

T.C.
İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı

PANKREAS ADACIK SİSTEMİNDE
DENEYSEL İNCELEMELER

Tıp Bilimleri Doktoru (M.Sc.Dr.)
ünvanını kazanmak için
Mehmet Gürtekin
tarafından sunulan
DOKTORA TEZİ

150699

Tez Yöneticisi: Prof.Dr.Türkân ERBENGİ

İstanbul - 1984

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ -----	1
MATERYAL VE METOD -----	4
BULGULAR -----	8
TARTIŞMA -----	16
SONUÇ -----	30
ÖZET -----	31
SUMMARY -----	34
KAYNAKLAR -----	37
RESİMLER VE AÇIKLAMALARI -----	49
ÖZGEÇMİŞ -----	66

TEŞEKKÜR

Değerli bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, doktora tezimin seçimi ve yürütülmesinde bana destek ve yardımcı olan sayın hocam Prof.Dr.Türkan ERBENGİ'ye, çalışmalarım esnasında bana gerekli yardım ve destekte bulunan Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı Öğretim Üyeleri ile tüm görevli arkadaşlarıma ve ayrıca Yrd.Doç.Dr.İlker AYKAÇ'a teşekkür ederim.

G İ R İ Ş

Pankreas adacık sistemi hücre tiplerine bağlı olarak morfolojik açıdan iki ana grupta toplanırken, fizyolojik özellikleri ile esasta ikili iç salgı yapımıyla da dikkati çeker.

Pankreasta iç salgı ürünleri "insülin ve glukagon'un" yapımı ile salınımı olayları üzerinde sürekli çalışmalar yapılmaktadır. Bunlar arasında insülin yapımını ve salınım mekanizmasını incelemeye yönelik olanları konuya önemli katkıda bulunmaktadır.

Böylece, 1869'da Langerhans tarafından ilk defa tanımlanmış olan adacık hücreleri birçok araştırmacının çeşitli yönlerden inceleme konusu olma güncelliğini sürdürmektedir.

Araştırmacılar özellikle insülin ^{yapım} sekresyon ve salınımını uyarıcı maddeler kullanarak bir taraftan fizyolojik ve biyokimyasal bulguları değerlendirirken(8,40,41,43,60) diğer taraftan da pankreasta Langerhans adacıklarında insülin salgılayıcı B hücreleri (β -hücreleri) ile Glukagon sekresyonunu üstlenmiş A hücrelerinin (α -hücreleri) histolojik yapılarına ait değişiklikleri üzerinde durmuşlardır(7,16,24,25,45,57,80,81).

Pankreasta adacık sistemini uyaran maddeler arasında;

glukoz, çeşitli amino asitler-Leucine, sulfonylurea bileşik-leri ve glukagon önemli yer tutar.

L.Leucine'nin hipoglisemik etkisi Cochrane ve ark.(13) tarafından idiopatik hypoglycemia vakalarında; Schwartz ve ark.(79) tarafından da fonksiyone adacık tümörlü hastalarda gösterilmiştir.

Deneyssel çalışmalarda L.Leucine'nin doğrudan doğruya kontrol hayvanlarına verilmesi ile belirgin bir hipoglisemi- nin oluşmadığı, ancak bazı etkenlerle L-Leucine'in insülin sekresyonunu uyarıcı rolünün belirtildiği gösterilmiştir(13, 29,31).

Literatürde pankreas adacık sistemi üzerinde çeşitli etkenleri değerlendirmeye yönelik in vivo çalışmalar kadar(28, 29,30,47) in vitro çalışmalara da rastlamaktayız(1,2,3,14,21, 23,27,34,38,39,46,47,58,62,64,74,76,78,87,88,89).

İn vitro çalışmalardan bir kısmı eksokrin parenkimi ile birlikte adacıkları içeren pankreas parçacıklarını kullanırken(3,14,17,32,42,64,66,76,78,80) bir kısmı da izole pankreas adacıklarını incelemiştir(1,2,8,9,22,38,41,44,52,53,62,82, 83,86,88).

A.Sener ve ark.(77) L.Leucine kombinasyonunu l-gluta-min ile sıçan pankreas adacıklarında, Proinsülin biyosentezi-ni veya insülin salınımını arttırıcı etkisini de izole pankreas adacıklarında incelemişlerdir.

Ayrıca, izole sıçan pankreas adacıklarında perifüzyon tekniği ile insülin yapımı ve sekresyonunu araştıran Hoshi ve ark.(44) immunoreaktif insülin ölçülmesi ile insülin yapımı ve salınımı mekanizması üzerindeki çalışmalara katkıda bulunmuşlardır.

Bu tez çalışması planlanırken, bir perifüzyon seti hazırlanıp, pankreas parenkimasında adacık sisteminin glukoz, L.Leucine ve glukagon gibi uyarıcı maddelerin etkisinde gösterdiği değişikliklerin, ışık mikroskopu ve ultrastrüktür düzeyinde incelenmesi ile önceki çalışmalara yeni katkı getirme amacına yönelik bir yol izlenmiştir.

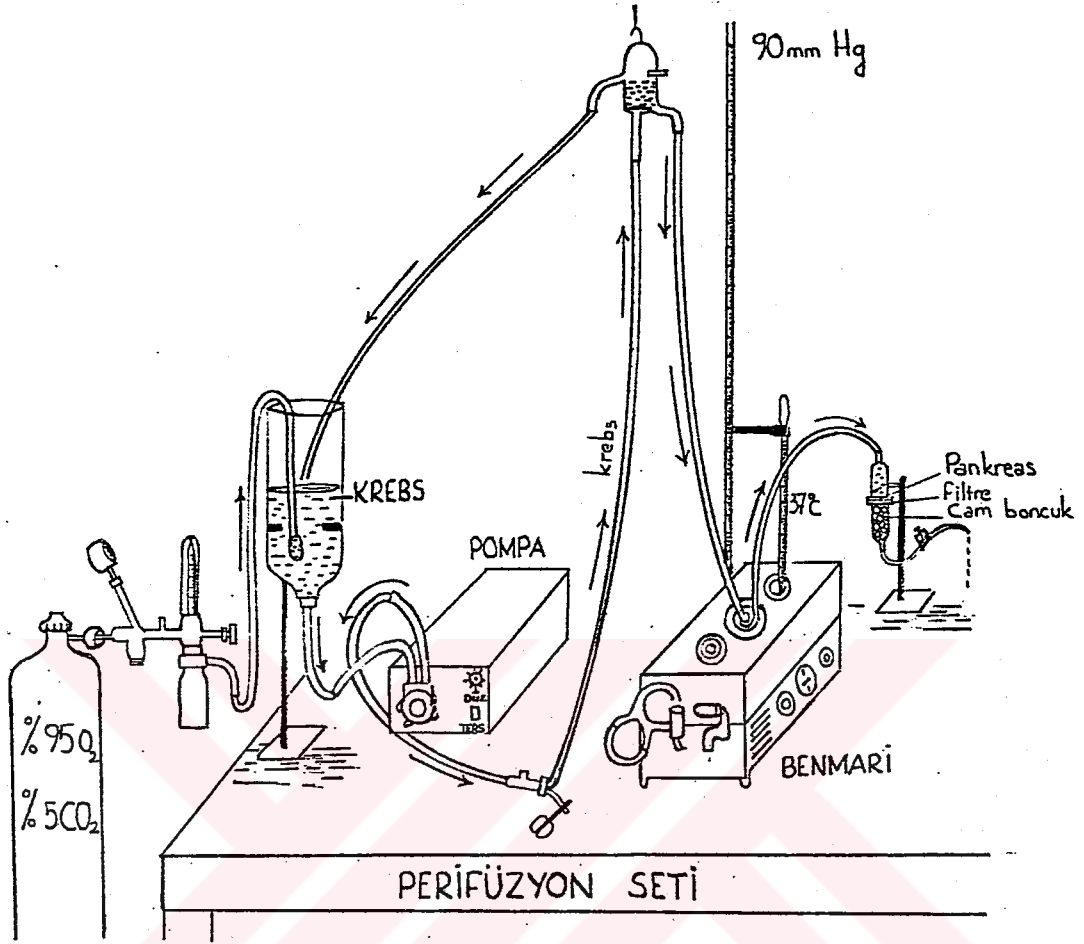
Ayrıca, pankreas adacıklarında hücrede özel granülasyonlar ile insülin biyosentezi ve salınımını yansıtan bulguların, perifüzyon sürecinde belirli zaman aralıkları ile yapılan insülin ölçümleri değerlendirilerek, insülin salınmasının kontrolünün sağlanması amaçlanmıştır

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden alınan 21 adet Wistar albino erişkin (250-330 g) erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar aynı koşullara sahip bir odada, ısı ve özellikle ışık sabit tutularak, hazır fare yemi ve su ile beslendiler. Deneyler günün aynı saatlerinde yapıldı.

Pankreas parçacıkları perifüzyonları Malaisse ve arkadaşlarından(64) değiştirilerek yapıldı. Perifüzyon için paslanmaz çelik ve kırılmaz camdan yapılmış özel perifüzyon tübü kullanıldı. Uzunluğu 14 cm, çapı ise 1,5 cm olan tüp iki parçadan ibaret olup ortasına paslanmaz çelikten bir elek üzerine 5C tipi 8.0 μ m çapında milipor filtre (Lot No $\pm$ 3A141160) kondu. Eleğin alt kısmında bulunan ve tübün II.bölümünün hacmini küçültmek ve sıvının debisini ayarlamak amacıyla cam boncuklar kondu.

Perifüzyon sıvısı olarak Krebs Ringèr çözeltisi ($\text{NaCl}=5.56$ g/l, $\text{KCl}=0.373$ g/l, $\text{CaCl}_2=0.1387$ g/l, $\text{MgCl}_2=0.04765$ g/l, $\text{NaHCO}_3=1.68$ g/l, $\text{NaH}_2\text{PO}_4=0.160$ g/l) kullanıldı. Krebs Ringer'e % 1 sığır (Bovine) albumin, deney maddeleri ve 1000 ünite Trasylol-Bayer-(9,78,88) eklendikten sonra pH=7.40'a ayarlandı. Rezervuara Krebs Ringer çözeltisi konuldu ve pompa, benmari, perifüzyon tübü irtibatı yapıldı (Perifüzyon seti). Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinde kurulmuş olan ve Hoshi metodundan yararlanarak gerçekleştirilmiş bulunan perifüzyon seti ile çalışıldı.



Sıçanlar eter anestezisi ile uyutulduktan sonra ksifoid'den pubis'e kadar yapılan bir insizyon ile periton boşluğuna girildi. Dalak prepare edilerek, mide ve duodenum yardımıyla pankreas ortaya kondu. Hızlı bir şekilde dalaktan başlayarak damarlar ligatüre edilmeden pankreasın bağlantıları kesilmeye başlandı. Daha sonra mide ve ince barsaktan pankreas bağlantıları kesildi. En son olarak fazla kanamayı geciktirmek için duodenumla olan bağlantıları kesildi. Çıkartılan pankreas hemen petri içindeki Krebs Ringer eriyiğine kondu ve keskin bir makasla yağ dokusu temizlendi. Daha sonra çok hızlı bir şekilde pankreas önce keskin kalın makasla, sonra küçük keskin bir makasla ufak parçalara ayrıldı. Bu işlemten sonra elde edilen parçalar milipor filtre üzerine kondu. Bu arada sıfır noktası (kontrol) için ışık ve elektron mikrosko-

buna parçalar alındı. Perifüzyon tübü kapatıldı ve Krebs Ringer çözeltisine % 95 O₂, % 5 CO₂ karışımı gaz verilerek pompa açıldı ve perifüzyona başlandı. Pankreas parçalarını yıkayan sıvı perifüzyon tübünün altına takılan kanülden numaralanmış godelere birer dakika ara ile alındı, köpürmeye neden olmayacak şekilde hafifçe çalkalanıp önce godeler buz içinde soğutuldu sonra -18°C de donduruldu.

Deney 3 grupta sürdürüldü:

I.Grup: Kontrol grubu (% 200 mg glukoz verilen sıçanlardan oluşuyordu).

II.Grup: L.Leucine verilmiş sıçan grubu (% 100 mg glukoz +16.6 m.Mol L.Leucine (Merck)).

III.Grup: Glukagon verilmiş sıçan grubu (% 100 mg glukoz +1 mg/100 ml glukagon (Novo)).

Perifüzyonlar 45 dakika sürdürüldü. Toplanan örneklerde insülin tayinleri radyoimmunoassay yöntemiyle sıçan insülinine %100 spesifik antikorları içeren İNSİK 5 insülin kiti ile yapıldı.

Perifüzyon boyunca 0,15,27,40 ıncı dakikalarda perifüzyon tübü açılarak hızla ışık ve elektronmikroskopu incelemeleri için pensle pankreas parçaları alındı. Işık mikroskopu için Bouin tesbit, elektronmikroskopu için fosfat tamponlu % 3'lük glutaraldehit ve takibin ikinci tesbiti olarak % 1'lik Osmik asit kullanıldı.

Parçalar gerektiği şekilde takip edildikten sonra, ışık mikroskopu için parafin bloklara, elektron mikroskopu içinde Vestopal W'ye gömüldü. Işık mikroskopu kesitleri Aldehyd-fuchsin gomori ve Hematoxylin Eosin ile boyanarak in-

celendi. Elektron mikroskopu incelemeleri için kalın kesitler LKB Ultratom-3 mikrotomu ile kesildi. % 1 lik Toluidin Blue boyasıyla boyandı. Adacık bulunduğu saptanan bloklardan ince kesitler alındı. Uranil asetat Reynol's tekniğiyle kontrastlanan kesitler Jeol-100 C elektron mikroskopu ile değerlendirildi.

B U L G U L A R

Perifüzyon seti ile ilk yapılan çalışmalarda başlangıçta belirli aralıklarla alınan perifüzyon sıvısında radyoimmunoassay yöntemiyle insülin tayinleri yapılmış ve tepe noktaları bulunmuştur.

Daha sonraki çalışmalarda ise bu tepe noktalarına uygun düşen zamanlarda, ışık mikroskopu ve elektronmikroskopu incelemeleri için pankreas örnekleri alınarak uygun yöntemlere göre parça takipleri ile bloklamaları yapılmıştır.

Kontrollü olarak sürdürülen insülin miktarları ölçümleri ile morfolojik bulgular, sadece glukozla birlikte verilen L-Leucine ve glukagon'un perifüzyonundan sonra hem sekresyon yapımı ve hem de salınımı açısından değerlendirilip üç grup halinde toplu olarak aşağıda verilmiştir:

A. Fonksiyonel Bulgular:

Perifüzyon sürecinde dakikada 2,5 ml hızla yapılan pankreas parçacıkları perifüzyonlarında radyoimmunoassay yöntemiyle elde edilen insülin miktarları ölçülmüştür.

Grup I, Grup II ve Grup III'e ait bulunan değerler Grafik I, II ve III' ve Tablo I'de yer almaktadır.

B. Pankreas parçacıkları perifüzyonlarında elde edilen ışık mikroskopu bulguları:

Grup I

a) % 200 mg Glukoz'la perifüzyona tabi tutulan pankreas parçacıklarının ışık mikroskopunda yapılan incelemelerinde, Langerhans adacıklarındaki hücreler normalden aşırı farklı bulunmadı (Resim 1 ve 2).

b) Kontrol: Aldehyde-fuchsin (Gomori) ile boyanan preparatlarda B-hücreleri, Langerhans adacıklarının daha çok merkezinde ve adacığın büyük bölümünü kaplayıp viyoleto renkte granülleri ile dikkati çekmektedir. Viyoleto renkli B-hücre granülleri kapilerlere komşu bölgelerde yer almıştır (Resim 3 ve 4).

A-hücreleri ise adacığın periferinde Aldehyde-fuchsin ile kırmızı renkte boyanmış olarak gözlenmekte idi (Resim 3).

Elektronmikroskopu bloklarından hazırlanan kalın kesitlerde A ve B hücreleri koyu boyanmış (B hücresi) ve açık boyanmış (A hücresi) olarak gözlendi (Resim 4).

Bu adacıklara ait elektronmikrograflarda ise, A ve B-hücreleri tipik granülleri ve ince yapıları ile izlendi (Resim 5 ve 6).

İnce kesitlerden hazırlanan Elektronmikrograflarda ise tipik granülleri ile büyük A-hücreleri görüldü (Resim 5).

A hücrelerinde genellikle salgı granülleri az yoğun bir matriks içine gömülü ve granülleri sınırlayan membran dar bir boşluk bırakacak şekilde granülü kuşatıyordu.

Nukleus oval olup, sitoplasmada organeller gözlemlendi. Uzun, ince çubuk şeklindeki mitokondriler ve jukstanuklear Golgi kompleksi belirgin ve endoplazmik retikulum ise daha az yaygın olarak görüldü.

Elektronmikrograflarda adacıklardaki B hücreleri tipik özellikleriyle izlendi. A hücrelerine oranla sayıları daha fazla idi.

Salgı granülleri yoğun, polimorf, çok çeşitli şekillerde ve bunu saran membran arasında büyük boşluklar bırakacak şekildeydi (Resim 6). Bunların yanında büyük ve daha az yoğun yuvarlak granülleri olan B hücrelerine de rastlandı.

B hücreesindeki mitokondriler A hücreesindekilerden çok daha fazla sayıda ve polimorf şekillerde gözlemlendi. Golgi kompleksi ise A hücrelerindeki gibi oldukça aktif ve yaygın bir dağılım göstermekte idi (Resim 6).

Grup II: % 100 mg glukoz + 16.6 m.Mol L-Leucine (Merck)

L-Leucine periferüzyonu yapılmış sıçanlarda:

Langerhans adacıkları ışık mikroskobu düzeyinde ve kalın kesitlerde incelendiğinde granül azalması varmış izlenimini vermektedir (Resim 7 ve 8).

Langerhans adacıkları ışık mikroskobu düzeyinde incelendiğinde her ne kadar beta granülasyonu aldehide-fuchsin ile boyanmış preparatlarda azalmış gibi ise de, aslında kapillere boşaltılan granüllerin artması sonucu, aldehide-fuchsin ile boyanma, hücrenin kapiller komşuluğuna yönelmiş olarak gözlenmektedir (Resim 8).

L-Leucine'den sonra adacıklardaki kapiller dağılışı oldukça genişlediği gözlenmektedir (Resim 8). Degranülasyona uğramış hücrelerin sayısında bir artma tesbit edilmiştir.

Aldehyde-fuchsin ile boyanmış preparatlarda hücreler, koyu ve açık renkli boyanmış olarak gruplaşmışlardır (Resim 8).

Ultrastrüktürel düzeyde ise, Langerhans adacıklarında 27'de hiperaktivite hali görülmektedir (Resim 9).

B hücrelerinin elektronmikrograflarda yer yer ışıık mikroskobuna paralel olarak aydınlık "Clear" ve koyu "Dark" hücreler halinde gözlenmesi ilgi çekici idi. Aydınlık B hücre-si daha az salgı granülü taşımakta, genişlemiş vezikül ve va-kuollü olup, GER'den fakir hücre yapısını yansıtmakta (Resim 15).

Koyu A hücresi ise salgı granüllerinden zengin GER membranları, yoğun bölgeler oluşturan ve aktif Golgi Kompleksi olan hücre yapısında dikkati çekiyordu (Resim 10).

Resim 11'de de bir koyu B hücresi granülle dolu olarak izlenmektedir.

A hücresi ise, membranla sarılı tipik yuvarlak granül-leri ile görülmektedir. A-hücrelerinde GER membranları artmış ve granülden zengin bir yapı dikkati çekmektedir.

Işık mikroskopu kesitlerinde Aldehyde-fuchsin boyaması uygulanmış preparatlarda, A hücreleri, adacık periferinde B hücrelerini kuşatmış olarak gözlendi (Resim 8).

Gerek bu preparatlarda, gerekse elektronmikroskobu in-celemeleri için hazırlanan bloklardan yapılan ve toluidin ma-visi ile boyanmış kalın kesitlerde ise A hücreleri gözlendi (Resim 7). Grup III: % 100 mg glukoz + 1 mg/100 ml Glukagon ilave edilmiş bufferlı ortamda perifüzyon yapılmış sıçan pankreasında görülen değişiklikler aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

Işık mikroskobu için hazırlanan parafin kesitlerinde, aldehide-fuchsin boyası uygulandığında, pankreas adacıklarında B-hücrelerinin diffüz boyandığını görmekteyiz (Resim 18).

A hücreleri ise soluk kırmızı renkleri ile adacık periferinde yer almaktadır. A hücrelerinden bir kısmı küçülmüş nukleusları ile dikkati çekmekte olup, bunlar literatürde glukagon salgıladığı bildirilen A₂ hücrelerini oluşturmaktadır.

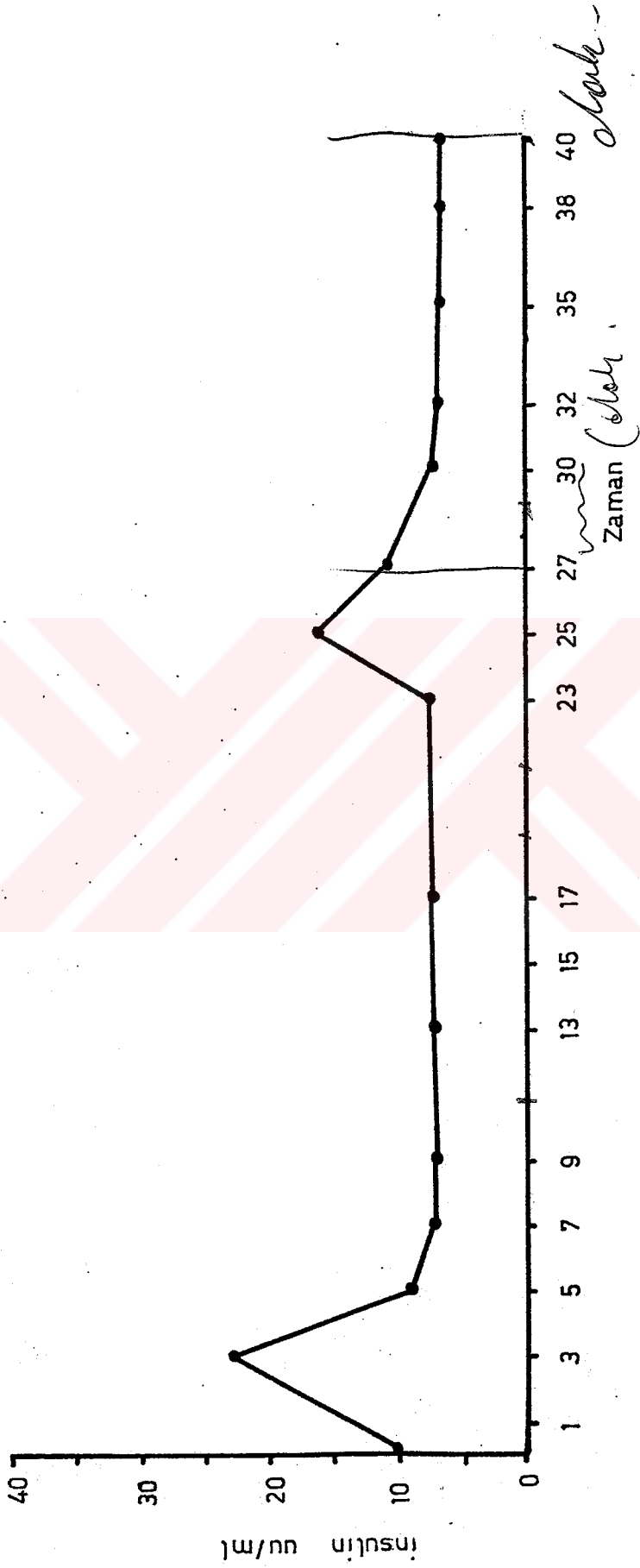
Genelde glukagon perifüzyonunda, adacıklarda A-hücrelerinde bir inhibisyon etkisi izlenmektedir.

Elektronmikroskobu bulguları ışık mikroskobu gözlemlerine açıklık getirmektedir.

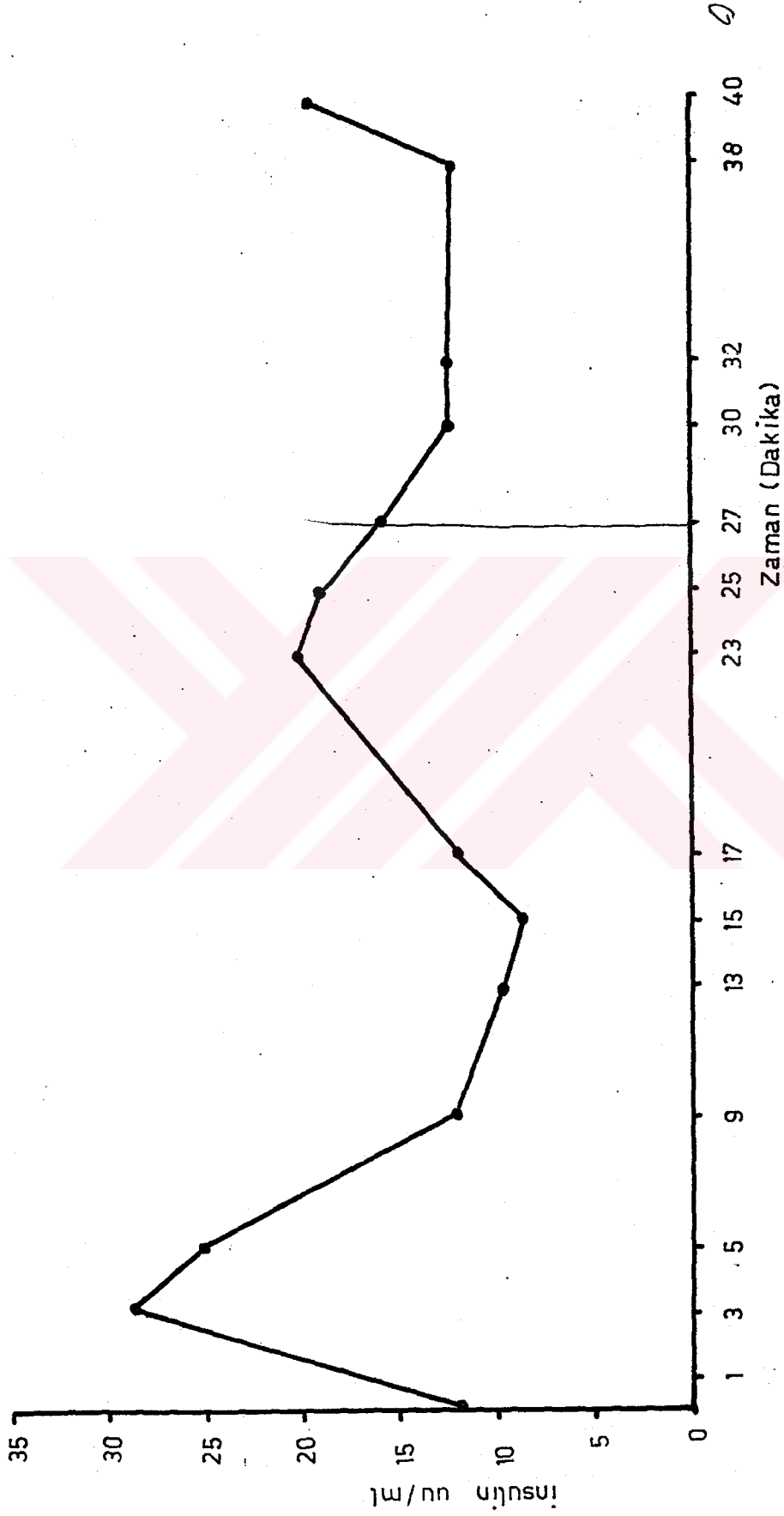
Resim 19 da görüldüğü gibi A hücrelerinde nukleus membranının yüzeyinde düzensizlik olduğu dikkati çekiyor.

Resim 19 ve 20 de granülden zengin A-hücreleri, aktif Golgi kompleksleri ile görülmektedir.

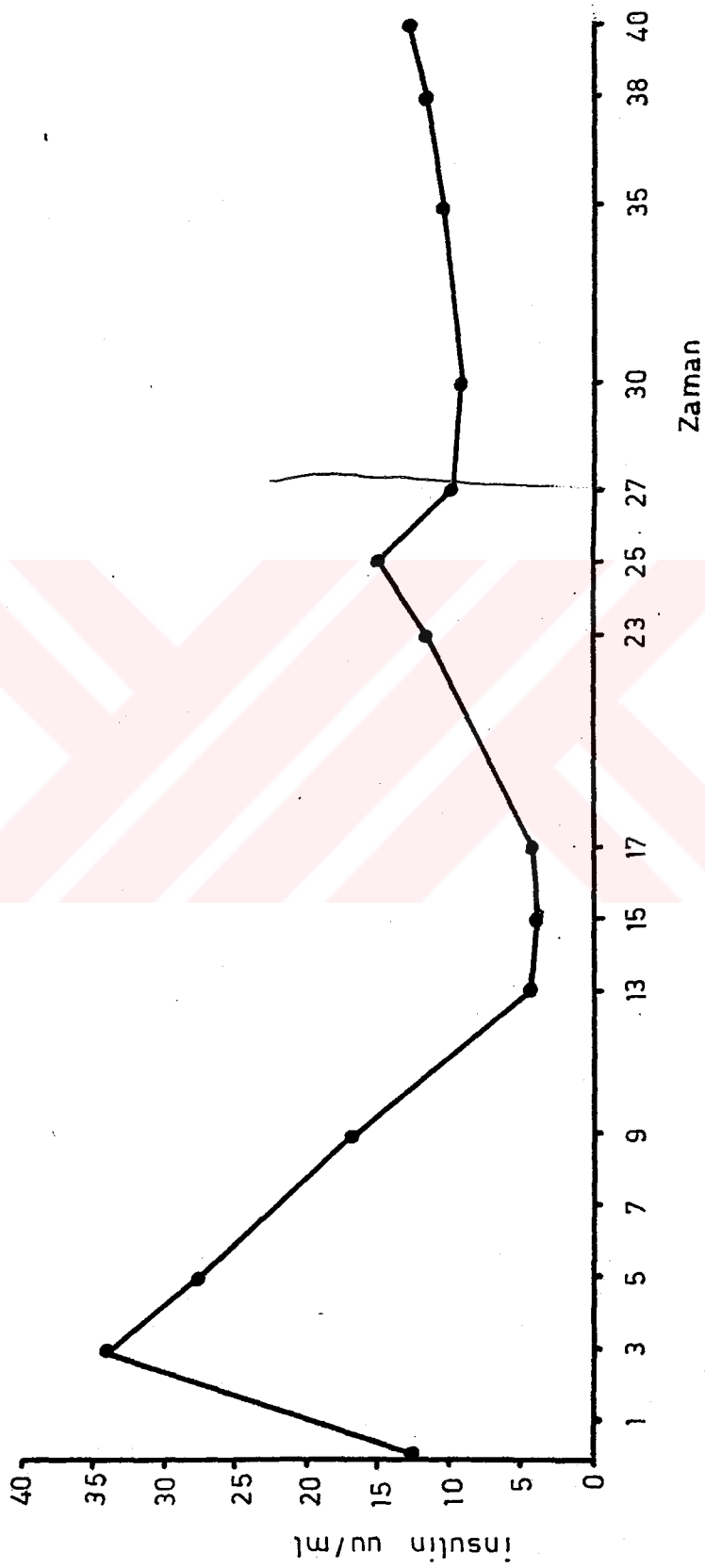
Bulgularda bahsedilmeyen resimler, "resimler ve açıklamaları" bölümünde alt açıklamaları ile anlatılmıştır.



Tablo I. % 200 mg Glukoz



Tablo:II. % 100 mg glukoz + 16.6 μ Mdl L-Leucine



Tablo:III. % 100 mg glukoz + 1 mg/100 ml. Glukagon

T A R T I Ş M A

Pankreas adacık sistemi gerek morfoloji, gerek karmaşık fizyolojisi ve özellikle insülin yapımı ve salınım mekanizması açısından araştırmacıların ilgisini çekmeye devam etmektedir(6,7,10,11,25,33,44,66,68,80). Bu arada, hormon yapımını ve insülin salınımını etkileyen maddeler de önemlerini sürdürmektedirler.

Adacık sistemin etkileyen başlıca maddelerin: Glukoz, Alloxan, Glukagon, L-Leucine, Kobalt klorür, Çinko, Tolbutamide, Adrenal korteks steroidleri, prostaglandinler ve anti-insülin serum olduğu bilinmektedir(2,3,7,21,24,28,55,64,66,74,82,85,89).

Yürütülen bu tez çalışmasında ise adacık sistemini uyaran bu maddelerden Glukoz, L-Leucine ve Glukagon ile adacık hücreleri uyarılmaya ve oluşan yapısal değişiklikler değerlendirilmeye çalışıldı.

Bilindiği gibi, uzun zamandan beri ışık mikroskobu ile çalışanlar, insan ve omurgalılarda pankreas adacık sisteminin A ve B hücreleri olmak üzere iki esas hücre tipinden oluştuğunu açıklığa kavuşturdular(5,22,56). Bu hücrelerin organizmada insülin ve glukagon kaynağı olduğu da morfolojik bakımdan kanıtlanmıştır.

Işık mikroskobu düzeyinde hücre tiplerinin ayırımı için seçici boyama tekniği olarak aldehyde-fuchsin Gomori boya yöntemi üzerinde durulmuştur(35). Özellikle elektronmikroskobu seviyesindeki çalışmalarla adacık hücrelerinden A ve B hücrelerinin özel granül yapıları, organelleri, ultrastrüktür düzeyinde anlatılmış ve fonksiyonları ile ilişki kurulmaya çalışılmıştır(18,25,33,49,50,51,58,61,75,84).

Ultrastrüktür bulguları, bu morfolojik gözlemleri hücrelerdeki salgı granülleri düzeyinde α granül ve β granül şeklinde değerlendirmeyi sağlamıştır. Bilindiği gibi bu granüller, ilgili hormonların depolanmış şekli olarak kabul edilebilir. Diğer bir deyişle B hücresindeki granüller insülin ile, A hücresindeki granüller de Glukagon'un depo formu ile identiktir.

Pankreas adacık sisteminde bu iki hücre tipine daha sonraki gözlemlerle diğer hücre tipleri de eklenmiş olup, Like ve Orci (1971) A, B hücrelerine ek olarak D hücresini de ayrı bir hücre tipi olarak belirtmişlerdir(11).

Ayrıca, insanda, küçük granüllü hücreler diye dördüncü bir hücre tipinden bahseden araştırmacılar(10,11,71,72) elektronmikroskopik gözlemlerine göre bir ayırım yapmışlardır.

Burada bir gerçeği vurgulamak konuya ışık tutacaktır. Cavallero ve ark.nın da(11) belirttiği gibi, pankreatik D hücresi ile gastrointestinal mukozadaki endokrin hücrelerden D hücreleri arasında ultrastrüktür yapıları açısından yakın bir benzerlik vardır. Gastro-intestinal D hücrelerinin fonksiyonları tartışmalı ise de, pankreastaki D hücrelerinin pankreas doku ekstraktlarında radyoimmunoassay ile ölçümlerinde, gastrin veya gastrine benzer bir madde oluşu(11,36,37) ve ışık mikroskobu bulguları, pankreastaki D hücrelerinin pankreatik gastrin'in kaynağı olduğunu açıklığa kavuşturmuştur.

Ayrıca, Gastrik ve intestinal mukozadan ve pankreasta somatostatin benzeri bir peptidin izole edilmiş olması, D hücrelerinin Somatostatin-benzeri peptid yapıcı olduğunu göstermektedir.

Pankreas adacık sisteminde bulunduğu öne sürülen küçük granüllü hücrelere gelince; yine Gastro-intestinal mukozadaki D₁ hücreleri ile yakınlığı üzerinde durulmaktadır. Bunların pankreastaki fonksiyonları açıklık kazanmamış olmakla beraber, ikisinin de gümüşleme metodları ile pozitif olması benzerliklerini yansıtır niteliktedir(19,90).

Pankreas adacık sistemindeki hücrelerin yapı ve işlevleri arasında ilişki kurulurken, bazan fizyolojik sapmalar(17, 48), bazen de patolojik hallerdeki doku özellikleri değerlendirilir(6,15,24,80). Nitekim bu açıdan konuya yaklaşan Berker ve ark.(6), Şaşmaz ve ark.(80), Erbeni ve ark.da(25) soliter ve fonksiyone bir adenoma vakasını incelemişlerdir. Klinik ve biyokimyasal olarak insülinoma tanısı konmuş olan bu vakanın Tolbutamid ve L-Leucine'e cevap testleri uygulaması sonunda Langerhans adacıklarında ışık mikroskobu ve ultrastrüktür düzeyinde B-granüllerinde azalma gösterilmiştir. Araştırmacılar fonksiyonel bulgularıyla da bu morfolojik gözlemlerin insülin salınımı hızlanması ile uygun düşmekte olduğunu vurgulamışlardır.

Yine aynı grup araştırmacılar tarafından(80) insülinoma her ne kadar patolojik anatomi bakımından araştırılan bir konu ise de, bir taraftan insülin yapımı ve sekresyonu, diğer taraftan da sekresyonu yapılan insülin'in Beta hücre granülasyonu ile çok yakın ilişkisiyle, Langerhans adacıklarından oluşan tümörlerin gerek klinik gerek histolojik yönlerden önemi olduğuna işaret edilmektedir.

Görülüyor ki, gerek deneysel ve uyarıcı maddelerle

pankreas adacık sisteminde insülin yapım ve salınımına ait çalışmalar, gerekse normal ve tümöre bağlı gelişme gösteren adacık sisteminin bazı uyarılara verdiği cevaplar, aynı amaca yönelik bir açıklama getirmektedir.

Konuya bir başka açıdan yaklaşma amacına yönelik bu tez çalışmasında da pankreas dokusunun ortama bağlı olarak uyarıcı etkenlere cevabında özellikle pankreasta insülin yapımı ve salınımı ön plana alınmıştır.

Devrim'in(20) insülin biyosentezi ve sekresyonuna ait bir yayınında belirttiği gibi, Moleküler biyolojinin araştırmacı hekimlik alanına sağladığı faydaların biri, insülin biyosentezi ve sekresyonu konusunda olmuştur. Bu çalışmalar bir yandan insülin yapımına ve salınımına ait veriler getirirken, diğer taraftan da şekerli diabet patogenezinin katkıda bulunmuştur.

Bu arada, deneysel pankreas perfüzyonlarında da insülin salınımı konusunun ön planda oluşu gözden kaçmamalıdır(26). Eser ve Kaptanoğlu, köpeklerde yaptıkları bu deneylerde perfüzyon ortamına glukoz ilave etmişler ve amino asitli ve amino asitsiz deney şartlarında pankreas metabolizmasını değerlendirmişlerdir(26).

Bilindiği gibi, pankreas enerji gereksinimleri için çok miktarda glukoz ve amino asit kullanmaktadır. Ayrıca, perfüzyon olayında, organın gram başına aynı miktar glukoz kullanması halinde, yavaş perfüzyonlarda, hızlılara nazaran glukoz yoğunluğunun düşüşü, perfüzyon hızı ile ters orantılıdır(26).

İnsülin salınımı üzerine etkili ana faktörün pankreas damarları içindeki glukoz yoğunluğu olduğu da bilinmektedir. Bu arada, periferik kandaki glukoz yoğunluğu, indirekt olarak intrapankreatik glisemi değerlerini aksettirir.

Adacık sistemini uyaran maddelerden amino asitlerin etkisine ait literatür kaynakları gözden geçirildikte insülin salgılanmasını hızlandırdığına dair in vivo(28,29,30) ve in vitro(4,12,23,32,43,70,73,80,82,87,91) deneyler dikkati çeker. Bunlardan, Malaisse ve arkadaşlarının amino asitle uyarılmış insülin salınmasını, beyaz sıçanlarda izole pankreas adacıklarında deneysel olarak inceledikleri ve L-Glutamine ve L-Leucine'in etkisini araştırdıkları çalışmaları örnek olarak gösterebiliriz(63,64,65,66,67,68).

Bu araştırmacılara göre, ortamda glukoz bulunduğu takdirde L-Glutamine ile inkübe edilmiş adacıklardan insülin salınımı uyarılmamaktadır. Ancak, L-Glutamine, L-Leucine ile olduğu takdirde insülin salınımını önemli derecede arttırmaktadır. Ayrıca, L-Glutamine, L-Leucine uyarısı ile sağlanan proinsülin biyosentezini de arttırmaktadır.

L-Glutamine ve L-Leucine kombinasyonuna verilen salınım cevabı, hem Ca^{++} alımının, hem de Cyclic AMP sentezinin uyarılması ile çakışmaktadır. Bu durum, besin uyarısı ile insülin salınımı olayındaki Ca alımı, cyclic AMP sentezi ve insülin salınımı arasındaki ilişkilere ait görüşmelerle uygunluk göstermektedir.

Aynı araştırmacılar, L-Leucine'nin nonmetabolize analogu (2 aminobicyclo 2,2,1 heptane-2 Carboxyclic acid "BCH") ile izole pankreas adacıklarındaki yaptıkları bir diğer incelemede, amino asit ile uyarılmış insülin salınımının hızlandığını göstermektedir(68).

Literatürde pankreas perfüzyonları yolu ile L-Leucine ve L.phenylalanine ile uyarılmış insülin salınımı kinetiğinin incelenmesine dair çalışmalara da rastlamaktayız.

Pankreas perfüzyonunda glukozsuz ortamda, L-Leucine,

insülin salınımını uyarmaktadır. L-Phenylalanine ise glukozlu veya glukozsuz ortamda, belirgin bir etki yapmamaktadır. Bu iki amino asitin farklı kinetiği insülin salınımında özel reseptörlerle ve glukoz ile ilişkili görülmektedir. Bu çalışmalar amino asitle uyarılan insülin salınımında reseptörlerin önemine dikkatleri çekmektedir.

Her ne kadar, glukozun L-Leucine ile uyarılan insülin salınımındaki ilişkisi tartışma konusu olarak önemini sürdürüyorsa da, büyük bir olasılıkla, glukoz, B-hücrelerinde hücre membranlarında değişikliklere neden olarak, B hücresi reseptörlerinin Leucine affinitesini sağlar. Bu etki de, ancak Glukoz ve Leucine reseptörlerinin B hücresi membranlarında birbirlerine oldukça yakın olması ile mümkün olabilir.

Phenylalanine ise, glukoz olsun veya olmasın, insülin salınımında belirgin bir artışa neden olmamaktadır. Bu sonuç şöyle açıklanabilir; Bu amino asit her ne kadar B hücrelerine taşınıp insülin molekülüne bağlanıyorsa da bu, insülin salınımının stimülasyonu için yeterli değildir. Nitekim, Helman ve ark.(42) fare adacıklarında insülin sekresyonu olmaksızın, D-Leucine ve Alanine'in tutulduğunu göstermişler ve bu görüşü desteklemişlerdir.

Perfüzyonda Leucine konsantrasyonu ile ilgili çalışmalara gelince: tavşan pankreas parçalarını kullanan Milner(69), Leucine konsantrasyonu ile insülin salınması arasında linear bir ilişkinin varlığını göstermiştir. Landgraf ve ark.da(55) benzer şekilde glukozsuz ortamda Leucine ile doza bağlı bir linear etkiyi bildirmektedirler. Lenmark(59) da şişman hiper-glisemik farelerden alınan izole pankreas adacıklarında benzeri sonuçları almıştır.

Literatürde perfüzyon çalışmalarından(1,3,17,26,32,46, 62,81) başka pankreas adacıklarında yürütülen perifüzyon çalışmaları da yer almaktadır(44,73,76,78). Bu çalışmalar çok.

az sayıda olmakla beraber yine insülin yapımı ve salınımı olaylarına açıklık getirmeyi amaçlamaktadır. Bunlardan Hoshi ve ark.(44) kollagenaz'la sindirme yöntemi ile izole ettikleri sıçan pankreas adacıklarını sürekli tamponlu akıcı bir ortamda perifüzyona tabi tutmuşlar ve glukozla inkübasyon sonuçlarını incelemişlerdir. 24 saat perifüzyon sürecinde insülin salınımını değerlendirmişler ve stimülasyonda ayrı fazlar üzerinde durmuşlardır. Bu araştırmacıların faz I olarak niteledikleri evre ise mevcut (preforme) olan insülinin release'ıdır.

Aynı uyarıcı maddeler kullanılarak yapılan izole pankreas perfüzyonu çalışmasındaki sonuçlar perifüzyonla yaptığımız bu çalışmaya uygun düşmektedir(Altuğ,T. Yayınlanmamış bulgular).

Bu çalışmada adacık için gerekli solunum şartları sağlanmıştır. Deneylerinde solunum şartlarıyla da ilgilenip fare pankreas adacıklarında insülin salınması ve solunum olaylarını inceleyen Welsh ve ark.(91), insülin salınımının stimülasyonunda B hücreleri metabolizmasının önemini aydınlatmaya çalışmışlardır.

İşte topluca değindiğimiz bu literatür kaynaklarının ışığında planlanan bu tezde elde edilen bulgular tezin hazırlanış amacına yeni katkılar getirmiştir.

Yukarıda belirttiğimiz gibi, literatür bilgimiz gözden geçirildikte, insülin yapımı ve salınımı üzerinde yapılmış araştırmalar, genellikle fonksiyonel ve biyokimyasal açıdan konuyla ilgilidir. Bu konuda morfolojik ve özellikle ultrastrüktür düzeyindeki çalışmalar ise çok sınırlıdır. Bunlar içinde, Berker ve arkadaşlarının(7) köpeklerde yaptıkları deneysel bir inceleme, Glukoz, L-Leucine, Tolbutamid ve protei-

nin insülin salınımına etkisini, fonksiyonel ve ışık mikroskopu düzeyinde adacık yapısındaki değişiklikleribildirmekle konuya en yakın olanıdır. Bu araştırıcılar, intravenöz glukoz verilmesi ile oluşan hiperglisemik uyarı ile B hücrelerinde insülin sekresyonunun artışına işaret etmişlerdir. Oral yoldan L-Leucine verilmesi, köpek pankreas adacıklarında insülin salınımını arttırmaktadır. Tolbutamide ile hazırlanmış veya et ile beslenmeye tabi tutulmuş köpeklerde ise, bu etki daha da artmaktadır.

Floyd ve ark.(29,31) da etten zengin Leucine ile beslenen normal kişilerde, plazma insülinde artış göstermişlerdir. Bu da, Leucine'in amino asitlerle insülin salgılanmasında uyarı etkisinin arttığını bir kere daha vurgulamaktadır.

Berker ve ark.nın(7) çalışmasında bir diğer önemli noktada da adacık sistemindeki A₂ hücrelerine yönelik bulgulardır. L-Leucine ile A₂ hücrelerinin de uyarıldığı ve glukagon salınımı ile dolaylı insülin salınımı olduğu görüşünün destek bulmasıdır.

İnsanda pankreas adacık sisteminin uyarılmasına ait bir çalışmalarında ultrastrüktür bulgularını değerlendiren Erbenęi ve ark.(25) ise kontrollü verilen iv. Tolbutamid ve oral L-Leucine ile sadece B hücrelerini fonksiyon açısından değerlendirmekle kalmamış, L-Leucine'in önce A₂ hücrelerini uyarıp, Glukagon salgılamasını kolaylaştırdığı ve dolaylı olarak da glukagonun insülin salgılanmasında etkisi olabileceğini tartışmışlardır. Nitekim, bu spekülatif görüşün deneysel çalışmadaki biyokimyasal bulgularla destek bulunduğunu ileri sürmüşlerdir.

İşte, yapılan bu tez çalışmasında da, bu literatür bilgisinin ışığında perifüzyon sürecinde belli zamanlarda alınan pankreas parçalarında adacıklar incelenirken, sadece B hücre-

leri değil insülin ile ilgili A₂ hücreleri de dikkate alınmıştır.

Bu amaçla, pankreas parçaları perifüzyona tabi tutulmuş ve bir taraftan adacık sisteminin glukoz ve L-Leucine ile uyarılması sonuçları, fonksiyonel açıdan incelenmiş ve paralel olarak B hücrelerinde ışık mikroskobu ve elektronmikroskopu düzeyinde değerlendirilmiş, diğer taraftan da Glukagon perifüzyon ortamına konmuş ve adacıklarda A ve B hücrelerindeki yapısal özellikler üzerinde durulmuştur.

Perifüzyon boyunca zamana göre aralıklı insülin ölçümleri yapılırken, alınan doku örneklerinde de granül açısından B hücrelerindeki değişikliklerin fonksiyonel verilerle uyum gösterdiği izlenmiştir (Resim 11 ve 18).

Deney gruplarımıza göre, glukozun sıçan adacık sistemine etkisinin fonksiyonel açıdan değerlendirmesi, insülinin yapımı ve salınımı olarak bulunmuştur. L-Leucine ilave edilmiş ortamda perifüzyonun 27 inci dakikadaki insülin değeri 16.081 iken 45 inci dakikadaki insülin miktarı 19.845 olarak bulunmuştur. Bu fonksiyonel değerler L-Leucine'nin zamana göre linear etkisini kanıtlar niteliktedir.

Perifüzyonda glukozla bağılı olarak, 27 inci dakikada B hücrelerindeki ışık mikroskobu ve ultrastrüktür bulguları da insülin salınımındaki etkilenmeyi yansıtır bir tablo göstermektedir. Bu durum in vivo deneylere uymaktadır (7,25,80). % 100 mg Glukoz + 16.6 m.Mol L-Leucine ilave edilmiş ortamda perifüzyona tabi tutulmuş pankreas parçalarında 27 inci dakikada insülin salınımı ve yeniden hücre içi sentezine ait morfolojik bulgular konuya, yeni orijinal katkıda bulunmaktadır.

Perifüzyonun 27 inci dakikasında alınan örneklerde L-Leucine'in Langerhans adacıklarına etkisi, histolojik açıdan aktivite şeklinde belirmiştir (Resim 8).

Ultrastrüktür yapıları açısından ise elektronmikrograf-
lar ile, adacıklarda aydınlık ve koyu olan hücre tipleri şek-
linde bir ayırım yapılabilmesi ilgi çekici bir sonuç olarak
kabul edilebilir (Resim 10 ve 13).

Bu perifüzyon deneyinde sıçanda pankreas adacıklarında
A hücreleri açısından yapılan değerlendirmeler ise konuya ye-
ni katkılarda bulunmaktadır.

L-Leucine etkisinde A hücrelerinde hipertrofi ve gra-
nül yapımı ile salınımında etki belirgindir. Bu, Berker ve
ark.(7) ile Erbeni ve ark.(25) nın köpeklerde ve insandaki
bulgularına uygun düşmektedir.

Burada deney şartları ile ilgili bir hususun belirtil-
mesi yerinde olacaktır.

Bu tez çalışmasının gerek planlanması, gerek hazırlan-
ması süresince perifüzyon şartlarıyla in vitro kültür şartla-
rının karşılaştırması yapılmıştır.

Bilindiği gibi, in vitro şartlarda pankreas parçala-
rında insülin salgılanmasının ölçülmesinde gerçek değerlerden
kayıp söz konusudur. Çünkü inkübasyon sürecinde pankreasın
eksokrin kısmından oluşan proteolitik enzimler insülinin bir
kısımını tahrip etmektedir. Nitekim, bu sakıncayı önlemek üze-
re Malaisse ve ark.(66), metoddaki bir değişiklik yapmış ve in-
kübasyon ortamına anti-proteolitik serum ilave ederek ortama sal-
gılanmış insülini korumaya çalışmışlardır.

Biz de ortama anti-proteolitik olarak Trasylol ilave
ederek salgılanan insülinin proteolitik enzimlere karşı ko-
runmasını sağladık.

Malaisse ve ark.(66) ayrıca insülin salgılanmasında

iki ayrı faktörü de incelemişlerdir. Bunlardan biri inkübasyon zamanı, diğeri de parçaların büyüklüğüdür.

Bu çalışmaların ışığında biz de çalışmamızı planlarken, perifüzyona tabi tutulan parçaların büyüklüğü ile perifüzyon süreçlerini belli bazı denetlemelerden geçirerek seçtik.

Ayrıca, perifüzyon ortamının respirasyon açısından avantajlarını da göz önünde bulundurup perifüzyon şartlarının, eksokrin parenkimden ayrılmamış adacık sistemi olarak uygun olacağı kanısına vardık.

Bu arada, Lambert ve ark.(54) nın fötal sıçan pankreasındaki organ kültürü çalışmaları da dikkate alınmıştır. Bu araştırmacılar fötal pankreas eksplantlarını kullanıp ortama çeşitli uyarıcılar ilave etmişler ve insülin salınmasını değerlendirmişlerdir. Bu çalışmadaki önemli bir özellik de araştırmacıların ortamda uyarıcı olarak Glukagon da kullanmış olmalarıdır. Çalışmacıların bildirdiklerine göre 3.2 µg/ml Glukagon insülin salınmasında belli bir etkidir.

Ayrıca, bu araştırmacılar(54) in vitro pankreas dokularında insülin salınması ile ilgili diğer çalışmalardaki sonuçlardan değişik bazı bulgular elde ettiklerini de bildirmektedirler. Bu bulgulara göre diğer çalışmalarda ileri sürüldüğünün aksine glukozun bir stimülan etken olarak kullanılması gerekmemektedir. Hatta glukoz yerine, Kafein kullanılırsa, insülin salınmasında daha da etkili olmaktadır.

Ayrıca, bu çalışmada sadece glukoz değil, potassium'un (K^+) da yokluğunda kafein'in etkili olmasına dayanarak, araştırmacılar, 3,5-cyclic AMP'nin insülin salınması olayında etken olabileceği hipotezini savunmuşlardır(54).

İşte literatür kaynaklarından birbirini destekleyen

veya zaman zaman aykırı düşen bilgilerin edinilmesi, bu çalışmamızı yaparken çoğunlukla kullanılan glukoz ve L-Leucine gibi uyarıcı ve stimulan maddelere daha az kullanılan glukagonu ilave etmemize neden oldu. Ayrıca, deneylerimizde in vivo ve in vitro şartların arasında yer alan ve kontrollü bir ortam olan perifüzyon şartlarında çalışma yöntemini sağlayan modeli seçmemize neden oldu.

Hoshi ve ark.nın(44) da belirttiği gibi, çeşitli uyarılar kullanılırken, normal sınırları aşan uyarmalara dikkat edilmelidir.

Daha önce de belirtildiği gibi, pankreas adacık sisteminin fizyolojik veya glukoz, amino asit, yağ asitleri, çeşitli hormonlar ve ilaçlarla uyarılması, insülin yapımını ve salınımı etkiler. Ancak konu, adacık sisteminin bu uyarıcılara karşı cevabı açısından önemlidir. Eğer, adacık sisteminde insülin yapım mekanizması anormal uyarılacak olursa veya bu uyarıcılara cevap anormal yönde gelişirse, Diabet veya diğer metabolizma bozukluklarına neden olur.

Tabii, bu olayların adacık sisteminin morfolojisine yansımada B-hücreleri ön planda gelmektedir. Bu nedenle, bu tezde elde edilen bulguların önemi vardır. Ayrıca, insülin salınımını etkileyen maddelerin kullanımında perifüzyon tekniğinden yararlanılması da, pankreas dokusunun in vitro şartlardaki sakıncalardan arındırılması yönünde uygun deney şartlarını sağlamıştır.

Perifüzyonda belirli bir akımın bulunuşu, proteolitik enzimlerin etkilerine karşı Trasylol kullanılması, parçaların büyüklüğünün seçimi, ortamdaki maddelerin doz ve etki süreçleri, bu amaca en uygun şekilde seçilmiş olup, insülin salınmasını yükümlenen B hücrelerinin morfolojilerinin, gerçek etki düzeyini yansıtmalarına önem verilmiştir.

Nitekim, glukozu izleyen L-Leucine ile uyarılmada B hücrelerinde bazen farklı fizyolojik stimülasyon şekillerini yansıtan aydınlık ve koyu sitoplazmalı hücrelere rastlanılmış olması (Resim 10 ve 13), bu hususta başarılı olduğumuzun bir kanıtı gibi kabul edilebilir.

Yine perifüzyon şartlarında pankreas adacık sisteminin uyarılması diğer değişik şartlardaki uyarılmalardan ayrı değerlendirilmelidir. Nitekim, Hoshi ve arkadaşlarının da(44) üzerinde durduğu gibi perifüzyonda faz I olarak nitelendirilen ilk insülin salınımı cevabı, glukoz yokluğunda bile elde edilebildiğine göre, bu doğrudan doğruya B hücrelerinin metabolizmasının etkilenmesi ile ortaya çıkmaktadır. Muhtemelen bu etki de, sürekli akım ve iyonların etkinliğinde membran potansiyelindeki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. X

Faz II ise biyosentez-i yeniden yapılan insülinin release'ıdır ve her üç uyaranın (Glukoz, L-Leucine ve Glukagon) bu fazı da aktive ettiği bu deneyde gösterilmiştir. Elektronmikroskopik bulgular da bunu kanıtlamıştır.

Ayrıca, deneylerimizde perifüzyon yöntemini kullanmakla çeşitli dış etkenler yok edilmiş ve ortam şartları ile adacıklar ve çevresindeki eksokrin parenkimin metabolik şartlarının (doğal siklik olaylar dışında) değişmemesi sağlanmıştır.

Böylece, perifüzyon setinde deneye tabi tutulan pankreas parçacıklarından elde edilen ışık mikroskobu resimleri ile elektronmikrograflardaki A ve B hücrelerine ait bulgular, insülin yapımı ile salınımının etkilenmesi olaylarını morfolojik düzeyde yansıtır nitelikte bulunmuştur.

Nitekim (Resim 1 ve 2'de) glukozunstimölasyonu; (Resim 8 ve 9) da glukoz + L-Leucine ve (Resim 18 ve 20) glukoz + glukagon ile insülin salınmasında bir etkilenmenin olduğuda açıkça A ve B hücreleri düzeyinde belirlemektedir.

Perifüzyon sürecinde belli zaman aralıklarında elde edilen fonksiyone bulguların ve morfolojik bulguların sayısal verileri kanıtlar nitelikte olduğu Tablo I, II ve III'den anlaşılmaktadır.

S O N U Ç

Bu tez çalışmasında, perifüzyon şartlarında sıçan pankreas parçacıklarının Glukoz, L-Leucine ve Glukagon ile uyarılmasına ait fonksiyonel bulgular, insülin salınımının etkilendiğini ve arttığını göstermiştir. Buna paralel olarak, perifüzyon sürecinde belli zamanlarda alınan pankreas doku örneklerinin, ı ışık mikroskobu ve elektronmikroskobu incelemeleri, çeşitli uyaranlara, pankreas adacık sisteminin cevabı açısından yeni katkılar getirmiştir.

Bir taraftan Glukoz ve Glukoz + L-Leucine ile uyarılmanın adacıkta esas B hücresi düzeyinde olduğu bir kere daha açıklığa kavuşurken, A-hücrelerinin de etkilendiği, nitekim Glukagon'a bağlı olarak A hücreleri ile B hücrelerinin etkilendikleri anlaşılmıştır. Bu bulgular da bazı araştırmacıların ileri sürdüğü gibi(25) Glukagon'un dolaylı insülin salgımasında katkısını vurgulamıştır.

Ö Z E T

1- Sıçanda pankreas adacık sisteminin çeşitli etken maddelerle uyarılmasının fonksiyonel ve morfolojik olarak incelenmesini amaçlayan bu tez çalışmasında toplam 21 adet Wistar tipi beyaz sıçan kullanıldı.

2- Sıçanlar üç grupta toplandı. Grup I: Glukoz (% 200 mg) ilave edilmiş perifüzyon ortamında deneye tabi tutulan sıçanlar. Bu grup aynı zamanda diğer gruplar için kontrol grubu niteliğinde idi.

Grup II. Perifüzyon ortamına % 100 mg Glukoz + L-Leucine (16.6 m.Mol (Merck) ilave edilmiş deney şartlarında incelenen sıçanlar. Bu grup, L-Leucine etkisine glukoza stimülasyonunu da incelemek için seçilmiştir.

Grup III: % 100 mg Glukoz + 1 mg/100 ml Glukagon (Novo) ilave edilmiş perifüzyon ortamında incelenen sıçanlar. Bu grup, glukagon'un adacık sistemine direkt veya indirekt etkisini fonksiyonel ve morfolojik açıdan değerlendirmek için seçilmiştir.

3- Tezde kullanılan inceleme yöntemleri, adacık sisteminde insülin salınımını, a) fonksiyonel yönden değerlendirmek üzere Radyoimmunoassay yöntemi kullanılmış olup, b) morfolojik incelemeler için de perifüzyon sürecinde belli zaman-

larda alınan pankreas parçacıkları ışık mikroskobu ve elektronmikroskobu düzeyinde yürütülmüştür.

4- Fonksiyonel bulgular Adacık sistemindeki etkilenmede glukoz uyarısında az bir etki olduğunu; Glukoz + L-Leucine etkisinde insülin salınmasının daha da arttığını göstermiştir. Ayrıca, Glukoz + Glukagon'la uyarılmada bulunan insülin değerlerindeki artış, adacık sisteminde bu uyarıcılarla insülin salınmasının etkilendiğini kanıtlamıştır.

Perifüzyon tekniğinin uygulamasına başlarken, setin düzeni seçilirken akım hızı incelenmiştir. Ortamda salınan insülinin tahrip olmasını önlemek üzere bir anti-insülin et-
ken olan Trasylol kullanılmıştır. Böylece adacıklardan salınan insülin değerlerinin kaybı önlenip gerçek miktara yaklaşım sağlanmıştır.

5- Morfolojik bulgular fonksiyonel verilerle uyum göstermiştir.

a) Işık mikroskobu bulgularında adacık sistemini uyarıcı etkenlerle A ve B hücrelerindeki değişiklikler, seçici boyama tekniği Gomori'nin Aldehyde fuchsin boyası ile belirtilmiştir. B hücrelerinde aldehyde-fuchsin ile granüllerin viyolete boyanmasındaki azalma, insülin salınımındaki artış; Aldehyde-fuchsin'le boyanan granüllerdeki artış da B-hücrelerindeki insülin yapımının hızlandığı şeklinde değerlendirilmiştir.

b) Elektronmikroskobu gözlemleri, perifüzyon sürecinde insülin salınmasındaki hızlanmaya uygun olarak gerek B hücrelerinin gerekse A hücrelerinin ultrastrüktür yapılarındaki değişiklikleri yansıtır nitelikte bulunmuştur. Böylece bu tez çalışması "in vitro" şartların en iyileştirilmiş bir tipi olan "perifüzyon" şartlarında pankreas adacık sisteminin uya-

rılması, insülin salınımına bağlı olarak yapılan incelemeleri hücre düzeyinde değerlendirirken sadece B hücrelerinin değil, A hücrelerinin de dikkate alınması gerektiğini göstermekle konuya yeni bir yaklaşım getirmiştir. Bu gözlemler insülin salınmasında Glukagon'un dolaylı uyarıcı etkisini savunan hipotezi destekler nitelikte bulunmuştur.

S U M M A R Y

1- The aim of this thesis was to investigate the functional and the morphological aspects of the islet system in rat pancreas following stimulation with various effective agents and a total of 21 wistar albino rats were used.

2- Rats were divided into three groups:

a) Group I: Rats exposed to the perfusion medium to which glucose, in the dose of 200 mg %, was added. This group also served as the control group for the other groups.

b) Group II: Consisted of rats exposed to the perfusion medium to which 100 mg % of Glucose + L-Leucine (16-6 m.Mol (Merck) were added. This group was chosen, also, for the investigation of glucose stimulation under the effect of L-Leucine.

c) Group III: Rats examined in the perfusion medium to which 100 mg % of Glucose + 1 mg/100 ml Glucagon (Novo) were added. This group was chosen for the investigation of the direct or the indirect effects of glucagon on the functional and the morphological aspects of the islet system.

3- Investigation procedures applied in this study were related to insulin secretion in the islet system: a) Radio-immunoassay was used in order to examine the functional

aspect; b) Pieces of pancreas tissue were taken at certain time periods during the perfusion for morphological investigation which was carried with light and electron microscopes.

4- Findings in relation with the functional activity revealed that glucose stimulation in the islet system was slightly effected and that the insulin secretion was more increased under the effect of Glucose + L-Leucine. Also, high values were obtained with Glucose + Glucagon stimulation which gave evidence that the insulin secretion was influenced with these stimulators.

At the beginning of the application of the perfusion technique, when the set arrangement was chosen, flow rate was tested. In order to prevent the destruction of the insulin secreted in the medium an anti-insulin agent, Trasylol, was used. In this way, loss in the amount of insulin which was secreted from the islets was prevented and almost the real value was obtained.

5- Morphological observations were found to be in accordance with the functional findings:

a) Stimulation of the islet system was observed with light microscopy and alterations in A and B cells were shown with the selective staining technique, Gomori's Aldehyde fuchsin method. In B cells, decrease in violet staining with Aldehyde fuchsin in the granules indicated to the increase in the secretion of insulin, whereas, increase in the Aldehyde fuchsin positive granules was considered as the enhancement of the insulin synthesis in B cells.

b) Electron microscopical findings revealed structural alterations in B and as well as in A cells reflecting the

enhancement in insulin secretion during the perfusion period.

So, in this study, using perfusion which was the best "in vitro" condition, examination at the cellular level of the stimulated pancreas islet system in connection with insulin secretion has brought a new point of view by showing that not only B cells, but also A cells should be taken into consideration. These observations were found to give support to the hypothesis which favors the indirect stimulatory effect of glucagon in insulin secretion.



KAYNAKLAR

- 1- Anderson,E. and Long,J.A.: The Effect of Hyperglycemia on Insulin Secretion as Determined With The Isolated Rat Pancreas in a Perfusion Apparatus. Endocrinology 40:92 (1947).
- 2- Ashby,J.P. and Shirling,D.: The Priming Effect of Glucose on Insulin Secretion from Isolated Islets of of Langerhans. Diabetologia 21:230-234 (1981).
- 3- Basabe,J.C., Lopez,N.L., Viktora,J.K. and Wolff,F.W.: Insulin Secretion Studied in the Perfused Rat Pancreas. Diabetes 20:7, 457-466 (1971).
- 4- Bauer,G.E., Lindall,A.W., Dixit,P.K., Lester,G. and Lazarow,A.: Studies on Insulin Biosynthesis. Subcellular Distribution of Leucine-H³ Radioactivity During Incubation of Goosefish Islet Tissue. The Journal of Cell Biology 28:3, 413-421 (1966).
- 5- Bensley,R.R.: Studies on the pancreas of the guine pig. Amer. J. Anat. 12:297 (1911).
- 6- Berker,F., Devrim,S., Şaşmaz,O.Başar, M.Alhan, M.A.Özler, S.Dırvana, S.Ergun,S., Erbeni,T.: Soliter pankreas adenomuna bağlı organik hiperinsülinizm vakası dolayısı ile. Türk Tıp Cem. Mec. 31:628-649 (1965).

- 7- Berker,F., Şaşmaz,O., Yaramancı-Erbengi,T., Devrim,S., Alhan,M.A., Öner,M., Sandalcı,Ö., Arınık,A., Erdem,T. ve Gürkan,N.: Biochemical and Morphological Studies on the Effects of Glucose, L-Leucine Tolbutamide and Protein on Insulin Secretion and Release. Med.Bull.. İstanbul 1:171-209 (1968).
- 8- Boder,G.B., Root,M.A., Chance,R.E. and Johnson,I.S.: Extended Production of Insulin by Isolated Rabbit Pancreatic Islets; Evidence for Biosynthesis of Insulin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 131:507-513 (1969).
- 9- Buchanan,K.D., Mawhinney,A.A.: Insulin Control of Glucagon Release From Insulin-deficient Rat Islets. Diabets 22: 801-803 (1973).
- 10- Cavallero,C., L.G.Spagnoli and M.Cavallero: Ultrastructural study of the human pancreatic islets. Arch. Histol. Japn. 36:307-321 (1974).
- 11- Cavallero,C., Spagnoli,L.G. and Villaschi,S.: An Electron Microscopic Study of Human Pancreatic Islets. In: Endocrine gut and Pancreas. Editor: T.Fujita. Elsevier scientific publishing company. Amsterdam, 1976, pp.61-71.
- 12- Christensen,H.N., Hellman,B., Lernmark,A., Sehlin,J., Tager,H.S. and Taljedal,I.B.: In vitro stimulation of insulin release by non-metabolizable, transport-specific amino acids. Biochem. Biophys. Acta. 241:341-348 (1971).
- 13- Cochrane,W.A., Payne,W.W., Simkiss,M.J. and Woolf,L.I.: Familial hypoglycemia precipitated by amino acids, J. Clin. Invest. 35:411-422 (1956).

- 14- Coore, H.G. and Randle, P.J.: Regulation of Insulin Secretion Studied with Pieces of Rabbit Pancreas Incubated in vitro. *Biochem. J.* 93, 66-79 (1964).
- 15- Creutzfeldt, W., Arnold, R., Creutzfeldt, C., Deuticke, U., Frerichs, H. and Track, N.S.: Biochemical and Morphological Investigations of 30 Human Insulinomas. *Diabetologia* 9, 217-231 (1973).
- 16- Creutzfeldt, W., Creutzfeldt, C. and Frerichs, H.: Evidence for Different Modes of Insulin Secretion. The Structure and Metabolism of the Pancreatic Islets Wenner-Gren Symposium No.16 181-196 (1970).
- 17- Curry, D.L., Bennett, L.L. and Grodsky, G.M.: Dynamics of Insulin Secretion by the Perfused Rat Pancreas. *Endocrinology* 83, 572-584 (1968).
- 18- Deconinck, J.F., Potuliege, P.R., Gepts, W.: The ultrastructure of the human pancreatic islets. I. The islets of adults. *Diabetologia* 7, 266-282 (1971).
- 19- Deconinck, J.F., Van, Assche, F.A., Potvliege, P.R. and Gepts, W.: The Ultrastructure of the Human Pancreatic Islets II. The Islets of Neonates. *Diabetologia* 8, 326-333 (1972).
- 20- Devrim, S.: İnsulin Biyosentezi ve Sekresyonu Hakkında Yeni Görüşler. *Türk Tıp Cem. Mecm.* 3:35, 136-148 (1970).
- 21- Devrim, S., Recant, L.: Effect of Glucagon on insulin release in vitro. *Lancet* 2:1227-1228 (1966).
- 22- Diamere, V.: Studi comparativi sulle isole di Langerhans del pancreas. *Mem. 2a Int. Monat. Anat. Physiol.* 22:129-187 (1905).

- 23- Edgar,P., Rabinowitz,R. and Merimé,T.J.: Effects of amino acids on insulin release from excised rabbit pancreas, Endocrinology 84:835 (1969).
- 24- Erbenđi,T.: Güvercinlerde Pankreas adacık organına kobalt kloridin etkisi üzerinde eksperimentel incelemeler. İst. Tıp Fak. Mec., 29:197-223 (1966).
- 25- Erbenđi,T., Berker,F., Şaşmaz,O., Devrim,S.: İnsanda pankreas adacık sisteminin uyarılmasına ait ultrastrüktür bulguları. TÜBİTAK VI. BİLİM KONGRESİ 17-21.10.1977, 271-279.
- 26- Eser,S.R. ve Kaptanoğlu,Z.: Pankreas Perfüzyonlarında, Organın Karbonhidrat Metabolizması ve Sekresyonuna Bazı Aminoasitlerin Etkisi. Tıp Fak.Mecm. 36:469-484 (1973).
- 27- Fajans,S.S., Floyd,J.C.,Jr., Knopf,R.F. and Conn,J.W.: Effect of amino acids and proteins on insulin secretion in man. Recent Progr. Horm Res 23:617 (1967).
- 28- Fajans,S.S., Power,L., Gwinup,G.W., Knopf,R.F. and Conn, J.W.: Studies on the mechanism of leucine hypoglycemia, J. Lab. Clin. Med. 64:810 (1964).
- 29- Floyd,J.C.Jr., Fajans,S.S., Conn,J.W., Knopf,R.E., Rull, J.: Insulin secretion in response to protein ingestion, J. Clin. Invest. 45:1479-1486 (1966).
- 30- Floyd,J.C.Jr., Fajans,S.S., Conn,J.W., Knopf,R.F. and Rull,J.: Stimulation of insulin secretion by amino acids. J. Clin. Invest 45:1487 (1966).
- 31- Floyd,J.C.Jr., Fajans,S.S., Knopf,R.F., Rull,J. and Conn, J.W.: Postgrandial aminoacidemia and insulin secretion a physiologic relationship, J.Lab.Clin.Med. 64:858 (1964).

- 32- Frankel,B.J., Heldt,A.M. and Grodsky,G.M.: Effects of K^+ and Arginine on Insulin, Glucagon and Somatostatin Release from the in Vitro Perfused Rat Pancreas. Endocrinology 110:2, 428-431 (1982).
- 33- Frerichs,H. and Creuizfeldt,W.: Hypoglycaemia, L-Insulin Secreting Tumours. Clin. in Endocrinology and Metabolism. 747-767 (1976).
- 34- Gingerich,R., Wright,P.H. and Paradise,R.R.: Inhibition by Halothane of Glucose-stimulated Insulin Secretion in Isolated Pieces of Rat Pancreas. Anesthesiology, 40:5, 449-452 (1974).
- 35- Gomori,G.: Observation with differential stains on human islets of Langerhans. Amer. J. Path. 107:395 (1941).
- 36- Greider,M.H. and J.E.Mc Guigan: A comparison of ulcerogenic tumors of the pancreas with the gastrin cell of normal human pancreas and dog antrum. Amer. J. Pathol. 59:76a-77a (1970).
- 37- Greider,M.H. and J.E. McGuigen: Cellular localization of gastrin in the human pancreas. Diabetes 20:389-396 (1971).
- 38- Grodsky,G.M., Batts,A.A., Bennett,L.L., Vcella,C., McWilliams,N.B. and Smith,D.F.: Effects of carbohydrates on secretion of insulin from isolated rat pancreas. Amer. J. Physiol 205:638 (1963).
- 39- Hatemi,H.H., Kaptanoğlu,Z., Altan,H., Korugan,Ü., Urgancıoğlu,İ.: Magnezyum Katyonunun İzole Köpek Pankreasında insülin Salgılanmasına Etkisi. Cer.Tıp Fak.Der. 10:100-102 (1979).

- 40- Hellman,B., Idahl,L-A., Lernmark,A., Sehlin,J. and Taljedal,I-B.: The Pancreatic B-Cell Recognition of Insulin Secretagogues. Effects of Calcium and Sodium on Glucose Metabolism and Insulin Release. Biochem J. 138, 33-45 (1974).
- 41- Hellman,B., Sehlin,J. and Taljedal,I-B.: Effects of Glucose and other Modifiers of Insulin Release on the Oxidative Metabolism of Amino Acids in Micro-Dissected Pancreatic Islets Bioch. 123:513-521 (1971).
- 42- Hellman,B., Sehling,J. and Taljedal,I-B.: Uptake of Alanine Arginine, and Leucine by Mammalian Pancreatic B-Cells, Endocrinology, 89:1432-1439 (1971).
- 43- Hellman,B., Sehlin,J. and Taljedal,I-B.: Transport of L-Leucine and D-Leucine into Pancreatic B-Cells with Reference to the Mechanisms of Amino Acid-Induced Insulin Release. Biochem. Biophys. Acta. 266:436-443 (1972).
- 44- Hoshi,M. and Shreeve,W.W.: Release and Producti^on of insülin by isolated, perfused rat pancreatic islets. Diabetes, Vol.22, No 1, January 1973. ?
- 45- Howell,S.L., Hii,C.S., Shaikh,S. and Tyhurst,M.: Effects of taxol and nocodazola on insulin secretion from isolated rat islets of Langerhans. Bioscience Reports 2, 795-801,(1982).
- 46- Kaptanoğlu,Z., Hatemi,H.H., Altan,H., Urgancıoğlu,İ., Bapçum,A.: İzole Pankreas Perfüzyonu ile Kalsiyumun İnsülin Salgılanması Üzerine Olan Etkisinin İncelenmesi. Cer. Tıp Fak. Derg. 10:18-21 (1979).

- 47- Kilo,C., Devrim,S., Bailey,R., Recent,L.: Studies in vivo and in vitro of Glucose-Stimulated Insulin Release. The Effects of Metabolizable Sugars, Tolbutamide, and 2-Deoxyglucose. Diabetes. Vol.16, No 6, 377-385 (1967).
- 48- Lacy,D.: VIII.Pancreatic Secretion. Journ.R.Micr.Soc., 288-95 (1956).
- 49- Lacy,P.E.: Electron microscopic identification of different cell types in the islets of Langerhans of the guinea pig. rat, rabbit and dog. Anat. Rec., 128:2, 255-268 (1957).
- 50- Lacy,P.E.: Electron Microscopy of the Beta Cell of the Pancreas, American Journal of Medicine 31, 851-859 (1961).
- 51- Lacy,P.E. and Hartroft.W.S.: Electron Microscopy of the Islets of Langerhans. Annals of the New York Academy of Science 82:2 287-300 (1959).
- 52- Lacy,P.E. and Kostianovsky,M.: Method for the Isolation of Intact Islets of Langerhans from the Rat Pancreas. Diabetes 16:35-39 (1967).
- 53- Lacy,P.E., Young,D.A., and Fink,C.J.: Studies on insulin secretion in vitro from isolated islets of rat pancreas. Endocrinology 83:1155-61, 1968.
- 54- Lambert,A.E., Jeanrenaud,B., Junod,A. and Renold,A.E.: Organ Culture of Fetal Rat Pancreas II.Insulin Release Induced By Amino and Organic Acids, by Hormonal Peptides by Cationic Alterations of the Medium and by Other Agents. Biochem. Biophys. Acta. 184:540-553 (1969).

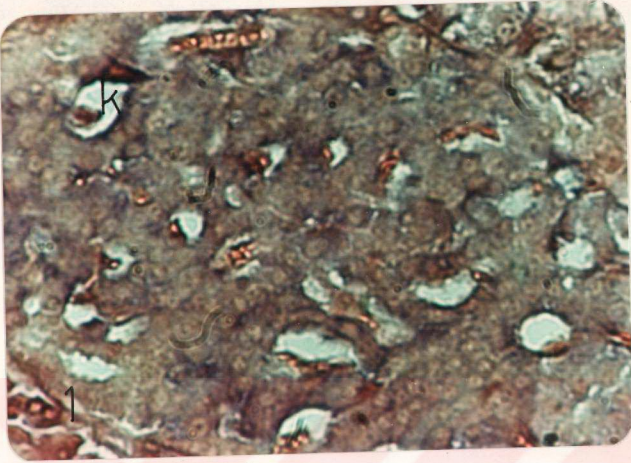
- 55- Landgraf,R., Landgraf-Leurs,M.M.C. and Hörl,R.: L-Leucine and L-Phenylalanine Induced Insulin Release and the Influence of D-Glucose. Diabetologia 10:415-420 (1974).
- 56- Lane,M.A.: The cytological characters of the areas of Langerhans. Amer. J. Anat. 7:409, 1907.
- 57- Lazarus,S.S. and Volk,B.W.: Functional and Morphologic studies on the Effect of Orinase on the Pancreas.. Endocrinology 62:3, 292-307 (1958).
- 58- Lechago,J., Greider,M.H.: Human Pancreatic Islet Cells. Ultrastructural Characteristics of Their Secretory Granules. The Journal of Cell Biology, 39:78a (1968).
- 59- Lernmark,A.: Specificity of Leucine stimulation of , insulin release. Hormones 3, 14-21 (1972).
- 60- Lernmark,A. and Hellman,B.: Effect of Epinephrine and Mannoheptulose on Early and Late Phases of Glucose-stimulated Insulin Release. Metabolism 19:614-618 (1970).
- 61- Like,A.A.: The Ultrastructure of the Secretory Cells of the Islets of Langerhans in Man. Laboratory Investigation 16:6 937-951 (1967).
- 62- Loubatières,A., Mariani,M.M., and Chapol,J.: Insulino sécrétion étudiée sur le pancreas isolé et perfusé durat. II. Action des catécholamines et des substances bloquant les recepteurs adrénergiques. Diabetologia é.533-4, 1970.
- 63- Malaisse,W.J., Carpinelli,A.R., Lebrun,P., Herchuelz,A. and Sener,A.: The Stimulus-Secretion of Amino Acid-Induced Insulin Release. European Journal of Physiology 391:112-118 (1981).

- 64- Malaisse, W., Malaisse-Lagae, F. and Wrihgt, P.H.: A New Method for the Measurement in Vitro of Pancreatic Insulin Secretion. *Endocrinology* 80: 99-108, 1967.
- 65- Malaisse, W.J., Malaisse-Lagae, F. and Brisson, G.: The Stimulus-Secretion Coupling of Glucose-Induced Insulin Release. II. Interaction of Alkali and Alkaline Earth Cations. *Horm. Metab. Res.* 3:65-70 (1971).
- 66- Malaisse, W.J., Hutton, J.C., Carpinelli, A.R., Herchvelz, A., Sezer, A.: The stimulus-secretion coupling of amino-acid-induced insulin release. I. Metabolism and cationic effects of leuane. *Diabetes* 29:431-437 (1980).
- 67- Malaisse, W.J., Sener, A., Malaisse-Lage, F., Welsh, M., Matthews, D.E., Bier, D.M. and Hellerström, C.: The Stimulus-secretion Coupling of Amino-induced Insulin Release. *The Journal of Biological Chemistry* 257:15, 8731-8737 (1982).
- 68- Malaisse-Lagae, F., Sener, A., Garcia-Morales, P., Valverde, I. and Malaisse, W.J.: The Stimulus-Secretion Coupling of Amino Acid-Induced Insulin Release. *The Journal of biological Chemistry* 257:7, 3754-3758 (1982).
- 69- Milner, R.D.G.: The stimulation of insulin release by essential amino acids from rabbit pancreas in vitro. *J. Endocr.* 47, 347-356 (1960).
- 70- Milner, R.D.G.: Stimulation of insulin secretion in vitro by essential amino acids, *Lancet* 1:1075 (1969).
- 71- Misugi, K., N.Misugi, J.Sotos and B.Smith: The Pancreatic islet infants with severe hypoglycemia. *Arch. Pathol.* 89: 208-220 (1970).

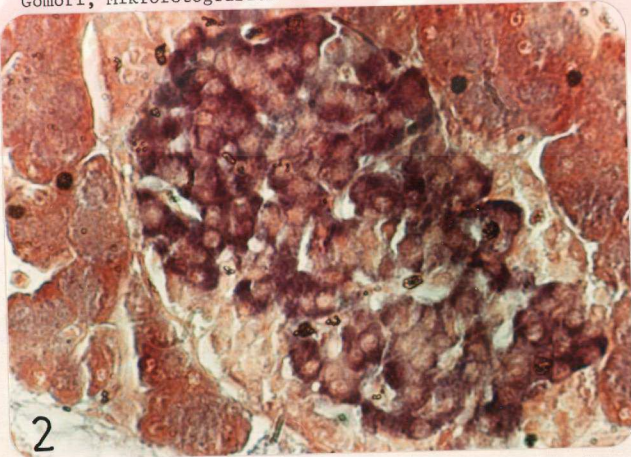
- 72- Munger, B.L.: The ultrastructural characterization of four cell types in human and other primate pancreatic islets. Anat. Rec. 166:352 (1970).
- 73- Panten, U., Christians, J., Kriesstein, E.: Studies on the mechanism of L-Leucine and alpha ketoisocaproic acid induced insulin release from perfused isolated pancreatic islets. Diabetologia (Berl) 10:2, 149-154 (1974).
- 74- Pek, S., Tai, T-Y., Elster, A., and Arhorr, A.: Stimulatory Effects of Prostaglandins E-1, E-2 and F-g Alpha on Glucagon and Insulin Release In Vitro. Diabetis 27:8, 801-809 (1978).
- 75- Rhoten, W.B.: The Cell Population in Pancreatic Islets of Amphisbaenidae - A Light and Electron Microscopic Study. Anat. Rec., 167:401-424 (1970).
- 76- Sasaki, Y., Weekes, T.E.C. and Bruce, J.B.: Effects of Glucose and Butyrate on insulin release from perfused fragment of sheep Pancreas. J.Endocr. 72, 415-416 (1977).
- 77- Sener, A., Somers, G., Devis, G. and Malaisse, W.J.: The Stimulus Secretion Coupling of Amino Acid-Induced Insulin Release. Diabetologia 21:135-142 (1981).
- 78- Schauder, P., McIntosh, C., Arends, J. and Frerichs, H.: Effect of Fasting on the Release of Insulin and Somatostatin from Perfused Islets of Langerhans. Diabetis 28, 204-207 (1979).
- 79- Schwartz, T.B., Flanagan, G.C., Stuppy, G.W. and Tarum, D.W.: The hypoglycemic effect of L-Leucine in organic hyperinsulinism, J. Lab. Clin. Med. 54:944 (1959).

- 80- Şaşmaz,O., Erbenği,T., Devrim,S., Berker,F., Alhan,M.A., Başar,M.: Tolbutamide ve L-Leucine gibi Pankreas Adacık Sistemini Stimüle Eden Maddelerle İnsanda İnsulin Sekresyon ve "Release" Proçesinin Histolojik Tetkiki. Türk Tıp Cem. Mecm. 11-31, 650-662 (1965).
- 81- Şaşmaz,O., Molvalılar,S., Devrim,S., Yaramancı-Erbengi, T., ve Alp,H.: Köpekte İzole Pankreas Perfüzyonu Tekniğı Hakkında Ön Çalışma. Tıp Fak. Mecm. 36:89-102 (1973).
- 82- Tanese,T., Lazarus,N., R.Devrim,S., and Recant,L.: Synthesis and Release of Proinsulin and Insulin by Isolated Rat Islets of Langerhans. The Journal of Clinical Investigation. Vol.49, No.7, 1394-1404 (1970).
- 83- Thiery,J.-P., et Bader,J.-P.: Ultrastructure des ilots de Langerhans du pancreas humain normal et pathologique. Ann. Endoc. (Paris) 27:5, 625-647 (1966).
- 84- Thomas,T.B.: Cellular Components of the Mammalian Islets of Langerhans. The American Journal of Anatomy 62:1 31-55 (1938).
- 85- Tomita,T.: Effect of alloxan on arsjinine and leucine induced insulin secretion in isolated islets. Fcbs-Letters (Amst). 72:1 79-82 (1976).
- 86- Tsumura,Y., Kagawa,S., Yoshida,K., Kobayashi,K. and Matsuoka,A.: Insulin Release and Efflux of (³²P) Phosphate from Islets of Rat Langerhans Treated with Iodoacetic Acid and the Anomers of D-glucose. Endocrinol. Japan. 26:6, 637-648 (1979).
- 87- Turner,D.S.: The effect of amoni acids and intestinal hormones on insulin release in vitro, Diabetologia 5:57 (1969).

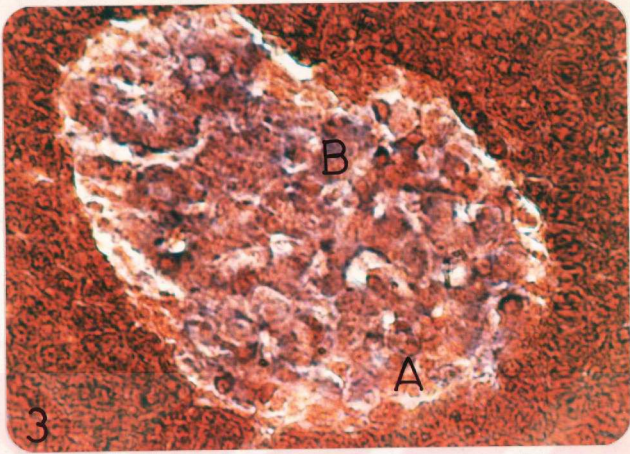
- 88- Vance,J.E., Buchanan,K.D., Challoner,D.R. and Williams,R. H.: Effect of Glucose Concentration on Insulin and Glucagon Release from Isolated Islets of Langerhans of the Rat. Diabetes, 17:187-193 (1968).
- 89- Verspohl,E.J., Handel,M., Hagenloh,I. and Ammon,H.P.T.: In vitro Effect of Exogenous insulin on insulin secretion, studies with glucose, Leucine, Arginine, Aminophylline and Tolbutamide. Acta Diabet Lat. 19, 303-317, (1982).
- 90- Weiss,L.: Histology Cell and Tissue Biology. Elsevier Biomedical New York-Amsterdam-Oxford, 1983.
- 91- Welsh,M., Hellerström,C. and Andersson,A.: Respiration and Insulin Release In Mouse Pancreatic Islets. Effects of L-Leucine and 2-Ketoisocaproate In Combination With D-Glucose and L-Glutamine. Bioc. Biophy. Acta. 721:178-184 (1982).



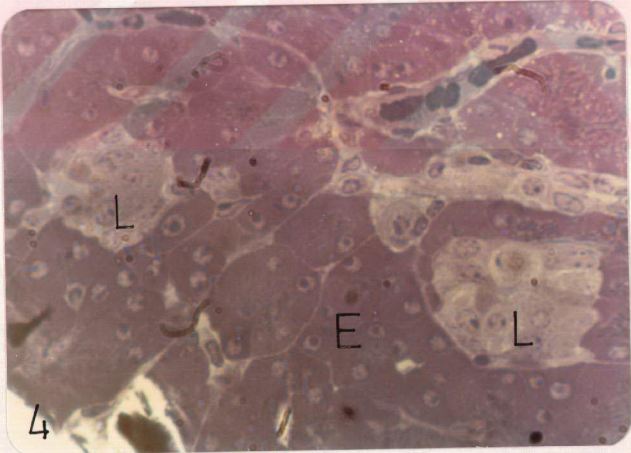
Resim 1- % 200 mg Glukozla yapılan perifüzyonlu sıçana ait pankreastaki Langerhans adacığı izlenmekte. Kapilerler (k), kontrole oranla daha geniş lümenli olarak görülmekte. Boyası: Aldehyd-Fuchsin Gomori, Mikrofotografi:X 380.



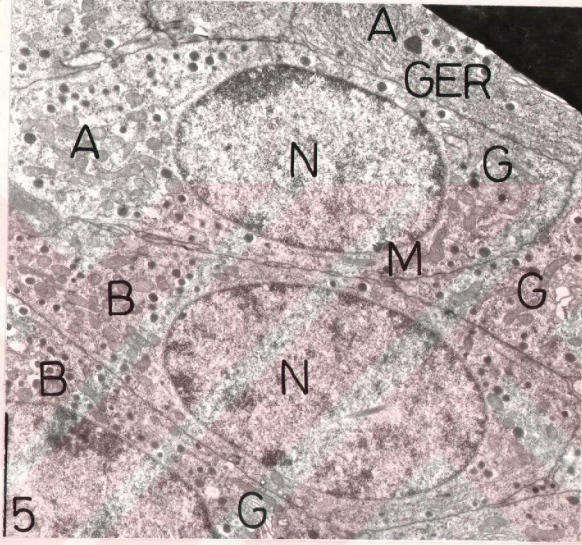
Resim 2- % 200 mg Glukozperifüzyonlu sıçanın adacık hücrelerinden B-hücreleri viyoleto renkte ayırt edilmekte. Boyası: Aldehyd-Fuchsin Gomori, Mikrofotografi:X 240.



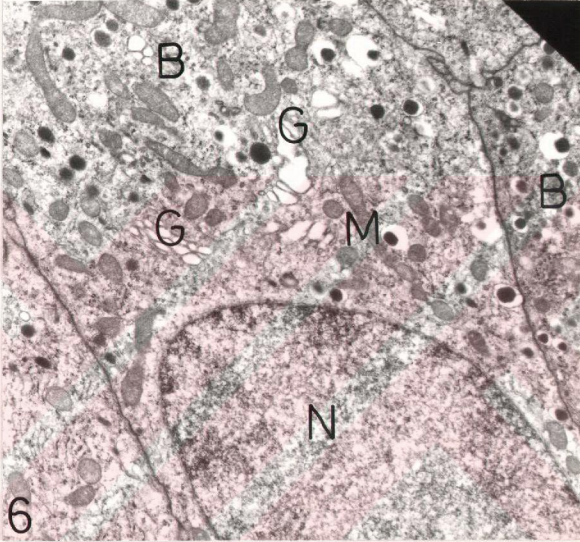
Resim 3- Kontrol grubuna ait perifüzyon öncesi sıçan Langerhans adacığı görülmekte. Adacık içerisinde Kırmızı renkli A-hücreleri (A) ile viyoleto renkli B-hücreleri (B) seçilmektedir. Boyası: Aldehyde-Fuchsin Gomori. Mikrofotografi: X 125.



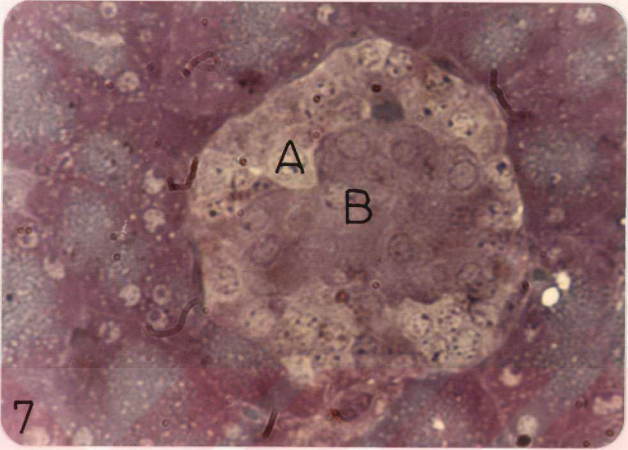
Resim 4- Perifüzyon öncesi, sıçandan alınan pankreas biyopsisinin elektron-mikroskobu bloklarından hazırlanan kalın kesitlerinde Langerhans adacığı (L) ve ekzokrin parenkimin (E) normal yapısı görülmekte. Boyası: Toluidin mavisi. Mikrofotografi: X 245.



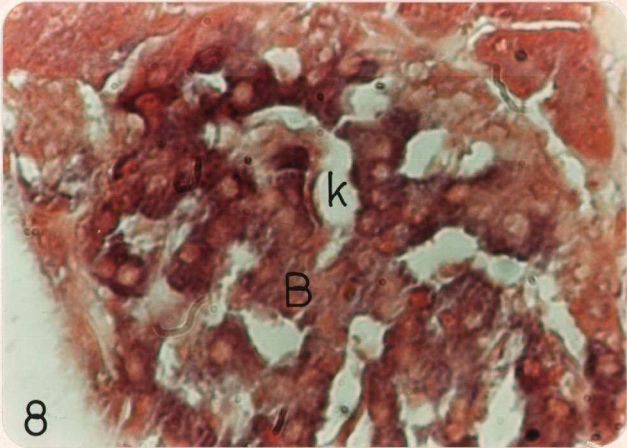
Resim 5- Perifüzyon öncesi sıçandan alınan pankreas biyopsisinin elektronmikrografında tipik granülleri ile A ve B hücreleri izlenmektedir. N: Nukleus; M: Mitokondrion; G: Golgi kompleksi, GER: Granüler endoplazmik retikulum. Elektronmikrofotografi: X 11.000.



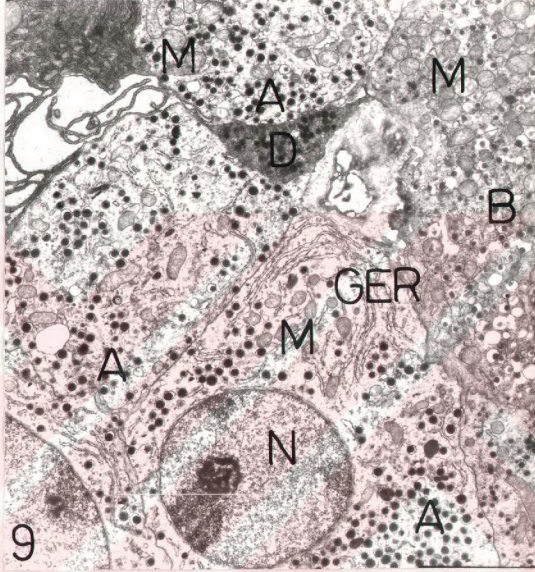
Resim 6- Perifüzyon öncesi kontrol sıçan pankreas adacığında B hücrelerinin sitoplazmik organelleri, özellikle uzamış krista tipli mitokondrion (M) ve aktif Golgi kompleksi (G) ile dikkati çekmekte. Elektronmikrofotografi: X 19.000.



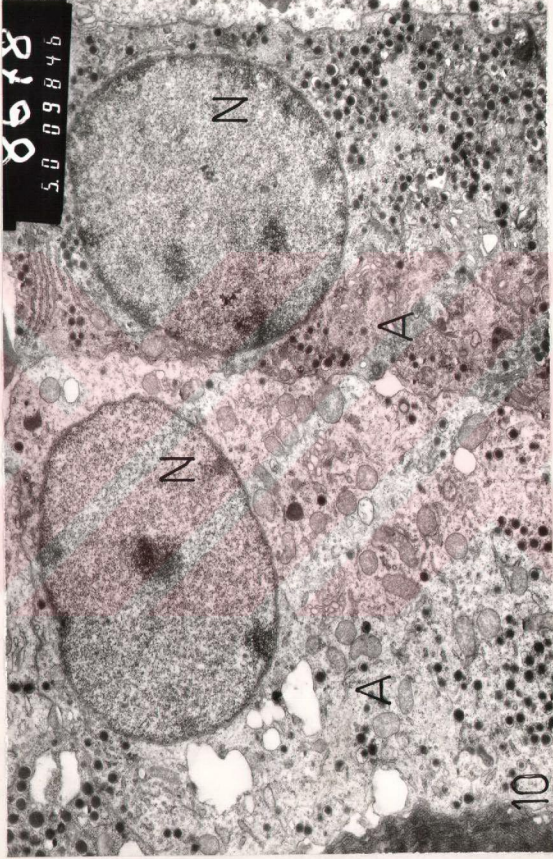
Resim 7- L-Leucine ile yapılan perifüzyonun 27. dakikasında pankreasın elektronmikroskopik kalın kesitlerinden hazırlanmış preparatta ekzokrin parenkim içinde yer almış Langerhans adacığı görülmekte. Adacık hücrelerinden aydınlık olarak seçilen A hücreleri periferde, koyu olarak ayırtedilen B hücreleri ise merkezi olarak dikkati çekmekte. Boyası: Toluidin mavisi. Mikrofotografi: X 225.



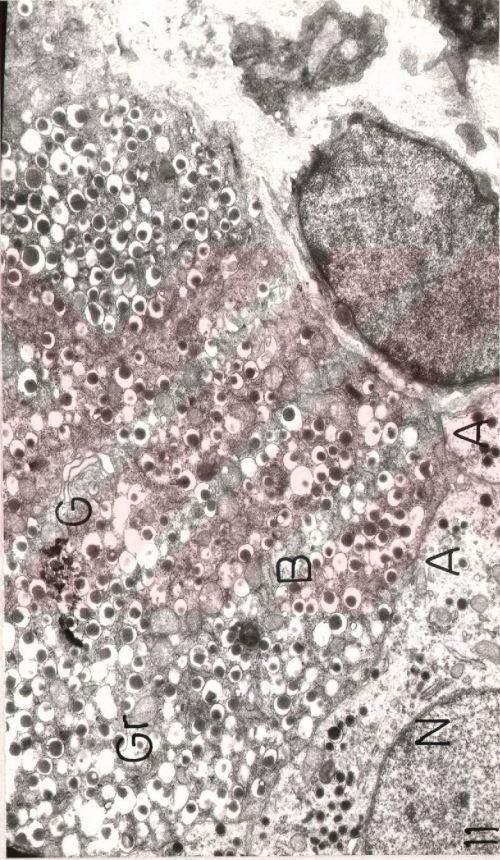
Resim 8- L-Leucine ile yapılan perifüzyonun son aşaması olan 40. dakikada Langerhans adacığına ait viyolet boyanmış B-hücreleri görülmekte. Geniş lümenli kapilerler de (k) bu arada gözlenmekte. Boyası: Aldehide-Fuchsin Gomori. Mikrofotografi: X 250.



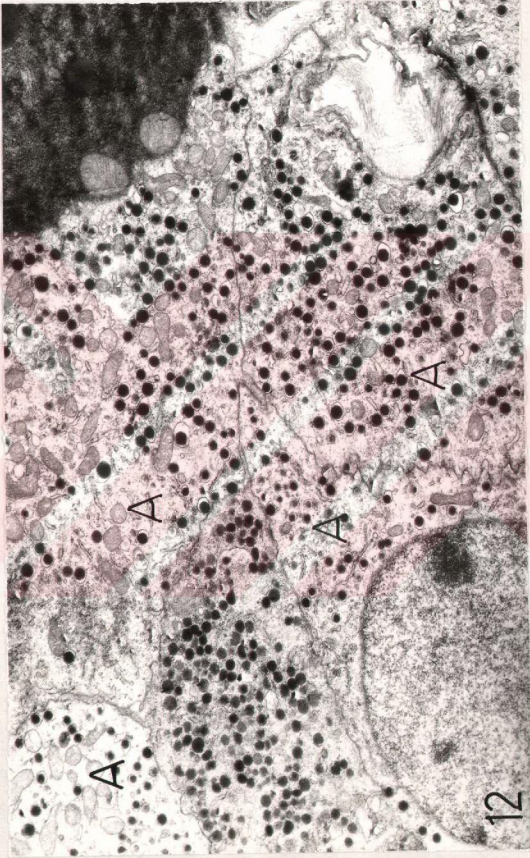
Resim 9- L-Leucine ile perifüzyona tabi tutulmuş sıçan pankreasının adacık organındaki A, B ve D hücrelerinin perifüzyonun 27. dakikasındaki elektronmikroskopik görünümü. Bu hücrelerde hiperaktivite görülmektedir. N: Nukleus; M: Mitokondrion; GER: Granuler endoplazmik retikulum. Elektronmikrofotografi: X 11.000.



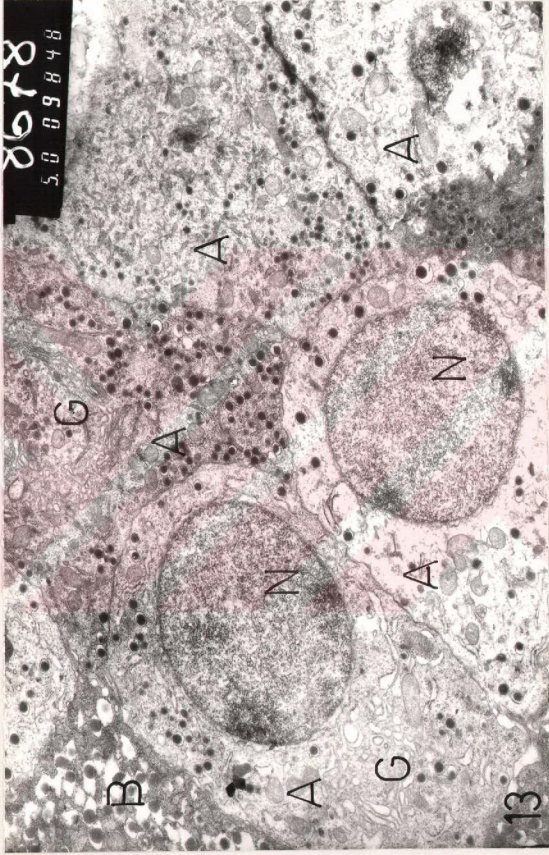
Resim 10- L-Leucine perfüzyonunda (Dakika 27) adacık hücrelerinden A hücrelerinin aydınlak (Clear) ve koyu (Dark) hücreler olarak ayırt edildiği dikkati çekmekte. Elektromikrofotografi: X 11.000.



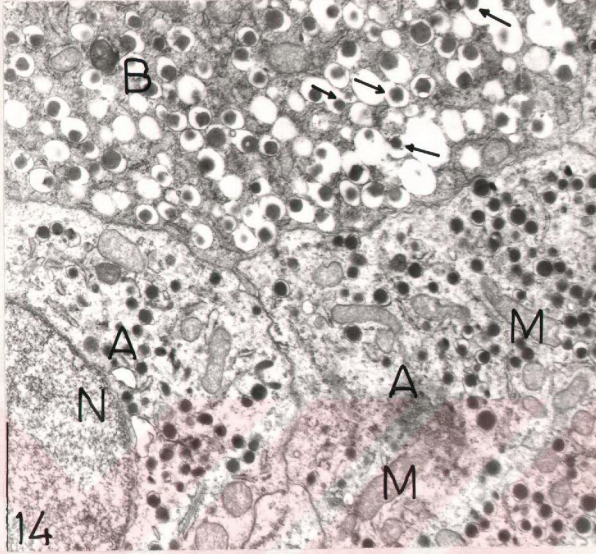
Resim 11- L-Leucine tabi tutulmuş adacığın 27. dakikasına ait başka bir elektronmikrofotografında aydınlak A hücreleri ve granüllerle (Gr) dolu aktif B hücresi görülmektedir. N: Nukleus; G: Golgi kompleksi. Elektronmikrofotografi: X 11.000.



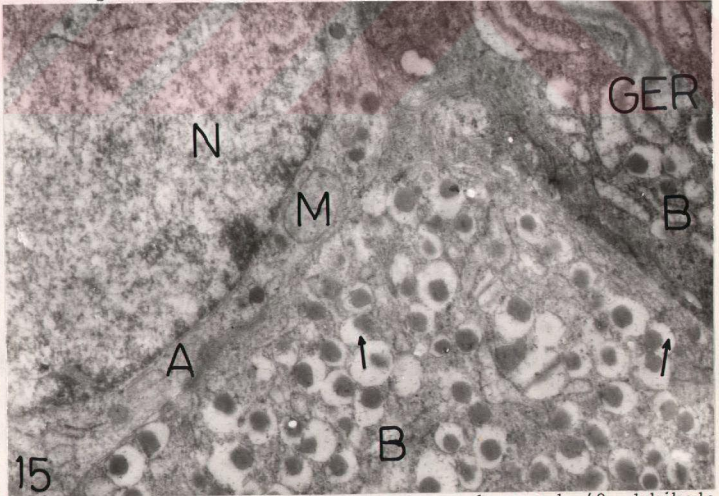
Resim 12- L-Leucine ile yapılmış perfüzyonun 27. dakikasinda A hücreleri yoğun granül artışı ile gözlenmektedir. Elektromikrofotografi: X 11.000.



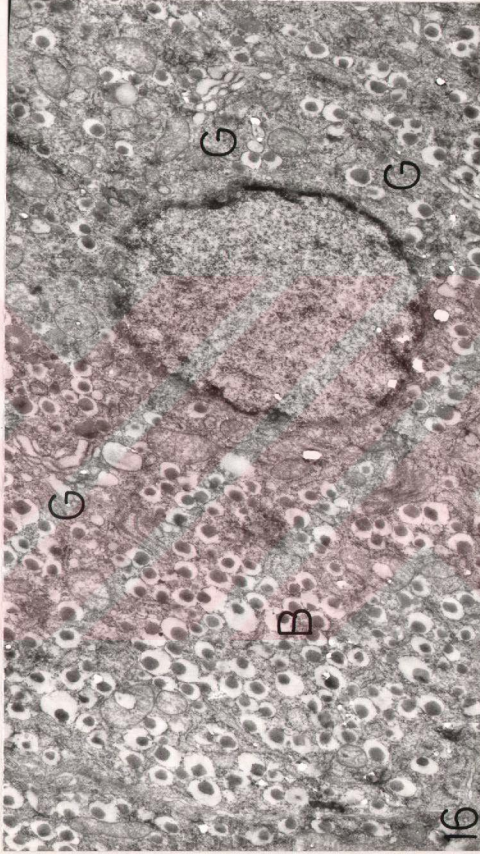
Resim 13- L-Leucine perifüzyonu uygulanmış (27') sıçan pankreasının adacık hücrelerinden aydınlık ve karanlık görülen A hücreleri ve B hücresi izlenmekte. Aydınlık hücrelerde daha az sayıda salgı granülleri görülmesine karşın koyu hücrelerde ise bu granüllerin daha zengin olduğu tesbit edilmekte. Elektronmikrofotoğrafi: X 11.000.



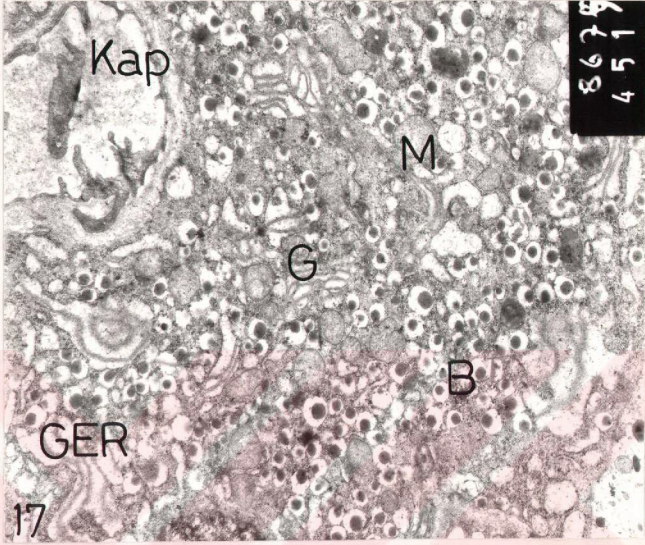
Resim 14- L-Leucine (27') tabi tutulmuş adacık A hücreleri ve B hücresi gözlenmekte. B hücresinin granüllerine ait membranlarda kaynaşma dikkati çekmekte. N: Nukleus; M: Mitokondrion. Elektronmikrofotografi: X 19.000.



Resim 15- L-Leucine perfüzyonu uygulanmış sıçan pankreasında 40. dakikada adacık hücrelerinden A ve B hücreleri görülmekte. B hücrelerinde de granüllerde membran kaynaşması tesbit edilmekte. (→) N: Nukleus; GER: Granüler endoplazmik retikulum; M: Mitokondrion. Elektronmikrofotografi: X 19.000.



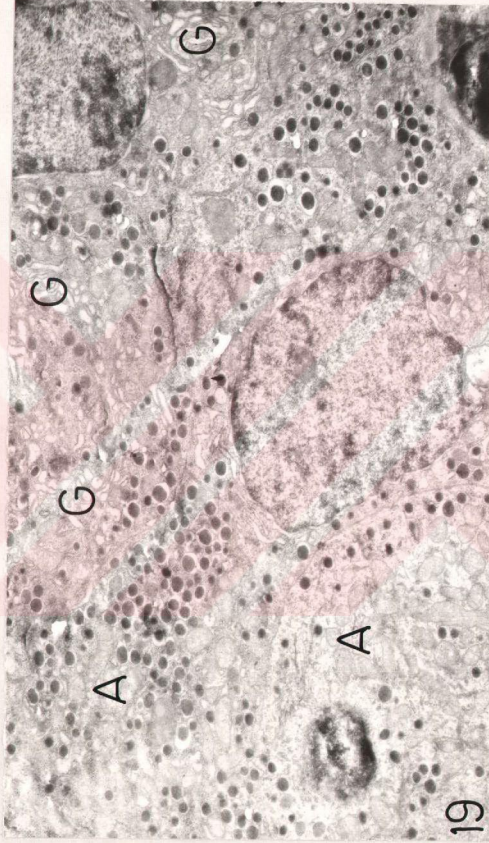
Resim 16- 40. dakika L-Leucine ile perifüzyona tabi tutulmuş Langerhans adacığında aktif Golgi kompleksleri (G) ile bir B hücresi görülmekte. N: Nukleus; M: Mitokondrion. Elektronmikrofotografi: X 14.500.



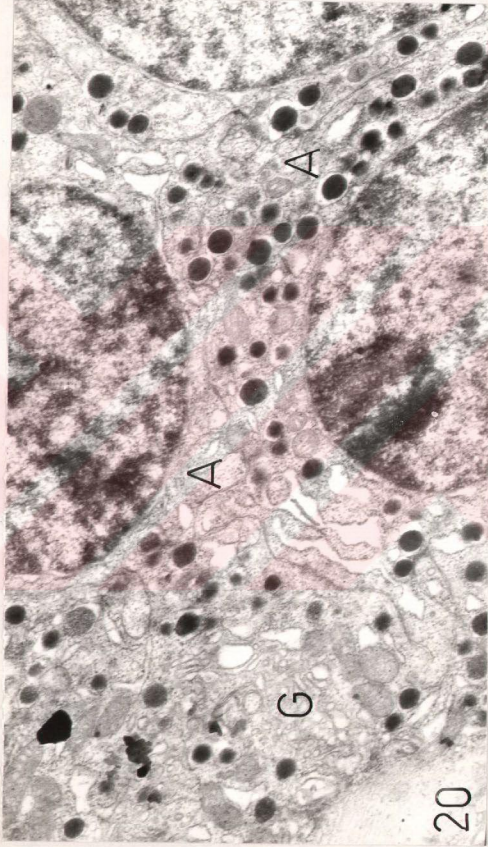
Resim 17- L-Leucine perfüzyonu uygulanmış sıçan pankreasında 40. dakikada adacık hücrelerinden B hücresi kapilere (Kap) komşu olarak gözlenmekte. G: Golgi kompleksi, M: Mitokondrion, GER: Granüler endoplazmik retikulum. Elektronmikrofotografi: X 19.000.



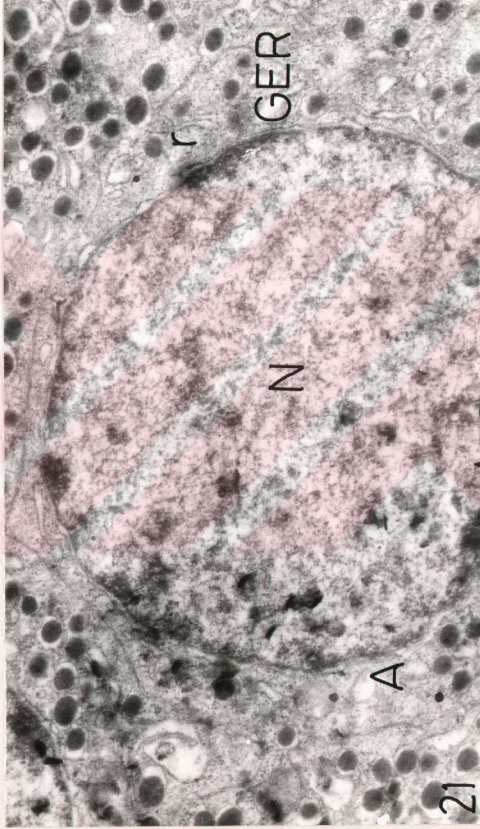
Resim 18- Glukagon ile yapılan perfüzyonun 40. dakikasından alınan pankreasın Ekzokrin parenkiması (E) ve Endokrin parenkiması (Langerhans adacığı-L) görülmekte. Boyası: Aldehyd Fuchsin Gomori. Mikrofotografi: X 155.



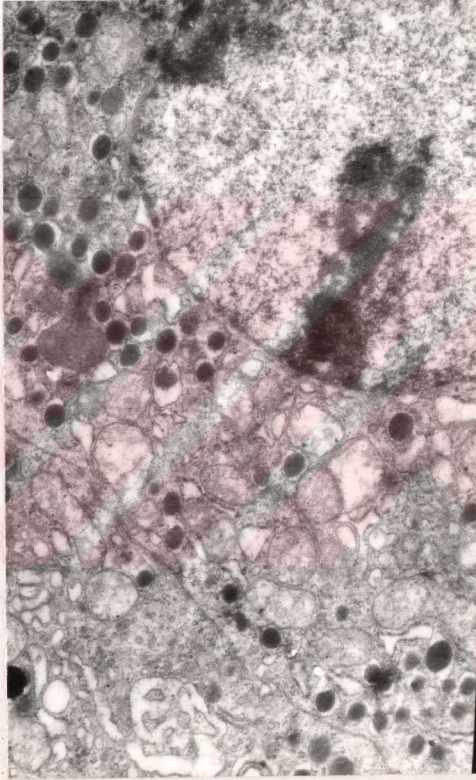
Resim 19- Glukagon ile perifüzyona tabi tutulmuş sıçan pankreasının adacık A hücrelerinin zengin granüllerle dolu olduğu gözlenmekte (40 $\times$). Bu arada hücrelerin aktif Golgi kompleksleri (G) dikkati çekmekte. Elektronmikrofotoğrafı: X 11.000.



Resim 20- Glukagon perifüzyonu uygulanmış (40') sıçan pankreasında Langerhans adacığının zengin granülleri ile A hücreleri görülmekte. N: Nukleus; G: Golgi kompleksi. Elektronmikrofotoğrafi: X 18.500.



Resim 21- Glukagon kullanılan perifüzyonun 40. dakikasında A hücreci görülmekte. N: Nukleus, GER: Granüler endoplazmik retikulum; r: ribozom. Elektronmikrofotoğrafi: X 22.000.



Resim 22- 40. dakikada yapılan Glukagon perifüzyonlu sıçan adacık hücrelerinden A hücrelerinde aktif Golgi kompleksleri (G), genişlemiş Endoplazmik retikulum sisternaları (ER) gözlenmekte. Elektromikrofotografi: X 22.000.

Ö Z G E Ç M İ Ş İ M

1953 yılında Fevzipaşa'da (GAZİANTEP) doğdum. İlk, Orta ve Lise öğrenimimi Mersin'de tamamlayarak 1976 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Zoolji-Botanik bölümünden mezun oldum. 1977-1978 döneminde İstanbul'da Kasımpaşa Lisesinde Biyoloji öğretmenliği yaptım ve asaletim onaylandıktan sonra 1978 yılında İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi (es-
ki) Tıp Öncesi Bölümüne Araştırma Laborantı olarak girdim. Yedek Subay olarak askerlik görevimi tamamladıktan sonra eski Tıp Öncesi Bölümündeki görevime tekrar başladım. 1981 yılında Asistan oldum ve Histoloji ve Embryoloji Bilim Dalı'nda "Pankreas Adacık Sisteminde Deneysel İncelemeler" konulu doktora çalışmasına başladım.

Halen İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji ve Embryoloji Bilim Dalı'nda görevime devam etmekteyim.

Evliyim ve bir kızım var.

