

DİYABETİK VE BENFLUOREKS-C VİTAMİNİ UYGULAMALI SIÇAN DERMİSİNDEKİ ELASTİK LİF VE FİBROBLAST DEĞİŞİMLERİNİN MİKROSKOBİK İNCELENMESİ

Seda Mehtap SARI KILIÇASLAN^{*}, Cevat AYVALI^{**}, Bilge GÖNÜL^{***},
Çiğdem ÖZER^{***}

^{*} Anadolu Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Eskişehir

^{**} Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

^{***} Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara
e-mail: smskilicaslan@anadolu.edu.tr

Alınış: 18 Aralık 2008, Kabul: 16 Şubat 2009

Özet: Bu çalışma streptozotosin diyabetik ve benfluoreks–C vitamini tedavisi uygulanmış diyabetli derinin dermisindeki elastik lif ve fibroblastlarda meydana gelen değişimleri incelemektedir. Işık ve elektron mikroskobu incelemelerinde diyabet grubunda dermis kalınlaşması, elastik liflerde yoğunlaşmalar ve fibroblastlarda ise piknotik çekirdek ve dilate olmuş endoplazmik retikulumlar belirlenmiştir. Benfluoreks-C vitamini uygulamalı grupta ise diyabet grubunda gözlemlenen dejenerasyonlara rastlanmamış ve aktif fibroblastlar gözlenmiştir. Bu bulgular diyabetik deride benfluoreks-C vitamini uygulamasının elastik lifler ve fibroblast üzerine olumlu etkisi olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Diyabet, benfluoreks, C vitamini, dermis, elektron mikroskop

A MICROSCOPIC STUDY OF THE CHANGES IN ELASTIC FIBRES AND FIBROBLASTS IN DERMIS OF DIABETIC AND BENFLUOREX-VITAMIN C TREATED RATS

Abstract: This study analyses changes in elastic fibres and fibroblasts in dermis of diabetic and benfluorex-vitamin C treated diabetic rats. Light and electron microscopy examinations revealed thickening of dermis and elastic fibres, pyknotic nucleus and swelling of endoplasmic reticulum in fibroblasts in streptozotocin diabetic rats. Among Benfluorex-C treated group, no degeneration of elastic fibres and thickening of dermis were determined. Moreover, active fibroblasts were observed in the treated group. These findings indicate the positive effect of Benfluorex and vitamin-C use in treatment of diabetic dermis.

Key words: Diabetes, benfluorex, vitamin C, dermis, electron microscope

GİRİŞ

Diabetes mellitus pankreasın Langerhans adacıklarının β hücrelerinden insülin salınışı, insülin hormonu duyarlılığı veya her ikisindeki defektler sonucu oluşan kronik hiperglisemi ile karakterize edilen metabolik bir hastalıktır (EISELEIN vd. 2004). Bu hastalıkta karbohidrat, yağ ve protein metabolizmasında anormallikler görülmektedir (CONGET 2002). Anormalliklerin temeli organlarda insülin hareketindeki kusurlar, insülin salgılanmasında yetersizlik veya insüline verilen cevaptaki azalmadır (ADA 2006). Diyabette glukogenolizis ve glukoneogenez yolları ile glukozun karaciğerde üretimi artmakta, kas ve yağ doku gibi perifer dokular tarafından glukozun alınması azalmaktadır. Yağ metabolizması bozulmakta ve yağ asidi oksidasyonu hiperlipidemi ve ketosize neden olmaktadır (EISELEIN vd. 2004).

Diabetes mellitus'un komplikasyonları özellikle gözler, böbrek, deri, sinir sistemi ve kan damarlarında görülmektedir (MAHAJAN vd. 2003). Diyabetin erken döneminde meydana gelen deri hastalıkları; hastalığın seyri, süresi ve sonuçlarını tahmin etmekte büyük öneme sahiptir. Diyabetli hastalarda, dermatolojik hastalıkların görülme nedeni henüz tam olarak açıklanamamış olmakla beraber (DURAN vd. 2001), diyabetli hastaların büyük bir kısmında deri lezyonları görülmektedir. Bu lezyonlar bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara ya da diğer deri hastalıklarına bağlı olabildiği gibi, doğrudan diyabetin komplikasyonlarına bağlı olarak da ortaya çıkabilmektedir (PEREZ & KOHN 1994). Diyabetli hastaların derilerinde sıklıkla yaralar meydana gelmekte ve bu yaralar geç iyileşmektedir. Glukoz, fibroblast ve polimorfonükleer (PMN) hücrelerin faaliyetleri için enerji kaynağıdır. Diyabette glukoz metabolizmasındaki değişimler fibroblastik ve PMN hücrelerin aktivitesinde azalmaya neden olmaktadır. Hücrelerin görevlerini tam olarak yerine getirememeleri nedeni ile diyabetli hastalarda yara iyileşmesi gecikmektedir (EKMEKTZOGLOU & ZOGRAFOS 2006). Diyabet hastalarının enfeksiyon hastalıklar için de fazla risk taşıdıklarına inanılır. Bu risk diyabet hastalığı tam olarak kontrol edilmediği zaman daha fazladır. Çünkü hiperglisemi durumunda savunma hücreleri olan akyuvarların fonksiyonlarında bozulmalar gözlenmektedir (ROMANO vd. 1998). Bu nedenlerle diyabetli deri ile ilgili çalışmalar bilim adamlarının her zaman ilgi odağı olmuştur.

Son zamanlardaki bulgular, Diabetes mellitus'ta antioksidan savunma enzim ve vitaminlerindeki eksikliklerle birlikte artmış oksidatif hasar olduğunu göstermektedir. Serbest radikaller, diyabetin nedeni olarak düşünülmektedir (WEST 2000). Antioksidanlar, radikal hasara karşı organizmayı korumaktadır. En önemli antioksidanlardan biri ise plazmada bulunan C vitamindir (CERIELLO vd. 1998).

Diyabeti kontrol altına almak amacıyla deneysel olarak araştırılan Benfluoreks'in (1-3-(triflorometilfenil)-2-(2-benzoiloksietil) aminopropan hidroklorid) antihiperglisemik ve hipolipidemik etkisi diyabetik hayvan modellerinde ve insanlarda gösterilmiştir. Benfluoreks, antihiperglisemik etkisiyle karaciğerde glukoneogenezisi düşürürürken, karaciğer ve iskelet kasında glukoz yararlılığını artırır. Bu ilacın lipit düşürücü etkisi sterol ve trigliserit sentezi ile karaciğerde lipogenez inhibisyonuyla meydana gelmektedir (KOHL vd. 2002).

Diyabetin deri üzerine etkilerini inceleyen çeşitli çalışmaların varlığına rağmen bu konu ile ilgili tartışmalar halen sürmektedir. Bu çalışmanın amacı diyabette daha da önemlisi benfluoreks-C vitamini tedavi uygulamasının diyabetik dermiste elastik lifler ve fibroblastlar üzerine olan etkilerini açığa çıkarmak ve diyabette bu ikili tedavi uygulamasının klinikte kullanımına katkı sağlamaktır.

MATERYAL ve METOT

Deney Hayvanları

Çalışmada 200 ± 20 gr arasında değişen 21 adet erişkin Wistar-albino tipi erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanların her biri kendi kafesinde 14 saat aydınlık 10 saat karanlık siklusunda, 24 ± 2 °C ortamda, standart sıçan yemi ve musluk suyu ile serbest olarak beslenmişlerdir. Sıçanlar eşit olarak kontrol, diyabet ve benfluoreks- C vitamini tedavisi uygulanan diyabet olmak üzere üç gruba ayrılarak çalışılmıştır.

Kontrol grubu hayvanlara, 21 gün süreyle günde bir kez intragastrik (i.g) gavaj uygulaması ile tedavi amacıyla kullanılan maddelerinin hacmi ile eşit miktarda musluk suyu verilmiştir. Diyabet grubu hayvanlar, çalışmanın ilk gününde 18 saat önceden aç bırakılıp, kuyruk veninden kan alınarak açlık kan şekerleri (AKŞ) ölçülmüştür. Deneysel diyabet oluşturmak için 0.1 Molar (pH: 4.5) sitrat tamponunun 1 ml'sinde çözünen 45mg/kg Streptozotosin (STZ) (Serva 35503) tek dozda intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir (BOR vd. 2000, HEIDARİ vd. 2003, MYTHILI vd. 2004). STZ uygulamasından 48 saat sonra 18 saat önceden aç bırakılan sıçanların AKŞ düzeyleri ölçülüp, AKŞ'leri 200mg/dl' nin üstünde olanlar diyabet kabul edilmiştir. Diyabet grubu sıçanlara 21 günlük deney süresince günde bir kez i.g gavaj uygulaması ile tedavi amacıyla kullanılan maddelerinin hacmi kadar musluk suyu verilmiştir. Benfluoreks-C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubundaki hayvanlar ise, öncelikle diyabet grubundaki gibi diyabet oluşturulduktan sonra tedavi olarak musluk suyunda çözünen 50 mg/kg dozda benfluoreks (Sigma B-7522) (BRINDLEY vd. 1988, SERRADAS vd. 1993) ve 20 mg/kg C vitamini (MCLENNAN vd. 1988) i.g olarak gavaj uygulamasıyla 21 gün süreyle tek doz verilmiştir. 22 günlük uygulamanın sonunda, AKŞ'leri ölçülen deney hayvanları anestezi altında disekte edilerek bacak ince derisinden örnekler alınmıştır.

Doku Preperasyon İşlemleri ve Mikroskop Çalışmaları

Işık mikroskobu için örnek hazırlanması: Alınan bacak derisi örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edilmiştir. Yıkama işleminden sonra alkol serilerinden geçirilerek materyalin suyu alınmıştır. Daha sonra alkol-ksilol serilerinden geçirilerek saf ksilole alınarak parafine doyum işlemi yapılmış ve parafin bloklar hazırlanmıştır. Deney gruplarına ait parafin bloklardan alınan kesitler, Masson'un trikrom ve Verhoff'un elastik lif boyamaları yapılarak ışık mikroskobunda incelemeler yapılmıştır (CULLING vd. 1985)

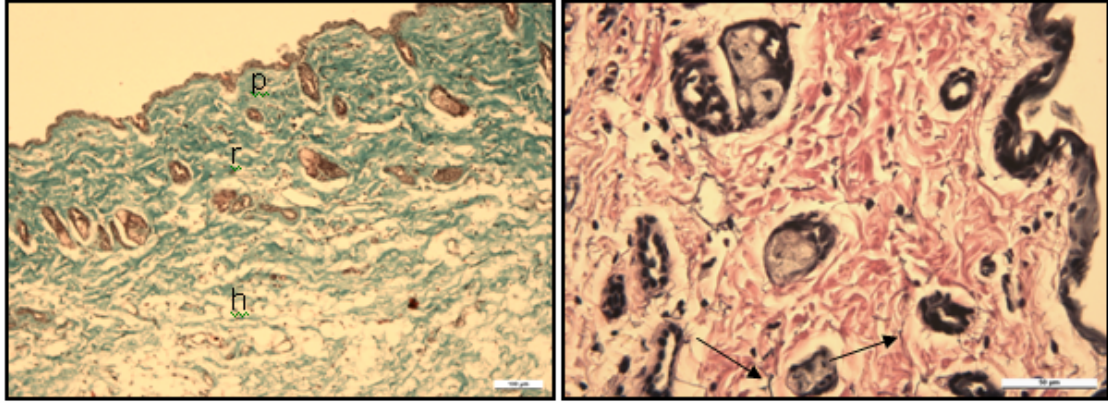
Elektron mikroskobu için örnek hazırlanması: Alınan deri örnekleri yaklaşık 1mm^3 büyüklükte kesilerek tamponda yıkandıktan sonra %2,5'lük Gluteraldehitte birinci ve %1'lik OsO_4 ile ikinci tespit yapıldıktan sonra yükselen etanol serilerinden geçirilerek dehidre edilmiştir. Dehidrasyondan sonra propilen oksit ile gömme ortamına geçiş

yapılarak, örnekler araldit gömme ortamına gömülerek bloklar hazırlanmıştır. Hazırlanan araldit bloklardan grid üzerine alınan ince kesitler uranil asetat-kurşun sitrat boyası ile boyanmıştır. Bu şekilde hazırlanan kesitler transmisyon elektron mikroskopta (TEM: JEOL 100 CX-II) incelenerek elektron mikrografları çekilmiştir.

BULGULAR

Işık Mikroskop Gözlemleri

Kontrol grubu: Deri, çok tabakalı keratinli yassı epitelden oluşan epidermis ve epidermin altında bağ dokudan meydana gelen dermis tabakalarından oluşmaktadır. Dermis tabakası incelendiğinde epidermis ve dermin birleşme yerlerinin düzensiz olduğu, dermin epidermis içine doğru çıkıntılar yaptığı papillalar ve bağ dokunun daha gevşek olduğu papiller tabaka gözlenmiştir. Dermis bölgesinde papiller tabakanın altında daha sıkı bağ dokudan oluşan, retiküler tabaka ve bu tabakanın hemen altında derinin bir bölgesi olarak kabul edilmeyen hipodermis tabakası bulunmaktadır (Şekil 3.1). Verhoff'un elastik lif boyamasıyla dermiste elastik lifler belirlenmiştir (Şekil 3.2).

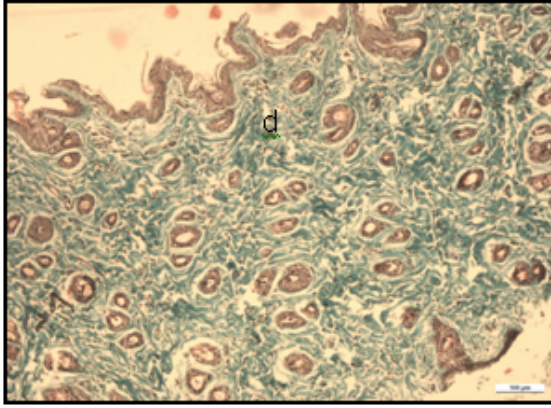


Şekil 3.1 Kontrol grubunda stratum papillare (p), stratum retikulare (r) ve hipodermis (h). Bar:100 µm. (Masson'un trikrom boyası)

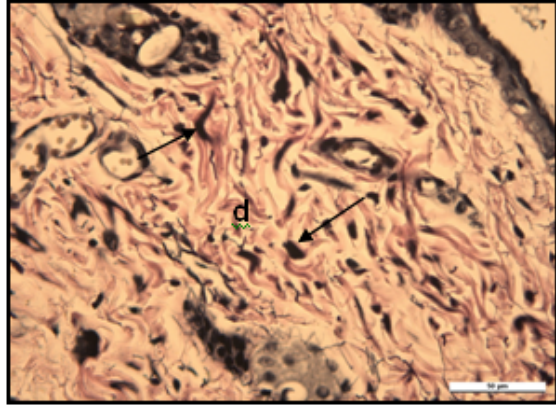
Şekil 3.2 Kontrol grubunda dermiste elastik lifler (→). Bar: 50 µm. (Verhoff'un elastik lif boyası)

Diyabet grubu: STZ ile diyabet oluşturulmuş grup deri örnekleri ışık mikroskobunda incelenmiştir. Gözlem sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, diyabet grubunda bazı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Diyabet grubu dermis bölgesinin kontrol grubuna göre daha kalın olduğu dikkati çekmiştir (Şekil 3.3). Kontrol ve diyabet grupları arasında dermis bölgesinde yer alan elastik lifler bakımından da farklılıklar bulunmuştur. Gözlemler diyabet grubunda elastik liflerin, kontrol grubuna göre yoğunlaştığını ve elastik lif birikimi olduğunu göstermiştir (Şekil 3.4).

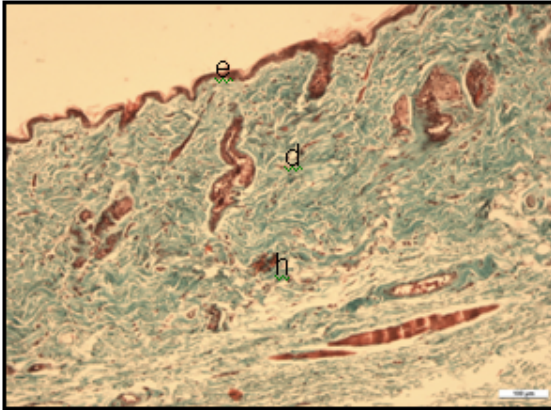
Benfluoreks–C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubu: Benfluoreks–C vitamini tedavisi uygulanan diyabetik deride ışık mikroskobu incelemeleri sonucunda derinin dermis yapısının kontrol grubuna benzer yapıda olduğu, diyabet grubundaki gibi dermis kalınlaşmasının olmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.5). Tedavi uygulanan diyabet grubu elastik lif bakımından değerlendirildiğinde, diyabet grubunda gözlendiği gibi elastik lif birikimi olmadığı ve daha çok kontrol grubuna yakın olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.6).



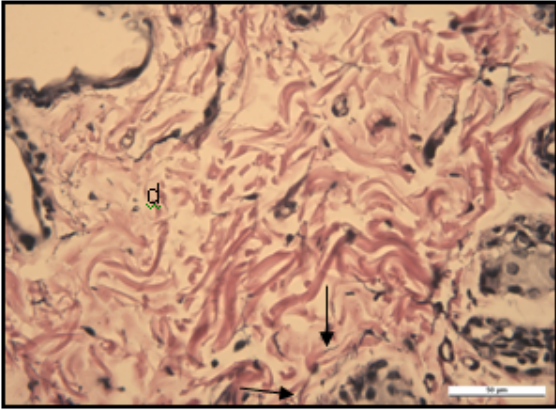
Şekil 3.3 Diyabet grubunda dermis (d) kalınlaşması. Bar: 100µm. (Masson' un trikrom boyası)



Şekil 3.4 Diyabet grubu derisinde (d) elastik liflerde yoğunlaşma ve elastik lif birikimi (→). Bar: 50 µm. (Verhoff' un elastik lif boyası)



Şekil 3.5 Benfluoreks–C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubunda düzgün görümlü epidermis (e), dermis (d) ve hipodermis (h). Bar: 100µm. (Masson'un trikrom boyası)

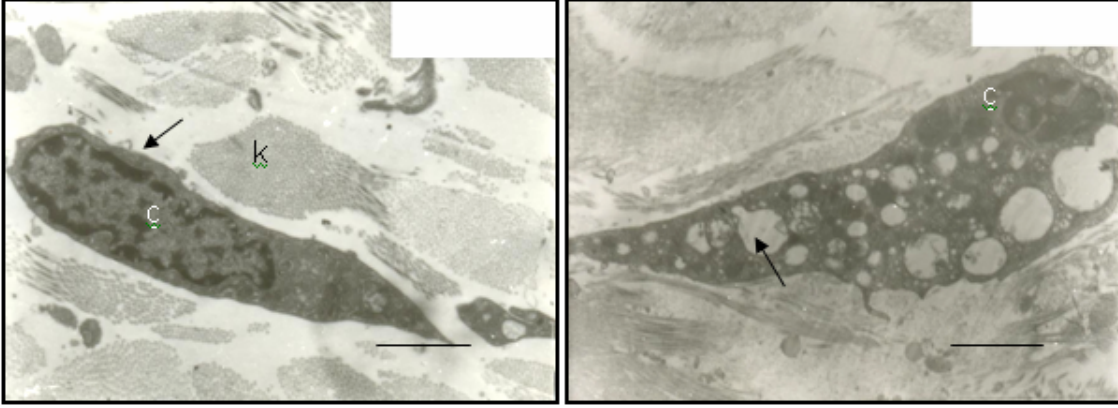


Şekil 3.6 Benfluoreks–C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubunda dermiste (d) normal görümlü elastik lif (→) Bar: 50 µm. (Verhoff'un elastik lif boyası).

Elektron Mikroskop Gözlemleri

Kontrol grubu: Fibroblastlar ince uzun yapı halinde normal görünümlü kollajen lif demetleri arasına yerleşmiştir. Fibroblast çekirdekleri ise hücre şekline uygun olarak yerleşmiştir (Şekil 3.7).

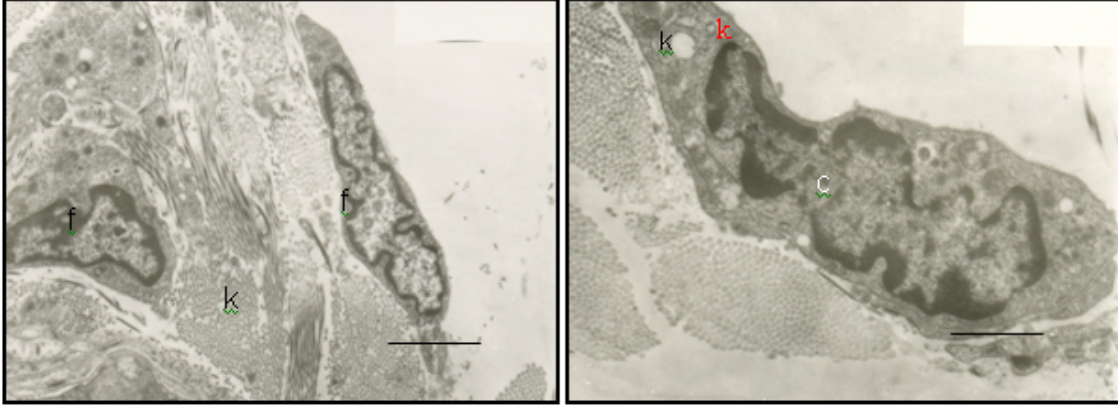
Diyabet grubu: Bu grup fibroblastta, çekirdek yapısının bozulduğu piknotik bir hal aldığı ve sitoplazmada yer alan endoplazmik retikulumun aşırı dilatasyonu sonucu yapısının bozulduğu ve şişme dejenerasyonunun meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.7 Kontrol grubu dermisde yoğun kollajen lifler (k) arasında fibroblast (→) ve hücrenin çekirdeği (ç) Bar: 1.85µm (uranil asetat-kurşun sitrat boyası)

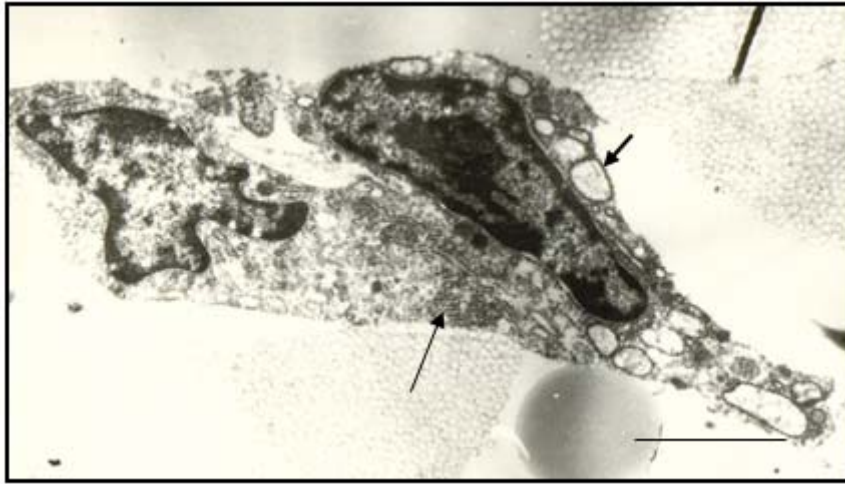
Şekil 3.8 Diyabet grubu dermisinde fibroblastta endoplazmik retikulumların şişme dejenerasyonu (→) ve piknotik çekirdek (ç) Bar: 1.85 µm (uranil asetat-kurşun sitrat boyası)

Benfluoreks-C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubu: Fibroblastlar yoğun ve normal kollajen lif demetleri arasına yerleşmiştir. Fibroblast çekirdeğinin ise kontrol grubundaki gibi, hücrenin şekline uygun olarak yerleştiği gözlenmiştir (Şekil 3.9). Ayrıca bazı fibroblastların sitoplazmasında küçük kesecikler belirlenmiştir (Şekil 3.10). Tedavi uygulanan diyabet grubunda fibroblastlardaki dikkati çeken diğer bir bulgu ise fibroblastlar arasındaki etkileşimdir. İkili gruplar halinde fibroblastlara rastlanmıştır. Yan yana gelen fibroblastların karşılıklı yüzeylerinin birbirine değdiği, sitoplazmalarında bol miktarda genişlemiş granüllü endoplazmik retikulumların olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.9 Benfluoreks-C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubunda yoğun kollajen lif (k) demetleri arasında fibroblastlar (f) Bar: 1.85 μ m (uranil asetat-kurşun sitrat boyası)

Şekil 3.10 Benfluoreks-C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubunda fibroblast sitoplazması içinde kesecikler (k) ve çekirdek (ç), Bar: 1.33 μ m (uranil asetat-kurşun sitrat boyası)



Şekil 3.11 Benfluoreks-C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubu dermisinde ikili fibroblastlar. Yan yana gelmiş iki fibroblastın birbirine değdiği kısımlarda çok sayıda granüllü endoplazmik retikulum (uzun ok) ve sisternası genişlemiş endoplazmik retikulum (kısa ok) Bar: 2.8 μ m (uranil asetat-kurşun sitrat boyası)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Diyabet hastalarının büyük bir kısmında deri lezyonları ve yara iyileşmesinde gecikmeler gözlenmektedir. Bu nedenle bu çalışmada diyabet oluşturulmuş sıçan dermisindeki elastik lif ve fibroblastlarda meydana gelen değişimler incelenmiştir. Ayrıca uygulanan benfluoreks-C vitamini tedavi uygulamasının diyabetik dermis üzerine ne derecede etkili olabileceği ışık ve elektron mikroskopları yardımıyla açığa çıkarılmıştır.

Bu çalışmada diyabet grubu dermisinde kalınlaşma olduğu tespit edilmiştir. Benfluoreks-C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubunda ise dermis kalınlaşmasının olmadığı ve kontrol grubuna yakın olduğu belirlenmiştir. Kliniksel olarak deri kalınlaşması gözlenen ve gözlenmeyen insüline bağlı diabetes mellituslu hasta gruplarında yapılan bir çalışmada da her iki hasta grubunda dermis kalınlaşmasının olduğu gözlemlenmiştir (HANNA vd. 1987).

Bulgular dermis bölgesinde bulunan lifler bakımından değerlendirildiğinde, STZ ile diyabet oluşturulan grubun dermisinde elastik lif yoğunlaşması ve birikimi gözlenirken, benfluoreks-C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubunda elastik liflerin yapısının normal şeklini koruduğu tespit edilmiştir. Diyabetli hastalar üzerinde yapılan başka çalışmalarda da dermiste anormal elastik lif ve kollajen birikimi (DAĞLI vd. 1992), kollajen demetlerinde genişleme ve organizasyon bozukluğu olduğu tespit edilmiştir (HANNA vd. 1987).

Bu çalışmada diyabet grubunda, fibroblastlarda dejenerasyonlar tespit edilmiştir. Fibroblast hücre çekirdeğinin yapısının bozulduğu, piknotik bir hal aldığı bulunmuştur. Ayrıca fibroblast sitoplazmasında yer alan endoplazmik retikulumların aşırı dilatasyonu sonucu meydana gelen, şişme dejenerasyonu gözlenmiştir (PAPADIMITRIOU vd. 1992).

Benfluoreks-C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubunda ise fibroblastlarda herhangi bir bozulma gözlenmemiştir. Bu grupta sıklıkla ikili fibroblastlara rastlanmıştır ve hücrelerin karşılıklı yüzeylerinin birbirlerine değdiği gözlenmiştir. Yapılan çalışmalar bir fibroblastın sitoplazmik uzantıları ile komşu fibroblastın uzantılarının ilişki halinde bulunabileceğini göstermektedir. Fibroblastların birbirleri ile temas halinde bulunarak, tüm vücutta bütünleyici fonksiyonlara sahip oldukları belirtilmiştir (LANGEVIN vd. 2004). Bu da bizim gözlemlediğimiz ikili fibroblast gruplarının nedenini ve önemini açıklamaktadır. Bu grupta fibroblastların sitoplazmalarında bol miktarda granüllü endoplazmik retikulumların olduğu ve sisternalarının genişlediği gözlenmiştir. Fibroblastlarında gözlenen kesecikler de yine sentez faaliyeti ile ilgili olmalıdır.

Sonuç olarak, bu çalışmada diyabet oluşturulan grupta dermis kalınlaşması, elastik liflerde yoğunlaşma ve fibroblastlarda dejenerasyonlara rastlanılmıştır. Bilindiği gibi fibroblastlar kollajen, retiküler ve elastik lifleri sentezlemesi bakımından önem taşımaktadır. Bu nedenle diyabet grubunda hem fibroblastlarda hasar hem de elastik liflerde yoğunlaşma ve birikimler şeklinde bozulmalar gözlenmesi birbirini doğrular niteliktedir. Benfluorex-C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubunda dermis kalınlaşması ve elastik liflerde bozulma olmadığı, buna paralel olarak da fibroblastların normal yapılarını korudukları ve aktif sentez faaliyeti içinde oldukları gözlenmiştir. Diyabetli hastalarda yaraların geç iyileşme nedenleri arasında düşük fibroblast aktivitesi bulunmaktadır (EKMEKTZOĞLU & ZOGRAFOS 2006). Benfluorex-C vitamini tedavisi uygulanan diyabet grubunda aktif fibroblast yapılarının gözlenmesi bu bakımdan önem taşımaktadır. Diyabetik dermiste gözlenen dejenerasyonlara benfluorex-C vitamini tedavisi uygulanan grupta rastlanılmamış olması, diyabetik

dermisin tedavisinde ve komplikasyonlarının önlenmesinde benfluorex-C vitamininin katkıları sağlayabileceğini düşündürmektedir.

TEŞEKKÜR

Yazarlar makaleyi değerlendiren hakemlere ve 18. Ulusal Biyoloji Kongresi katılımcılarına değerli katkı ve önerileri için teşekkürlerini sunarlar.

KAYNAKLAR

- ADA (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION). 2006. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 29 (1), 43-48.
- BRINDLEY DN, AKESTER H, DERICK GP, IRVINE CD, PATMORE RD, SPENCER H, YULE-SMITH A, FINNERTY C, SAXTON J, MACDONALD I A, 1988. Effect of chronic administration of benfluorex to rats on the metabolism of corticosterone, glucose, triacylglycerol, glycerol and fatty acid. *Biochemical Pharmacology*, 37(4); 695-705.
- BOR MV, ELMALI ES, ALTAN N, 2000. Serum antiotensin converting enzyme activity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 30 (3), 311-313.
- CERIELLO A, BORTOLOTTI N, CRESCENTINI A, MOTZ E, LIZZIO S, RUSSO A, EZSOL Z, TONUTTI L, TABOGA C, 1998. Antioxidant defences are reduced during the oral glucose tolerance test in normal and non-insulin-dependent diabetic subjects. *European Journal of Clinical Investigation*, 28 (4), 329- 333.
- CONGET I, 2002. Diagnosis, classification and pathogenesis of diabetes mellitus. *Revista Espanola De Cardiologia*, 55 (5), 528-535.
- CULLING CFA, ALLISON RT, BARR WT, 1985. *Cellular Pathology Technique*. Butterworth & Co. Ltd., London. pp. 175-176.
- DAĞLI Ü, ŞENEL Z, YILMAZ N, YALÇIN S, 1992. Diabetik karyoatropi üzerine klinik ve histopatolojik çalışma. *Turkish Journal of Dermatopathology*, 1, 29-34.
- DURAN V, GAJINOV Z, VUCKOVIC N, MATOVIC L, MATIC M, IVCOV-SIMIC M, POJACKI M, 2001. Skin disorder in diabetic patients and pathohistological diagnostics. *Archive of Oncology*, 19 (1), 129-130.
- EISELEIN L, SCHWARTZ HJ, RUTLEDGE JC, 2004. The challenge of type I diabetes mellitus. *Institute for Laboratory Animal Research Journal*, 45 (3), 231-236.
- EKMEKTZOĞLOU KA, ZOGRAFOS GC, 2006. A concomitant review of the effects of diabetes mellitus and hyperthyroidism in wound healing. *World Journal of Gastroenterology*, 12 (17), 2721-2729.
- HANNA W, FRISEN D, BOMBARDIER C, GLADMAN D, HANNA A, 1987. Pathologic features of diabetic thick skin. *Journal of The American Academy Dermatology*, 16 (3), 546-553.
- HEIDARI Z, SAGHEB HM, RAFIGHDOOST H, MOEIN A, MUGAHI MN, MINAII B, 2003. A streological study of diabetic kidney following administration of different doses of streptozocin. *Daru*, 11 (3), 115-119.

- KOHL C, RAVEL D, GIRARD J, PEGORIER J, 2002. Effects of benfluorex on fatty acid and glucose metabolism in isolated rat hepatocytes. From metabolic fluxes to gene expression. *Diabetes*, 51, 2363-2368.
- LANGEVIN HM, CORNBROOKS CJ, TAATJES D, 2004. Fibroblasts form a body-wide cellular network. *Histochemistry and Cell Biology*, 122 (1), 7-15.
- MAHAJAN S, KORANNE RV, SHARMA SK, 2003. Cutaneous manifestation of diabetes mellitus. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 69 (2), 105-108.
- MCLENNAN S, YUE DK, FISHER E, CAPOGRECO C, HEFFERNAN S, ROSS GR, TURTLE JR, 1988. Deficiency of ascorbic acid in experimental diabetes. Relationships with collagen and polyol pathway abnormalities. *Diabetes*, 37 (3), 359-361.
- MYTHILI MD, VYAS R, AKILA G, GUNASEKARAN S, 2004. Effect of streptozotocin on the ultrastructure of rat pancreatic islet. *Microscopy Research and Technique*, 63, 274-281.
- PAPADIMITRIOU JM, HENDERSON DW, SPAGNOLO DV, 1992. *Diagnosti Ultrastructure of Non-Neoplastic Diseases*. Churchill Livingstone Longman Group UK Limited, United Kingdom. pp.65.
- PEREZ MI, KOHN SR, 1994. Cutaneous manifestations of diabetes mellitus, *Journal of the American Academy of Dermatology*, 30, 519-531.
- ROMANO G, MORETTI G, DI BENEDETTO A, GIOFRE C, DI CESARE E, RUSSO G, CALIFANO L, CUCINATTO D, 1998. Skin lesion in diabetes mellitus; prevalence and clinical correlations. *Diabetes Research Clinical Practise*, 39, 101-106.
- SERRADAS P, BLONDEL O, BAILBE D, PORTHA B, 1993. Benfluorex normalizes hyperglycemia and reverses hepatic insulin resistance in STZ-induced diabetic rats. *Diabetes*, 42, 564-570.
- WEST IC, 2000. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine*, 17, 171-180.