979, 114: 1058-1962.