

ALLOKSAN DİYABETİN SIÇANLARDA DİŞETİ DOKUSUNA ETKİSİ

THE EFFECT OF ALLOXAN DIABETES IN RATS ON GINGIVAL TISSUE

*Nesrin ÖZSOY** *Hamit BOSTANCI †* *Cevat AYVALI**

ÖZET

Bu çalışmada alloxanla diyabet oluşturulmuş sıçanlarda dişeti dokusu incelenmiştir. Çalışmanın amacı diyabetiklerde doku hasarının değerlendirilmesidir. Çalışmada 23 diyabetik 10 kontrol olmak üzere toplam 33 sıçan kullanılmıştır. Doku biyopsilerinden hazırlanan kesitler ışık mikroskopunda incelenmiştir. Kontrol grubu sıçanlarda dişeti epitelinin normal yapısını koruduğu gözlenmiştir. Diyabetle ilişkili olarak dişeti dokusunda oral epitelde aşırı proliferasyon ve keratinizasyon tespit edilmiştir. Oral epiteldeki rete peg yapılarında da artış ve uzamalar gözlenmiştir. Epitel altı bağ dokusunda küçük çaplı damarların biraraya toplandığı ve demetler oluşturduğu belirlenmiştir. Bağ dokuda bazı bölgelerde hem hücreler hem de kollagen liflerinin izlenemediği görülmüştür. Sulkular epitelde özellikle epitel altı bağ dokusunda damarlarda artış ve dilatasyon tespit edilmiştir. Diyabetiklerde dişeti dokusunda görülen dejeneratif değişiklikler bu sistemik bozukluğun doku hasarını uyarmasının bir sonucu olabilir.

Anahtar Kelimeler: Diabetes mellitus, alloxan, dişeti, ışık mikroskobu

SUMMARY

In this study, the gingival tissue was examined in alloxan-induced diabetic rats. The purpose of the study was to evaluate tissue damage in diabetics. A total of 33 rats (23 diabetics and 10 controls) were used for investigation. The sections prepared from tissue biopsies were studied by light microscopy. It was observed that gingival epithelium maintained its normal structure in control group rats. Excessive proliferation and keratinization was determined in the oral epithelium of gingival tissue associated- diabetes. Elongation and increase in the rete peg structures were also observed. Small blood vessels which came together and formed bundles were determined in the subepithelial connective tissue. In some of the regions of the connective tissue both cells and collagen fibers were not observed. In the sulcular epithelium, particularly in the subepithelial connective tissue increase in vessels and dilatation were identified. Degenetative changes seen in gingival tissue of diabetics may be a consequence of stimulation of tissue damage of this systemic disorder.

Key Words: Diabetes mellitus, alloxan, gingiva, light microscopy

* A.Ü.Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü 06100 Tandoğan-Ankara

† A.Ü.Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji A.B.D. 06500 Beşevler-Ankara

GİRİŞ

Diabetes mellitus (D. mellitus) vücuttaki hücrel ve biyokimyasal olayları etkileyen en önemli metabolik bozukluklardan birisidir.¹ D. mellitus'un primer olarak tip I D. mellitus ve tip II D. mellitus olmak üzere iki tipi tanımlanmıştır. Bunun dışında diğer spesifik tipler ve gestastiyonal D. mellitus da bu sınıflandırmaya dahil edilmiştir.² Gerek tip I gerekse tip II D. mellitus'lu hastalarda infeksiyonlara karşı hassasiyet artmaktadır. Bu nedenle konakçının savunmasında sık sık bir baskılanma söz konusu olmaktadır.³⁻⁵ D. mellitus oral dokular üzerinde de çok çeşitli etkilere sahiptir ve günümüzde diş kaybının en önemli sebebi olarak bilinen periodontal hastalıkları etkilemektedir. Kontrol edilmeyen diyabetin klinik gözlemleri incelendiğinde inflamatuvar ve dejeneratif değişikliklerin hafif bir gingivitis'le başladığı ve periodontal ceplerden çıkan eksuda varlığı, periodontal ligamentin genişlemesi ve periodontitise kadar değişen yanıtların bir kombinasyonu olarak devam ettiği gözlenmiştir. Daha sonraki aşamada alveol kemiğinin yıkımına diş mobilitesinin de eşlik ettiği, alveol kemiğinin rezorpsiyonunun kan şekeri düzeyi ve glikozüri ile ölçülen diyabetik duruma orantılı olarak arttığı gösterilmiştir.⁶⁻⁹ Diyabetiklerde periodontal hastalıkla birlikte gözlenen anormallikler damar değişiklikleri, anormal kollagen metabolizması, ağız mikrobiyal florasında değişiklik ve anormal savunma mekanizması şeklinde özetlenebilir.¹⁰ Diyabet ve periodontal hastalık arasındaki ilişkiyle ilgili ilk literatürler incelendiğinde, bu raporların çoğunun klinik gözlemlere dayandığı görülmüştür. Klinik araştırmaların karşılaştırılması, bir çok çalışmada farklı periodontal ölçütler kullanıldığı ve diyabetik olguların sınıflandırılması tek tip olmadığı için oldukça zor gözükmektedir. Glickman (1946), bu ilişkiyi kontrollü deneysel çalışmalarla inceleyen ilk araştırmacılardan biridir.⁹ Bu araştırmacı diyabetik bir hastada gözlenen oral değişikliklerin diyabetten mi yoksa diyabetten önce ya da diyabetle birlikte bulunan başka bir hastalıktan mı kaynaklandığını sorgulamış, bu soru diğer çalışmaları başlatmıştır. Diyabet uzun zamandan beri periodontal hastalık için risk faktörü olarak tanımlanmaktadır.¹¹ Kontrol edilmeyen diyabetik hastalarda ileri periodontal yıkım anlaşılır olmakla birlikte, iyi kontrol edilen diyabetik hastanın periodontal durumu konusunda anlaşılabilir noktalar vardır. Periodontal hastalığın sıklığının artmış olması ve diyabetiklerde erken yaşlarda diş kaybının görülmesi diyabet ve periodontal

hastalık arasındaki ilişkinin incelenmesinde önemli bir sebep olmuştur. Deneysel diyabetin, diyabetle ilişkili olarak görülen oral değişiklikleri çalışmak için iyi bir model olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada diyabetin sıçanlarda dişeti dokusuna etkisinin ışık mikroskopunda incelenmesi ve diyabetin dişeti dokusunda meydana getirdiği dejenerasyonların doku yıkım mekanizması yönünden değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada kullanılan sıçanlar Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesine bağlı hayvan evinden temin edilmiştir. Sıçanlara kuyruktan intravenöz yolla 55 mg/kg Alloxan enjekte edilerek diyabet oluşturulmuştur.¹² Enjeksiyondan 24 saat sonra idrarda şeker aranarak diyabetin oluşup oluşmadığına bakılmıştır. İdrarda glukoz ölçümü Diastik (Bayer, Germany) kullanılarak yapılmıştır. Diyabet oluşumu gözlenen sıçanlar dört hafta süreyle kontrol altında tutularak 4.haftanın sonunda açlık kan şekeri ölçülmüştür. Kan şekeri ölçümünde de Glukostik (Bayer, Germany) kullanılmıştır. Kontrol grubu sıçanlar için kan glukoz değerleri 70-140 mg/dl, diyabetik sıçanlar içinde kan glukoz değerleri 250-300 mg/dl ve 400 ≥ mg/dl olanlar tercih edilmiştir. Diyabetik sıçanlar ve kontrolleri eter anestezisi altında dekapite edildikten sonra alt çene dikkatli bir şekilde çıkartılarak ışık mikroskobu çalışmaları için %10'luk formaldehite alınmıştır. Bu örneklerde diş ve dişeti birlikte alındığından diğer aşamalara geçmeden önce dekalsifikasyon işlemi uygulanmıştır. Formaldehitte tespit edilmiş örnekler 24 saat akar suda yıkandıktan sonra sitrat tamponlu formik asite konulmuştur. Yaklaşık bir ay kadar iki günde bir değiştirme yapılarak bu işleme devam edilmiş. Bu şekilde dokuların dekalsifiye olması sağlanmıştır. Dokular dekalsifiye edildikten sonra tekrar 24 saat akar suda yıkanarak alkol serilerinden geçirilmiş ve parafine gömülerek blok haline getirilmiştir. Bu bloklardan alınan kesitler Harrison'un Hematoksilen-Eosin boyası ile boyanarak daimi preperatlar haline getirilmiştir. Preperatlar Olympus marka ışık mikroskopunda incelenip fotoğraflar Olympus Vanox S fotomikroskop ile alınmıştır.

BULGULAR

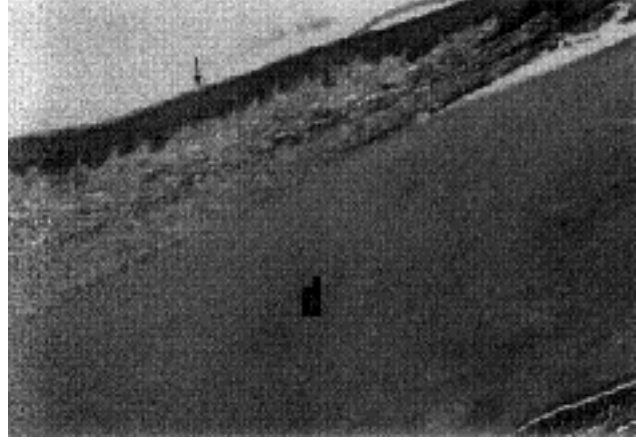
Sıçan dişeti yapısının insan dişetine benzer olduğu bilinmektedir.¹³ Ancak sıçanlarda sulkular epitel insan dişetinden farklı olarak tamamen keratinlidir ve keratinize olmayan komşu bağlantı epitelinden ko-

laylıkla ayırt edilebilmektedir.¹⁴ Kontrol grubu sıçanlarda dişeti epitelinin normal yapısını koruduğu gözlenmiştir (Şekil 1,2).

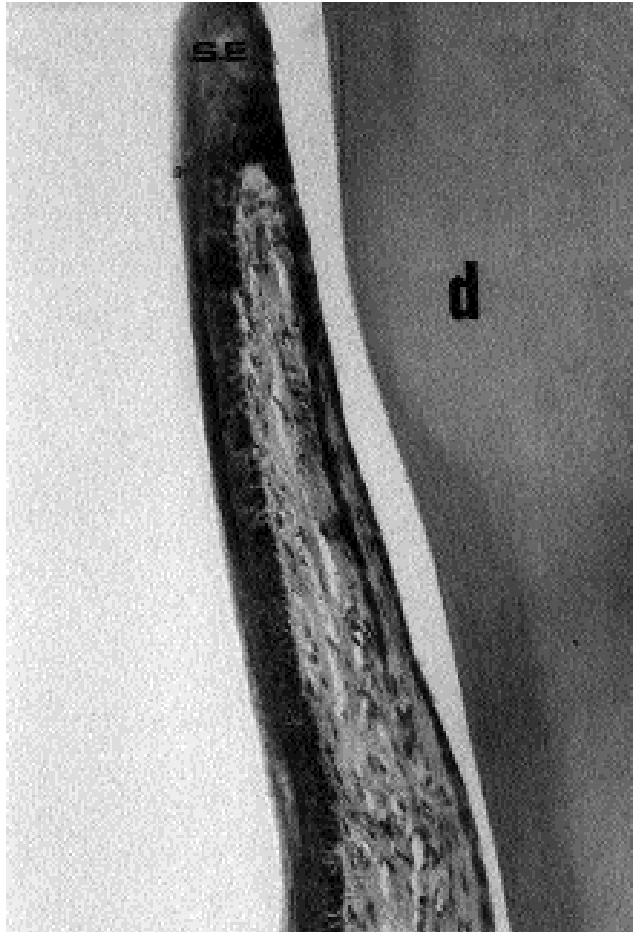
Periodonsiyumun bir kısmını teşkil eden dişeti dokusunda diyabetle birlikte birtakım dejenerasyonlar tespit edilmiştir (Tablo I). Diyabetik sıçanlarda oral epitelde hücrelerin yavaş yavaş proliferasyona doğru gittiği ve epitel altı bağ dokusunda küçük çaplı damarların biraraya toplandığı ve demetler oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 3a,b). Kan glukoz değerleri $400 \geq$ mg/dl olan örneklerde daha hızlı periodontal harabiyet gözlenmiştir. Oral epitelde aşırı keratinizasyon ve proliferasyon tespit edilmiştir (Şekil 4). Diyabetiklerde epitel tabakasının kalınlığında artışın yanısıra rete peglerde uzamalar gözlenmiştir (Şekil 5). Aşırı proliferasyon gözlenen örneklerde bağ dokuda damar çevresinde iltihabi hücrelere raslanılmıştır (Şekil 6). Aşırı proliferasyon ve aşırı keratinizasyonun birlikte görüldüğü örneklerde ise özellikle epitel altı bağ dokusunda kollagen liflerinde dejenerasyon ve bağ doku hücrelerinin izlenemediği dikkati çekmiştir (Şekil 7). Diyabetik sıçanlarda sulkular epitel incelendiğinde yüzeydeki hücrelerde bir miktar çözümler olduğu tespit edilmiştir Epitel altı bağ dokusunda damarlarda artış ve dilatasyon gözlenmiştir (Şekil 8).

Tablo I. Diyabetik olmayan ve diyabetik olan gruplarda doku düzeyinde görülen değişimler

	Diyabetik olmayan grup(70-140 mg/dl)	Diyabetik grup (250-300 mg/dl)	Diyabetik grup (400≥mg/dl)
Aşırı keratinizasyon	-	-/+	+
Aşırı proliferasyon	-	-/+	+
Rete peglerde artış ve uzama	-	-/+	+
Damar dilatasyonu	-	-/+	+
Küçük çaplı damarlarda artış	-	+	+
Hücre ve kollagen lif kaybı	-	-/+	+



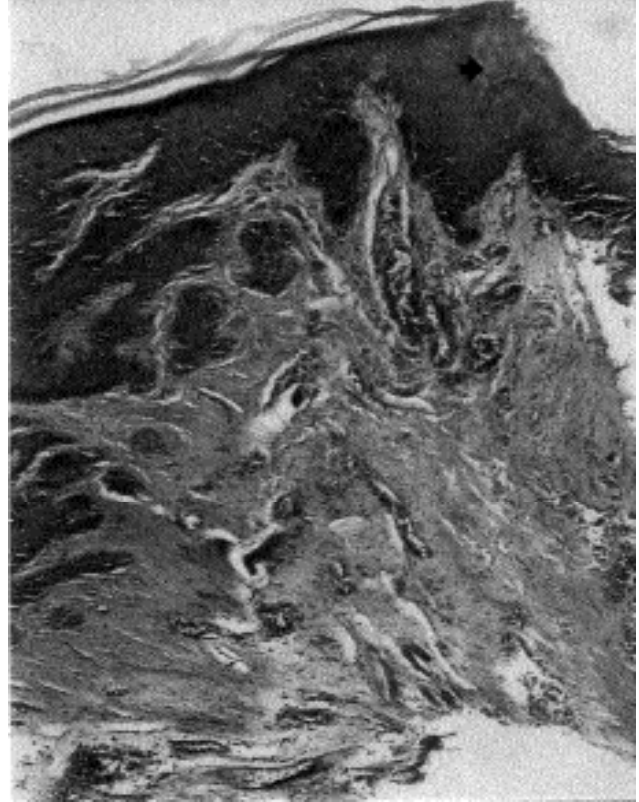
Şekil 1. Kontrol grubuna ait sıçanda oral epitel (→) ve dişin dentin tabakası (d) (x 200 büyütme).



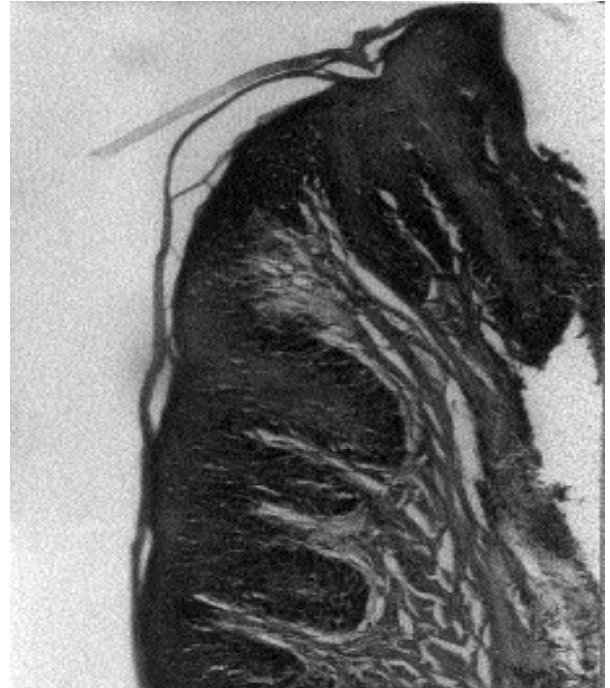
Şekil 2. Kontrol grubuna ait sıçanda sulkular epitel(S.E) ve dişin dentin tabakası(d) (x 200 büyütme).



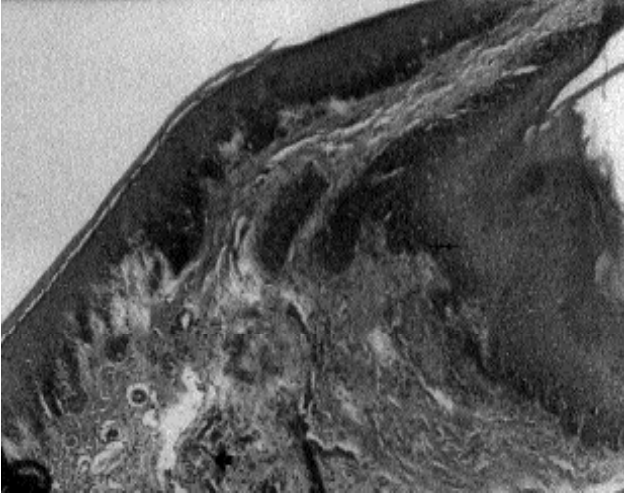
Şekil 3. Diyabetik sıçana ait oral epitel ve bağ dokusu
a)Epitelde kalınlaşma başlangıcı (x 200 büyütme).
b)Bağ dokusunda demetler oluşturmuş küçük çaplı damarlar(→) (x 375 büyütme).



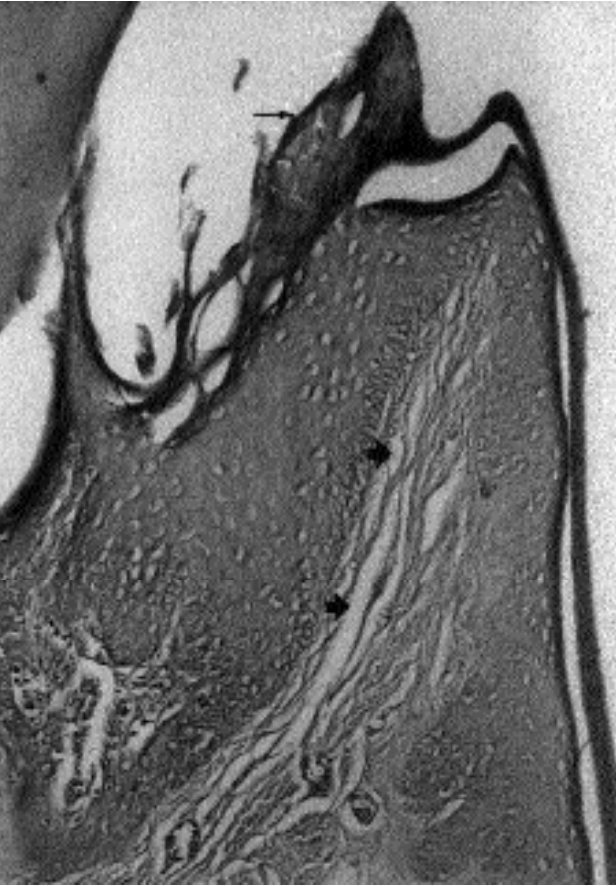
Şekil 4. Diyabetik sıçana ait oral epitelde keratinizasyon artışı (→) (x 250 büyütme).



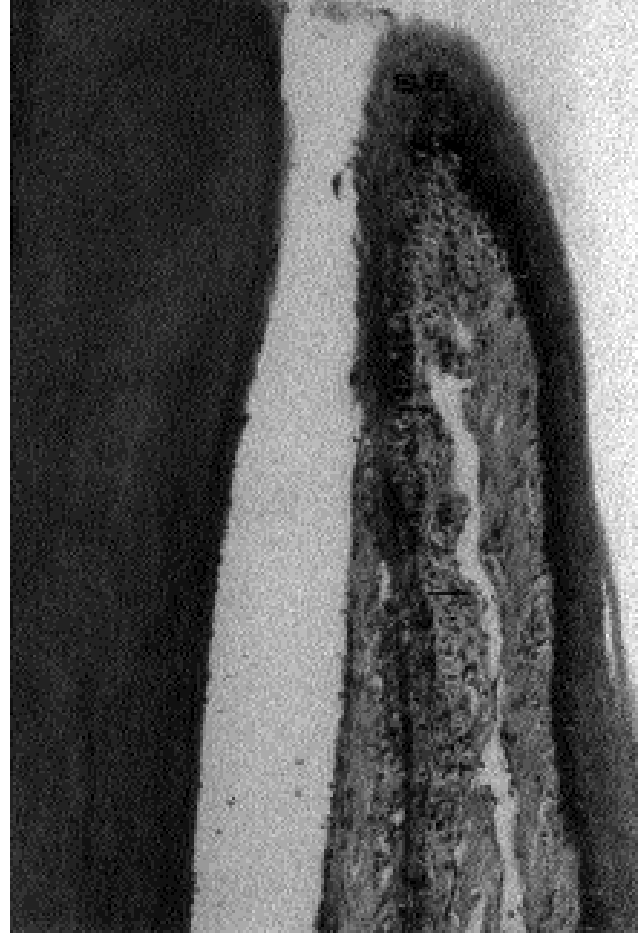
Şekil 5. Diyabetik sıçana ait oral epitelde artmış ve uzamış rete peg yapıları (x 375 büyütme).



Şekil 6. Diyabetik sıçanda oral epitelde kalınlaşma (→) ve derin bağ dokuda dilate damar çevresinde iltihabi hücreler (⇨) (x 250 büyütme).



Şekil 7. Oral epitelde aşırı keratinizasyon (→) , bağ dokuda hücre ve kollagen lif kaybı (⇨) (x 400 büyütme).



Şekil 8. Diyabetik sıçanda sulkular epitel (S.E) ve bağ dokusunda damar dilatasyonu (→) (x 375 büyütme).

TARTIŞMA

Tüm sistemleri etkileyen heterojen karakterli bir hastalık olan D. mellitus'un diş ve dişetinde bir takım komplikasyonlara sebep olduğu ve sonuçta periodontal hastalıklara yol açtığı, aksini savunanlar^{15,16} olmasına rağmen diyabetiklerde diyabetik olmayanlara göre gingival inflamasyon derecesinin daha fazla olduğu ileri sürülmüştür.^{10,17} Diyabetiklerde çok erken yaşlarda görülen diş kaybının esas sebebinin periodontal hastalık olduğu ve bu hastalık sıklığının diyabetiklerde yüksek olduğu ifade edilmiştir¹⁸ Diyabetiklerde dişeti dokusunda yapılan histopatolojik bir çalışmada epitel tabakalarında organizasyon bozukluğuna bağlı olarak gelişen akantozis, hiperkeratozis ve papillamatozis gibi bulgular elde edilmiştir. Bu bulgulara dayanarak epitel tabakaları ve hücreleri arasındaki ilişkinin normal olmadığı bildirilmiştir.¹⁹ Aydın

ve arkadaşları¹⁹ bu bulguların yanısıra, damarlarda dilatasyon ile birlikte daha ziyade damar lümeninin daraldığını ve damar duvarının kalınlaştığını, demetler oluşturmuş küçük çaplı damarların çevresinde hiyalinleşme olduğunu, diyabetin süresi uzadıkça da damar değişmelerinin daha da barizleştiğini gözlemişlerdir. Bu çalışmada da bu araştırıcı grubunun bulgularına benzer şekilde diyabetik sıçanlarda ışık mikroskopu ile yapılan incelemelerde özellikle oral epitelde aşırı keratinizasyon, kalınlaşma, bağ dokusundaki bazı damarlarda dilatasyon ile birlikte küçük çaplı damarların demetler oluşturduğu gözlenmiştir.

Cohen ve arkadaşları²⁰, Cohen ve Shklar²¹, normal ve kalıtsal diyabetik olan Chinese hamsterlerinin periodonsiyumundaki histopatolojik değişiklikleri karşılaştırmalı olarak incelemişlerdir. Bütün diyabetik hayvanlarda hafif dişeti iltihabı ve epitel hiperplazisinden alveolar rezorpsiyon ile birlikte derin periodontal cep oluşumuna kadar değişen derecelerde periodontal farklılıklar gözlemişlerdir. Gingival inflamasyon derecesi ve periodontal yıkım oranının diyabetik olgularda daha yüksek olduğunu da gözlemişlerdir. Rylander ve arkadaşları⁷, diyabetiklerde kontrollere oranla daha fazla dişeti iltihabı varlığı saptamışlardır. Hugoson ve arkadaşları²², hastalığın süresine bakmaksızın tip 1 diyabetiklerde diyabetik olmayanlara oranla gingivitis bölgelerinin daha yaygın olduğunu bulmuşlardır. Kan glukoz değerlerinin yüksek olduğu durumlarda daha hızlı periodontal harabiyet gözlemlenmiş de ortaya konmuştur.²³ Bu çalışmada da kan glukoz düzeyleri $400 > \text{mg/dl}$ olan sıçanlarda gerek epitelde gerekse bağ dokusunda aşırı bir yıkım olduğu gözlenmiştir.

Simpson ve Avery²⁴, Babonlarda iltihaplı dişetinin histopatolojik özellikleri ile ilgili çalışmalarında iltihabın ileri olduğu dönemlerde rete peg yapılarında proliferasyon ve bağ doku liflerinde azalma tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da kan glukoz düzeyleri yüksek olan diyabetik sıçanlarda oral epitelde rete peg yapılarında artış ve uzamalar olduğu gözlenmiş ve bağ dokuda da kollagen liflerinin yer yer izlenemediği tespit edilmiştir.

Ayrıca diyabetin gingival dokunun *in vivo* ve *in vitro* kollagenaz aktivitesini arttırdığı bulunmuştur.²⁵ Kollagenaz aktivitesinin stimülasyonu diyabetik durumda periodontal bağ dokusunun daha hızlı yıkımını açıklar görünmektedir. Anormal kollagen metabo-

lizması diyabetik olgularda periodontitisin şiddetiyle yakından ilişkilidir. Bu çalışmada da kan glukoz düzeyleri $250-300 \text{ mg/dl}$ olan diyabetik sıçanların bir kısmında bağ dokusundaki kollagen liflerinde normal bir görünüm izlenirken bir kısım diyabetiklerde özellikle kan glukoz düzeyleri $400 \geq \text{mg/dl}$ olan sıçanlarda kollagen liflerinde azalma görülmüştür. Gerek epitelde gerekse bağ dokusundaki bu yıkımın daha ileriki aşamada periodontal hastalığa sebep olabileceği düşünülrse diyabetik hastalarda oral hijyen daha da önemli olmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Anil S, Remani P, Vijayakumar T, Hari S. Cell-mediated and humoral immune responses in diabetic patients with periodontitis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 70: 44-48, 1990.
2. Soskolne WA, Klinger A. The relationship between periodontal diseases and diabetes: An overview. *Ann Periodontol* 6: 91-98, 2001.
3. Rayfield EJ, Ault MJ, Keusch GT. Infection and diabetes. The case for glucose control. *Am J Med* 72: 439-441, 1982.
4. Iacopino AM. Periodontitis and diabetes interrelationships: Role of inflammation. *Ann Periodontol* 6:125-137, 2001.
5. Lamster IB, Lalla E. Periodontal disease and diabetes mellitus: Discussion, conclusions, and recommendations. *Ann Periodontol* 6(1):146-149, 2001.
6. Tervonen T, Kunuuttila M. Relation of diabetes control to periodontal pocketing and alveolar bone level. *Oral Surg Med Oral Pathol* 61:346-349, 1986.
7. Rylander H, Ramberg P, Blohme G, Lindhe J. Prevalence of periodontal disease in non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 62:123-130, 1987.
8. Grossi S, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: A two-way relationship. *Ann Periodontol* 3(1):51-61, 1998.
9. Gustke C.J. Treatment of periodontitis in the diabetic patient. A critical review. *J Clin Periodontol* 26(3):133-137, 1999.
10. Manoucheur-Pour M, Bissada NF. Periodontal disease in juvenile and adult diabetic patient: a review of literature. *JADA* 107:766-770, 1983.
11. Reuterving CO, Hagg E, Henrkinson R, Holm J. Salivary glands in long-term alloxan diabetic rats. A quantitative light and electron microscopic study. *Acta Pathol Microbiol Immunol* 95:131-136, 1987.
12. Leeper SH, Kalkwarf KL, Strom EA. Oral status of "controlled" adolescent type I diabetics. *J Oral Med* 40:127-133, 1985.
13. Listgarden MA. Similarity of epithelial relationship in the gingiva of rat and man. *J Periodontol* 46: 677-680, 1975.
14. İjuhin N. Light and electron microscopic studies of experimentally-induced pathologic changes in the rat periodontal tissue. *Adv Dent Res* 22(2): 209-214, 1988.

15. Nichols C, Laster LL, Bodak-Gyovai LZ. Diabetes mellitus and periodontal disease. *J Periodontol* 49: 85-88, 1978.
16. Barnett ML, Baker RL, Yancey JM, MacMillan DR, Kotoyan M. Absence of periodontitis in a population of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) patients. *J Periodontol* 55: 402-404, 1984.
17. Oliver RC, Tervonen T. Periodontitis and tooth loss in diabetics. A comparison with employed adults. *JADA* 124:71-76, 1993.
18. Oliver RC, Tervonen T. Diabetes. A risk factor for periodontitis in adults. *J Periodontol* 65: 530-538, 1994.
19. Aydın S, İlçayto R, Başaran B. Diyabetli ve diyabetli olmayan şahıslardan alınan dişeti biyopsilerinin histo-patolojik yönden incelenmesi. *Dicle Üniv Diş Hek Fak Derg* 1:9-20, 1984.
20. Cohen MM, Shklar G, Yorganian G. Pulpal and periodontal disease in a strain of Chinese hamsters with hereditary diabetes mellitus. *Oral Surg* 16:104-112, 1963.
21. Cohen MM, Shklar G. Periodontal disease in the Chinese hamster (*Cricetus griseus*) with hereditary diabetes mellitus. *J Dent Res (Special Issue)* abstract no: 223, 1976.
22. Hugoson A, Thorstenson H, Falk J, Kuylentiema J. Periodontal conditions in insulin dependent diabetics. *J Clin Periodontol* 16:215-223, 1989.
23. Bartolucci E, Parkes RB. Accelerated periodontal breakdown in uncontrolled diabetes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 52:387-390, 1981.
24. Simpson DM, Avery B. Histopathologic and ultrastructural features of inflamed gingiva in the baboon. *J Periodontol* 43(7):500-510, 1974.
25. Golub LM, Schneir M, Ramamurthy NS. Enhanced collagenase activity in diabetic rat gingiva. In vitro and in vivo evidence. *J Dent Res* 57:520-525, 1978.

Yazışma Adresi

Nesrin ÖZSOY

A.Ü Fen Fakültesi

Biyoloji Bölümü

06100 Tandoğan / ANKARA