

## Streptozotocin ile Oluşturulmuş Deneysel Diyabetin, Ratların Dilleri Üzerine Etkisinin Histolojik Olarak Araştırılması

Ahmet DAĞ<sup>1</sup>, Ersin UYSAL<sup>2</sup>, M.Aydın KETANİ<sup>3</sup>, Ela Tules KADİROĞLU<sup>1</sup>,  
Berna ERSÖZ KANAY<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dicle Üniversitesi, Dış Hekimliği Fakültesi, Periodontoloji Anabilim Dalı, 21280, Diyarbakır, Türkiye

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi, Diyarbakır Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Bilgisayar Teknolojileri Bölümü, 21280, Diyarbakır, Türkiye

<sup>3</sup>Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 21280, Diyarbakır, Türkiye

<sup>4</sup>Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, 21280, Diyarbakır, Türkiye

### Özet

Bir çok çalışmada, diyabetes mellituslu hastalarda tat bozuklukları ve dilde lezyonlar meydana geldiği ileri sürülmektedir. Ama bu konuda histolojik çalışmalar azdır. Bu çalışmanın amacı, streptozotocin ile oluşturulan deneysel diyabetin ratların dilleri üzerinde ne tür değişiklikler oluşturabileceğini histolojik olarak ışık mikroskopu ile incelemektir. Bu çalışmada 250-300 g ağırlığında 15 erkek Wistar rat kullanıldı. Hayvanlar deneyden önce rastgele iki gruba ayrıldı. Grup-1 deneysel diyabet, 10 ratta streptozotocin enjeksiyonu ile oluşturuldu. Grup-2 kontrol grubu oluşturdu (5 rat). Diyabetin streptozotocin ile indüklenmesinden sonraki 7. ve 14. günlerde, her gruptaki beş hayvan sacri fiye edildi. Histolojik analiz için dilleri kullanıldı. Dilin histolojik özelliklerinin değerlendirilmesinde, diyabet grubunun epitel kalınlığında artış görüldü. Ayrıca diyabet grubunda kontrol grubundan daha yüksek seviyede inflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğu tespit edildi ve bu bulgu istatistiksel olarak anlamlıydı. Sonuç: Çalışmamızın bulgularına göre, diyabet dilin morfolojik yapısını değiştirerek inflamasyona daha yatkın hale getirebileceği söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Dil, streptozotocin, diabetes mellitus, rat

## Effects of Streptozotocin-Induced Diabetes on Lingual Histological Changes in the Rats

### Abstract

Many studies suggest that taste disorders and tongue lesions associate with diabetes mellitus (DM). However, the tongue histopathology underlying impairments in taste sensation, tongue lesions in the DM is poorly examined. The present study aimed to clarify histological changes of the tongues in streptozotocin (STZ)-induced diabetic and control rats by using light microscopy. Fifteen male Wistar rats that weighed 250–300 g were used in this study. The animals were randomly divided into two groups prior to the experiment. Group 1 irreversible experimental diabetes was created by streptozotocin injection in 10 rats. Group 2 comprised the control group (5 rats). On the 7th and 14th days after the induction of diabetes by streptozotocin, five animals from each group were euthanized by cardiac puncture under intraperitoneal anesthesia with ketamine HCl and xylazine. Tongue's were performed for the histological analysis. Changes in the histological characteristics of the lingual; An increase in the total thickness of the epithelium of the diabetes group was observed. Furthermore, it was found that inflammatory cell infiltration was higher in the diabetic group than in the control group, and this excess was statistically significant.

**Conclusion:** According to the findings of our study, it can be said that diabetic can change the morphological structure of the tongue to make inflammation more susceptible.

**Keywords:** Tongue, streptozotocin, diabetes mellitus, rat

## Giriş

Diyabetes mellitus kronik metabolik bir hastalıktır. Pankreas beta hücrelerinden salgılanan insülin eksikliğine bağlı olarak gelişen hastalığın literatürde birçok yan etkisi bildirilmiştir. Bunların içerisinde nöropati, retinopati, nefropati ve vasküler patolojilerin hızlanması sayılabilir (1).

Araştırmacılar, oral kavitede diyabetes mellitus ile ilişkili olarak bir çok yumuşak doku patolojisi rapor etmişlerdir. Bu komplikasyonlar periodontal hastalıklar, tükürük akışında azalma ve tükürük içeriğinde değişme (2), tat alma bozuklukları, dilde lezyonlar ve ağız yanma sendromu sayılabilir (3-5).

Genelde yeni tanı konmuş, fark edilmemiş veya kötü kontrol altında olan diyabetin birincil semptomu ağız kuruluğudur. Ağız kuruluğunun ani gelişen veya stabil olmayan hastalıklar sonucu meydana gelen dehidratasyon etkisi ile oluştuğu düşünülür (2). Tükürük disfonksiyonu tat duyusu değişikliklerinde veya duyunun ortadan kalkmasında önemli derecede etkili olduğu düşünülmektedir (6). Diyabetli hastaların oral kavitesindeki bu komplikasyonlar sonucunda hastalarda yetersiz beslenme ve kilo kaybına sebep olmaktadır (7).

Diyabetli hastalarda dilde lezyonlar ve tat alma bozuklukları oluştuğu ileri sürülen çalışmalar olmasına rağmen (3-5), bu konuda dilde meydana gelen histolojik çalışmalar yetersizdir. Bizim bu çalışmamızda, sıçanlarda (Rats) streptozotocin ile oluşturulan deneysel diyabetin sağlıklı dilleri üzerinde ne tür değişiklikler oluşturabileceğini histolojik olarak araştırmak amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

### Diyabet Oluşturulması ve Deney Grupları

Bu çalışmada, toplam 15 adet yetişkin erkek Wistar rat (250-300 g ağırlığında) kullanıldı. Ratlar, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi(DÜSAM)'nden temin edildi. Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 2010/49 protokol numarası ile araştırmanın uygunluğu onaylanmıştır. Hayvanlar rastgele iki gruba ayrıldı. Grup-1,(n:10) geri dönüşümsüz deneysel diyabet, streptozotocin enjeksiyonu ile oluşturuldu. Grup-2 ,(n:5) kontrol grubu oluşturuldu. Tüm hayvanlar uygun şartlarda 12 saat aydınlık/ 12 saat karanlık döngüde ve 22 ±

10 ° C sıcaklıkta tutuldu. Hayvanlar uygun kafeslerde tutuldu, rat yemi ve su verildi.

### Deneysel diyabet oluşturulması

Ratlarda diyabet oluşturulmadan önce ağırlıkları belirlenerek kaydedildi ve kuyruklarından alınan kan örneklerinde bir glukometre ile glukoz düzeyleri ölçülerek kaydedildi. Geri dönüşümsüz deneysel diyabet yaratmak için 0.2 ml sitrat tampon (0.1 M, pH=4.5) içinde çözünmüş streptozotocin (STZ, Sigma Chemical Company, St Louis, MO), intraperitoneal tek doz enjeksiyon (50 mg/ kg) yöntemi (8) kullanılarak uygulandı.

Enjeksiyondan 3 gün sonra kan glukoz düzeyleri tekrar kontrol edildi ve yaklaşık 2 kat arttığı tespit edildi. Böylece diyabetin oluştuğu kabul edildi. Diyabet oluşturduktan sonra 7.gün ve 14. günlerde her bir grupta 5'er rat sacri fiye edildi. Sacri fiye edilen ratların dilleri histolojik değerlendirme için alındı.

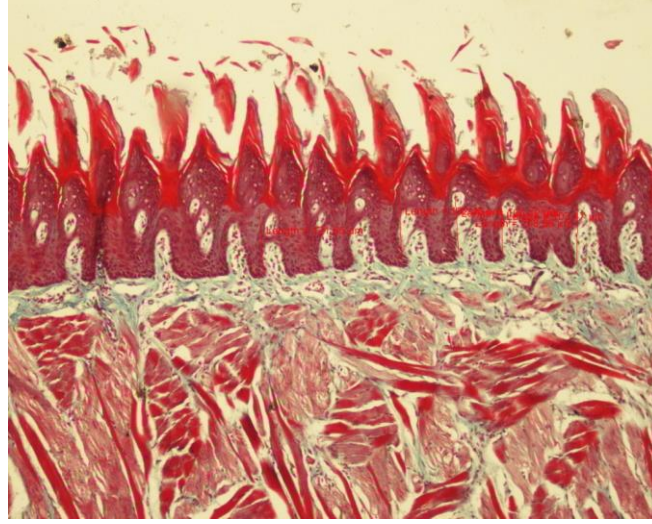
### Histolojik Değerlendirme

Diyabet oluşturulduktan sonra, her gruptan beş hayvan, ketamin HC1 (35 mg / kg) ve ksilazin (3 mg / kg) ile intraperitoneal anestezi altında kardiyak ponksiyon ile sacri fiye edildi. sacri fiye edilen hayvanların dilleri uygun bir şekilde alındı. % 10 formalin içinde 24 saat bekletildi, kademeli etanol banyolarında (% 100 ve % 70) dehidre edildi, xylene ile temizlendi, parafin bloklara gömüldü. Hazırlanan parafin bloklarından, Leica RM 2125 Rotary mikrotomu yardımı ile 5 mikrometre kalınlığında seri kesitler alındı. Elde edilen 5 mikrometre kalınlığındaki kesitler Hematoksilin-Eozin ve Masson tripple ile boyandılar.

### Dil epithelium kalınlığının ölçümü

Epitelin kalınlığının ölçümü için Hematoksilin-Eozin ile boyanan preparatlar kullanıldı. Kollejen fibrillerin durumu ve damar yapılarının değerlendirilmesinde Masson tripple ile boyanan preparatlar kullanıldı. Preparatlar; Nikon-Eclipse 400 DSRİ Nikon dijital fotoğraf makinesi (NIS Elements Imaging Software (version 3.10) ataçmanlı araştırma mikroskopunda değerlendirilerek ölçümleri yapıldı ve mikrofotografı çekildi.

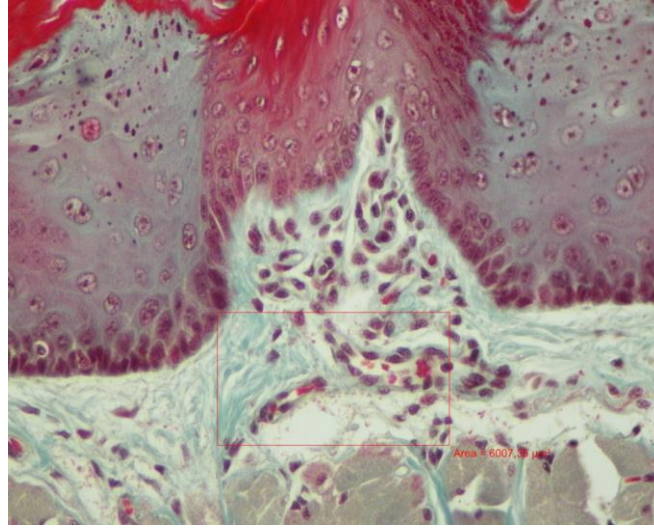
Dil epithelium tabakanın ölçümü yapıldı (Resim-1).



**Resim-1:** Diyabet ve kontrol gruplarının dişetinin total epitel kalınlık ölçümlerinin yapılması. Boyama: Masson Triple, Orjinal Büyütme X10.

Bağdokunun epitel içine yapmış olduğu papillaların ölçümü ayrı ayrı yapıldı ve sonunda aritmetik ortalamaları alınarak her bir örnek için sonucu belirlendi (Resim-1).

Bu çalışmada aynı zamanda inflamatuvar hücre sayısı, kapillerin sayısı ve dilatasyon durumları değerlendirildi (Tablo:1). Ayrıca bağ dokusu liflerin durumu şu şekilde skorlandı; 0=normal, 1=orta, 2=zayıf, 3=Çok zayıf şeklinde skorlanarak tespit edildi. Benzer şekilde daha önceki bir çalışmada, Kirchner ve ark.(9) tarafından parametreleri skorlanmışlardır. Bu sayımlar 40' lık objektif ile 6000 mikrometre kare alanda yapıldı (Resim-2).



**Resim-2:** Diyabet ve kontrol gruplarının bağ dokusu içinde inflamatuvar hücre ve kapillerin sayımın yapılması. Boyama: Masson Triple, Orjinal Büyütme X40.

Diyabet grubunda kan dolaşımının rahat olmadığını, kapiller damarlarda vazodilatasyon olduğu tespit edildi. Elde edilen bütün bu ölçüm verileri, kontrol ve diyabet grupları olarak birbiri ile istatistiksel açıdan karşılaştırılarak değerlendirildi (Tablo-1,2,3).

### İstatistiksel Değerlendirme

Bu çalışmada tanımlayıcı istatistik olarak ortalama, standart sapma, standart hata, minimum ve maksimum değerler verilmiş olup, Kontrol , 7. ve 14. günlerdeki parametrelere ait değişimler, non-parametrik istatistik testlerinden Kruskal-Wallis testi ile analiz edilmiş olup , çoklu karşılaştırmalar

ise Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. İstatistik analiz testlerinde % 95 lik güven aralığı uygulanmış olup; tanımlayıcı istatistikler ve analizler R version 3.2.3 (2015-12-10), Copyright (C) 2015 The R Foundation for Statistical Computing free software bilgisayar paket programı kullanılarak yapılmıştır.  $p < 0,05$  için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

**Bulgular**

Histolojik incelemede, hem diyabet grubunda hem de kontrol grubunun dilleri keratinize çok katlı yassı epitel (stratified squamous epithelium) olarak görülmekteydi. Bu epitel, basalis, spinosum, granulosum ve corneum hücre

tabakalarından oluşuyordu.(Resim-1) Epitelin altında yoğun bağdokusu (connective tissue) gözlenmekteydi (Resim-2).

Diyabet grubu ile kontrol grubunun total epitel kalınlığını karşılaştırdığımızda, diyabet grubunun kalınlığı 7.gün ve 14.günlerde kontrol guruba göre kalınlığı artmıştı.(Tablo-1)

**Tablo 1: Ölçüm Yapılan Gruplar ve Parametrelere Ait Tanımlayıcı İstatistik Değerleri**

Gruplar		n	Minimum	Maksimum	Ortalama	Std. Sapma	Std. Hata
Kontrol	Epitelyum Kalınlığı	5	76,35	90,72	84,9060	5,73758	2,56592
	Keratinizasyon	5	10,42	14,05	12,3060	1,38273	0,61837
	Papilla Derinliği	5	51,31	61,52	54,8040	3,98042	1,78010
	Papilla Filiformis	5	127,68	142,09	134,7100	7,13745	3,19197
	Enflamatuar Hücre Sayısı	5	3,00	5,00	4,2000	0,83666	0,37417
	Kapiller	5	3,00	4,00	3,2000	0,44721	20000
7.gün	Epitelyum Kalınlığı	5	90,54	106,11	98,6380	6,79319	3,03801
	Keratinizasyon	5	10,94	14,44	12,7060	1,29751	0,58026
	Papilla Derinliği	5	63,98	72,36	68,4260	3,14758	1,40764
	Papilla Filiformis	5	104,68	130,16	122,6680	10,28237	4,59841
	Enflamatuar Hücre Sayısı	5	4,00	8,00	6,2000	1,48324	0,66332
	Kapiller	5	2,00	5,00	3,4000	1,14018	0,50990
14.gün	Epitelyum Kalınlığı	5	111,12	120,77	115,0960	4,36366	1,95149
	Keratinizasyon	5	11,91	28,24	17,8880	6,56809	2,93734
	Papilla Derinliği	5	72,50	76,14	73,6320	1,45281	0,64972
	Papilla Filiformis	5	88,33	100,13	96,8460	4,86075	2,17380
	Enflamatuar Hücre Sayısı	5	6,00	9,00	6,8000	1,30384	0,58310
	Kapiller	5	3,00	4,00	3,4000	0,54772	0,24495

Epitelin kalınlıklarını karşılaştırdığımızda;

1. Epitelin total kalınlığı normal grupta 84.90 µm iken, diyabetin 7.gününde 98.63 µm ve 14.gününde 115.09 µm kalınlığına ulaşmıştı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı.(Tablo 1 ve 2).
2. Keratinize tabakanın kalınlığı normal grupta 12.30 µm iken, diyabetin 7.gününde 12.70 µm ve 14.gününde 17.88 µm kalınlığına ulaşmıştı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.
3. Papilla derinliği normal grupta 54.80 µm iken, diyabetin 7.gününde 68.42 µm ve 14.gününde 73.63 µm kalınlığına ulaşmıştı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı .
4. Papilla filiformis uzunluğu normal grupta 134.71 µm iken, diyabetin 7.gününde 122.66 µm ve 14.gününde 96.84 µm uzunluğunda ve azalmıştı. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı.(Tablo-1).

**Tablo 2:Grupların istatistiksel karşılaştırması**

Parametreler	Gruplar	Çoklu Karşılaştırmalar (p<0,05)
Epitelyum Kalınlığı	(1) KONTROL	(2)(3)
	(2) 7.GÜN	(1)(3)
	(3) 14.GÜN	(2)(3)
Keratinizasyon	(1) KONTROL	ns
	(2) 7.GÜN	ns
	(3) 14.GÜN	ns
Papilla Derinliği	(1) KONTROL	(2)(3)
	(2) 7.GÜN	(1)(3)
	(3) 14.GÜN	(1)(2)
Papilla Filiformis	(1) KONTROL	(2)(3)
	(2) 7.GÜN	(1)(3)
	(3) 14.GÜN	(1)(2)
Enflamatuar Hücre Sayısı	(1) KONTROL	(2)(3)
	(2) 7.GÜN	(1)
	(3) 14.GÜN	(1)
Kapiller	(1) KONTROL	ns
	(2) 7.GÜN	ns
	(3) 14.GÜN	ns

ns(non-significant) ; p>0,05

**Tablo 3: Bağ Dokusuna Ait Kollogen Yapıların durumu**

Kollagen Doku Değerleri	Gruplar			Toplam
	Kontrol	7.gün	14.gün	
Normal	3(%60)	0	0	3(%20)
Orta	2(%40)	3(%60)	0	5(%33,3)
Zayıf	0	2(%40)	1(%20)	3(%20)
Çok Zayıf	0	0	4(%80)	4(%26,7)
Toplam	5(%100)	5(%100)	5(%100)	15(%100)

Chi-Square=15,6 ; p=0,0161

Bu çalışmada diyabet oluşturulduktan sonra, ayrıca inflamasyon hücre sayısı, kapillerin sayısı, dilatasyon durumları ve bağdokusu fibrillerin durumları incelenmiş ve şu sonuçlara ulaşılmıştır. Diyabet grubunda kontrol grubundan daha yüksek seviyede inflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğu tespit edildi ve bu fazlalık istatistiksel olarak anlamlıydı. Önemli bir bulgu da diyabetli grubun damarlarında dilatasyon mevcuttu. Aynı zamanda bağdokusu fibril yapısı bozulmuştu (Tablo-2,3 ).

### Tartışma

Dünya sağlık örgütünün (WHO) 2011 yılında yayınladığı rapora göre, dünyada yaklaşık 346 milyon diyabet hastasının olduğu ve bu rakamın 2030 yılında yaklaşık 439 milyona yükseleceğini tahmin edilmektedir (10).

Diyabet prevalansındaki bu dramatik artış, genetik faktörler yanında yaşam süresinin uzaması, obezite ve fiziksel inaktivitenin önemli bir sonucu olduğu ileri sürülmektedir (11).

Teknolojik ilerlemelerle birlikte yaşam süresinin uzaması, diğer bazı faktörler sebebiyle dünyadaki diyabet hastalarının sayısındaki artış nedeniyle, diyabet ve komplikasyonları hakkında bilimsel çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Bu araştırmaların konularından biri de diyabetin oral komplikasyonları ile ilgilidir. Bunun içindir ki biz de böyle bir çalışma yapmayı planladık. Böyle bir çalışma yapmamızın nedeni, acaba streptozotocin-diabetic ratların dillerinde morfolojik olarak ne tür değişiklikler meydana gelir ki, mekanik kuvvetlere karşı hassas ve inflamasyona daha yatkın hala gelebileceğini araştırmaktır.

Bu çalışmamızda ratlara streptozotocin verilerek diyabet oluşturulmuştur. Yani deneysel diyabet oluşturularak yapılmıştır.

Araştırmacılar (12), Ratların kısa üretim süreleri, kolay kullanımı ve diğer türlerden göreceli olarak daha düşük maliyet avantajlarına sahip oldukları için, bu tür histolojik çalışmalarda ratları tavsiye etmektedirler. Bunun için biz de, çalışmamızda rat kullanmanın uygun olacağı kanısına vardık ve çalışmamızda ratlar kullanıldı.

Çalışmamızda dildeki inflamasyonu değerlendirmek amacıyla dildeki inflamatuvar hücre infiltrasyonu da bir kriter olarak kullanılmıştır. Verilerimiz diyabet grubunda kontrol grubundan daha yüksek seviyede inflamatuvar hücre infiltrasyonu olduğu göstermektedir.

Salvi ve ark.(13), bizim bulgularımızı destekler nitelikte, diyabetik bireylerde diyabetik olmayanlara kıyasla inflamatuvar uyarılara karşı doku cevabının daha erken gelişebileceğini bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda diyabetin periodontal hastalığın varlığında inflamasyonun başlıca belirtilerinden olan damarlanma ve kanlanmada artışa neden olduğu belirtilmiştir (14,15). bizim çalışmamızda, diyabet oluşturduktan sonra ratların sağlıklı dillerinde bile kapiller damar sayılarında artış ve damarlarda vazodilatasyon oluştuğunu tespit ettik. Bu bulgularımız yukardaki araştırmacıların bulgularını desteklemektedir.

In 2008, Silva JA *et al.* (16),diyabetlerde gingival epiteliumde hücreler arası boşluklarında artış olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda diyabet grubunda kontrol grubuna göre dil epiteliumunda hipertrofi tespit ettik. Bu bulguda silva ve arkadaşlarının çalışmasını desteklemektedir.

Aynı araştırmacılar, bağ dokusu kollagen yapısında azalmalar ve kollagen fibril yapısında bozulmalar olduğunu belirtmişler. Bizim çalışmamızda da bu araştırmacıların bulgusuna benzer şekilde kollagen fibrillerinde düzensizlik ve azalma tespit ettik. Bizce bu önemli bir bulgudur. Diyabette bağ dokusu fibril yapısında bozulma ve kollagen sentezinde azalma meydana gelebileceğini fikrini desteklemektedir.

Diyabete bağlı olarak dil dokusunda ortaya çıkan morfolojik değişiklikler ve damarlardaki değişiklik doku direncini olumsuz yönde etkileyebilir. Yine tespit ettiğimiz bağ dokusundaki kollagen fibrillerindeki azalma da, diyabetin dilde lezyon oluşumuna yatkınlığa neden olabileceği ve yara iyileşmesindeki gecikmelerin sebebi olabileceği fikrini desteklemektedir.

Sonuç olarak ; bulgularımız bir bütün olarak değerlendirildiğinde diyabetik koşulların dildeki inflamasyon ve doku yıkımını indükleyebileceğini net bir şekilde gösterdiği söylenebilir. Ancak, kullandığımız model deneysel

bir hayvan modelidir ve diyabet geri dönüşümsüz olarak oluşturulmuştur. Yine de çalışmamızın, halen tüm dünyada tartışılan bir konu olan, diyabet ve oral komplikasyonlarından olan dil üzerindeki etkisi ile morfolojik yapısını etkileyebileceği fikrini desteklemektedir.

## Kaynaklar

1.Hand AR , Weiss RE (1984). Effects of streptozotocin-induced diabetes on the rat parotid gland. *Lab Invest* ;51:429-440.

2.Guggenheimer J, Moore PA, Rossie K et al.(2000). Insulindependent diabetes mellitus and oral soft tissue pathologies:1.prevalence and characteristics of noncandidal lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* , 563,9-89.

3. Farman AG (1976). Atrophic lesions of the tongue: a prevalence study among 175 diabetic patients. *J Oral Pathol. Sep*;5(5):255-64.

4. Wysocki GP, Daley TD (1987). Benign migratory glossitis in patients with juvenile diabetes. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol. Jan*;63(1):68-70.

5. Grushka M, Epstein JB, Gorsky M (2002). Burning mouth syndrome. *Am Fam Physician. Feb*;65(4):615-20.

6. Ship JA (2003). Diabetes and oral health: An overview. *J Am Dent. Assoc*,134,4-10.

7. Henkin RI, Schechter PJ, Hoyer R, Mattern CF(1971). Idiopathic hypogeusia with dysgeusia, hyposmia, and dysosmia. A new syndrome. *JAMA. Jul*;217(4):434-40.

8.Park JJ, Kang KL (2012). Effect of 980-nm GaAlAs diode laser irradiation on healing of extraction sockets in streptozotocin-induced diabetic rats: a pilot study. *Lasers Med Sci* 27:223–23

9. Kirchner LM, Meerbaum SO, Gruber BS, et al (2003). Effects of vascular endothelial growth factor on wound closure rates in the genetically diabetic mouse model. *Wound Repair Regen* ; 11: 127–31.

10.Chapple ILC, Genco R, and on behalf of working group 2 of the joint EFP/AAP workshop (2013). Diabetes and periodontal diseases: consensus report of the Joint EFP/ AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Periodontol* ;84(4 Suppl.):S106-S112

11. Hossain P, Kavar B, El Nahas M (2007). Obesity and diabetes in the developing World a growing challenge. *N Engl J Med* ; 356(3):213-5.

12. Kobayashi M, Kweon MN, Kuwata H et al (2003). Toll-like receptor-dependent production of IL-12p40 causes chronic enterocolitis in myeloid cell-specific Stat3-deficient mice. *J Clin Invest* ;111:1297–1308.

13. Salvi GE, Beck JD, Offenbacher S (1998). PGE2, IL-1  $\beta$ , and TNF- $\alpha$  responses in diabetics as modifiers of periodontal disease expression. *Ann Periodontol. Jul*;3(1):40-50.

14. Frantz TG, Reeve CM, Brown AI (1971). The ultrastructure of capillary basement membrane lamina thickness in the normal and inflamed gingiva of diabetics and nondiabetics. *J Periodontology* ;42:406-411.

15. Gül N, Özsoy N (2003). The ultrastructure of the capillaries in the gingiva of alloxan-induced diabetic rats. *Cell Biochem Funct* ;21:311-315.

16. Silva JA, Lorencini M, Reis JR, Carvalho HF, Cagnon VH, Stach-Machado DR(2008). The influence of type I diabetes mellitus in periodontal disease induced changes of the gingival epithelium and connective tissue, *Tissue Cell*, 40(4):283–292.

**Yazışma Adresi: Prof. Dr. Ahmet DAĞ**

Dicle Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
Periodontoloji Anabilim Dalı Diyarbakır  
e-mail: adag@dicle.edu.tr