

T.C.
Marmara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Ağız Diş Çene Hastalıkları ve
Cerrahisi Anabilim Dalı

STREPTOZOTOCİN İLE DENEYSEL DİYABET
OLUŞTURULAN SIÇANLARIN ÇENE KEMİKLERİNDEKİ
DEĞİŞİMLERİN HİSTOPATOLOJİK İNCELEMESİ

DOKTORA TEZİ

Dişhekimii
İMAD MUHAMMED SALİH

Danışman
Prof. Dr. Övün Güvener
M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi
Ağız Diş Çene Hastalıkları ve
Cerrahisi Anabilim Dalı

istanbul 1992

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
MATERYEL VE METOD	29
BULGULAR	34
TARTIŞMA VE SONUÇ	48
ÖZET	62
SUMMARY	64
KAYNAKLAR	66

I . GİRİŞ VE AMAÇ

Organizmada bir çok sistemleri etkileyen Diabetes mellitus'un oral kavitede ve buna yakın bölgelerde de birtakım dejeneratif etkiler oluşturduğu saptanmıştır.Ve bu konuda yapılan araştırmaların ışığında ortaya çıkan genel görüőe göre, insüline bağımlı diyabetiklerde çürüőe eğilim artmıştır. Araştırmalar sıçanlarda hiperglisemi ile çürük artışı arasında çok yakın bir ilgi olduğunu göstermiştir.Diyabetik çocuklar da süt dişlenmeden daimi dişlenmeye geçerken normal popülasyondan farklılık göstermiştir. Süt dişlerinin kaybindan sonra daimi dişlerin sürmesinde gecikme gözlenmiştir.Ayrıca ,süt dişlerinin pulpa veya periapikal dokularında oluşan lezyonlara ve periodontal kemiğin aşırı yıkımına bağılı olarak erken çekime gidilmiştir (57,61,67).

Kontrol edilmeyen ya da tanı konulmamış diyabetli hastaların periodontal dokularının sağlıklı olmadığı ortaya çıkmıştır.Bu hastalarda apse oluşumuna karşı dirençsizlik , genişlemiş ve hiperemik dişeti,dişeti polipleri,gingival proliferasyonlar, ataşman kaybı ve lukse dişler söz konusudur. Periodontal

değişikliklerin şiddeti hakkında yapılan çalışmalara göre diyabetiklerde periodontal hastalıkların sabit bir devamlılık göstermediği anlaşılmıştır, çok çeşitli gingival enflamasyon, derin periodontal cepler ve nadir oluşan periodontal apseler, ağız hijyeni kötü diyabetiklerde görülmüştür. Diyabetiklerde gingival likidin glikoz miktarı diyabetik olmayanlara göre daha yüksektir, likiddeki artmış glikoz miktarı ve diyabetiklerin kanı, mikrofloranın durumunu değiştirir. Bakterilerdeki kalitatif değişiklikler periodontal hastalığa sebep olabilir. Yine bir çalışmada kan-glikoz düzeyleri normal limitlerde tutulmuş genç diyabetik hastalarda periodontal tedaviye iyi yanıtlar alınmıştır (1,17,37,61,65,66).

Görüldüğü gibi hiperlipemi oral kavitedeki fizyolojik olayları önemli ölçüde etkilemektedir. Hiperlipeminin kemik metabolizmasına ne derece yansıdığına dair çok fazla çalışma yoktur. Yapılan çalışmalar daha ziyade diyabetiklerde kemik mineralizasyonu ve kollagen doku değişimi üzerindedir. Bu çalışmalardan diyabetin kemik dokusunu da etkilediği anlaşılmaktadır. Organizmada kemik yapımı ve rezorbsiyonu hem metabolik hem de hormonal dengenin aksamadan çalışmasına bağlıdır. Bir çok metabolik hastalık gibi diyabet de dengeyi negatif yönde bozarak yaygın ve düzensiz bir kemik rezorbsiyonuna neden olabilmektedir. Kontrolsuz diyabete bağlı oluşan böyle bir patoloji sonunda gelişen osteopeninin oral cerrahi yönünden önemli olacağı düşünülebilir. Nitekim bu tür hastaların oral muayenesinde diş çürüğüne ve periodontal

dokuların yıkımının artmasına ilave olarak alveol kemiğinde osteoporoz ve redüksiyon görülmektedir (57,66).

Yaptığımız literatür taramasında diyabetiklerde kemik dokusunun histopatolojik yönden incelenmesine rastlayamadık, bu nedenle bu çalışmada STZ ile deneysel diyabet oluşturduğumuz hayvanların mandibula kemiğinde kısa süreli diyabete bağlı oluşabilecek patolojik değişimleri incelemeyi amaçladık.



II . GENEL BİLGİLER

II.1 DiABET'in OLUŞUMU

Diabetes mellitus çocukluk çağından itibaren yaşamın herhangi bir döneminde başlayabilen , kronik seyreden , yaşam boyu süren ve beraberinde birçok sistemik komplikasyonları da getiren dejeneratif bir hastalıktır. Bugün için bu hastalığın nedeni insülinin olmayışına , eksik oluşuna ya da periferdeki etkinliğinin zorlaşmasına bağlanmaktadır (7,27,31,56).

En sık rastlanılan diyabetes tipi insüline bağımlı olmayan erişkin tip diyabettir (İBOD). Çeşitli istatistikler bu tip diyabetin sıklığının toplam nüfusun %1-%5'i arasında değiştiğini göstermektedir. Bu olayda genetik faktörlerin etkisinden söz edilmektedir. Genetik geçen kusur , pankreas adacıklarındaki β hücrelerinin glikozu tanıma ve buna insülin salınımı ile cevap verme yeteneğinin azalması olabileceği gibi , β hücrelerinin kendini yenileme yeteneğinin azalması da olabilir. Sıklıkla genetik kusur üzerine eklenen bir faktör olan şişmanlık Diabetes mellitus'un artaya çıkmasına yol açar. Bu tip diyabet vakalarının büyük çoğunluğu şişmandır, şişmanlık insülin ihtiyacını bir kaç kat artırabilir.insüline bağımlı olmayan, yani erişkin tip Diabetes mellitus'un başlıca klinik özellikleri şunlardır: genellikle kırk yaş civarında başlaması, hastaların genellikle şişman oluşu, glikozüri, poliüri, xerostomia,

polidipsi, polifaji en önemli belirtileridir. Bu tip diyabet'te insülin salgılanması normaldir, fakat hedef dokulara çeşitli nedenlerle insülin ulaşamamaktadır (7,28,49).

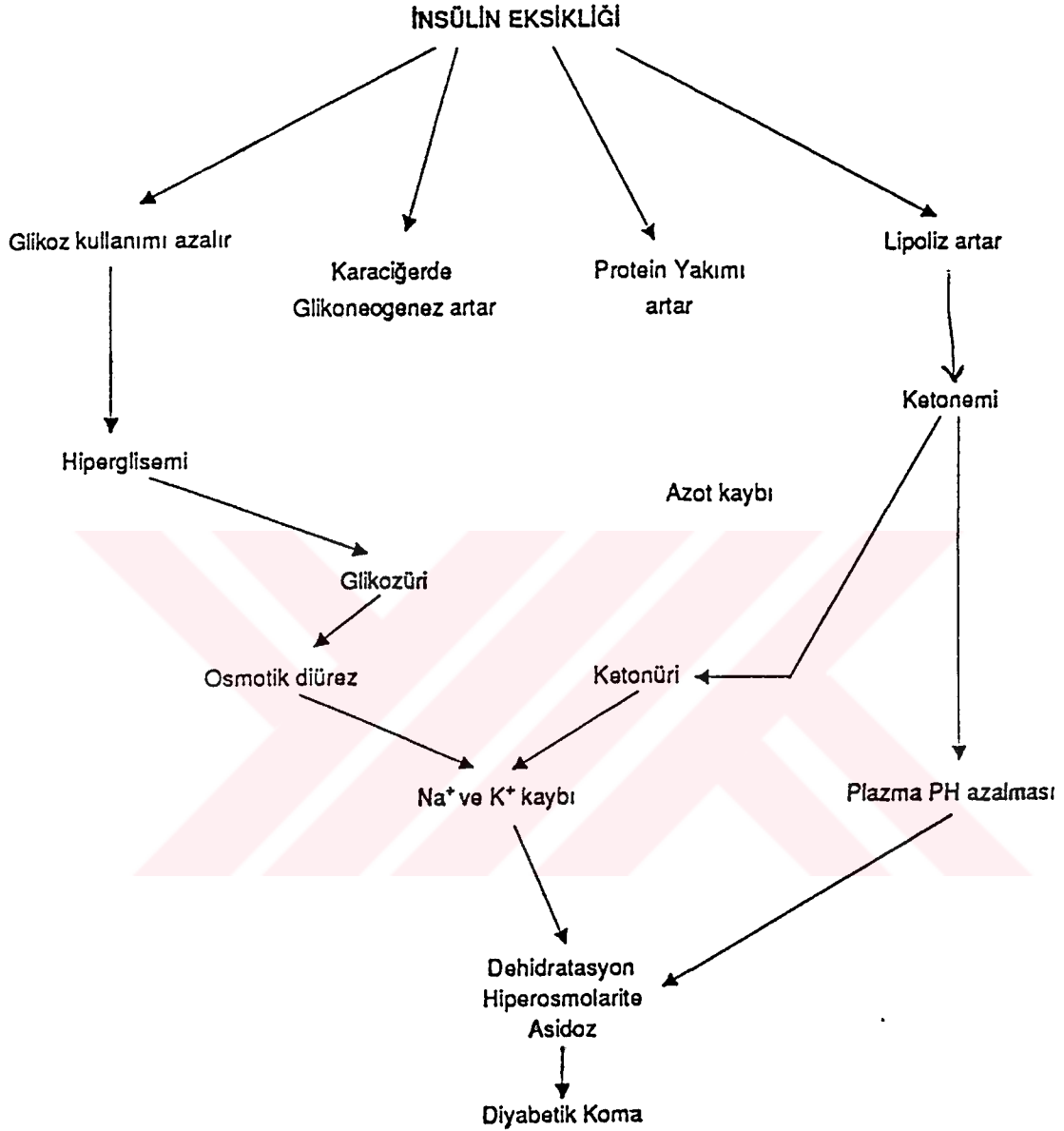
insüline bağımlı Diabetes mellitus (İBD) , insüline bağımlı olmayan diyabet'den daha seyrek ve burada da bir genetik yatkınlık söz konusudur. Genetik geçişin HLA (insan lökosit antikorları) tipleri, yani doku grupları ile ilgisi vardır. Bu hastaların özgeçmişi alındığında % 10'unun diyabetli ebeveynlere sahip oldukları ortaya çıkar. Fonksiyonel olarak İBD insülinopeni ile karakterizedir. Pankreasın primer kusuru nedeniyle insülin hiç salgılanmayabilir. Pankreasın viral hastalığında veya kabakulak gibi viral hastalık geçiren bazı çocuklarda β hücre hasarı görülür. insülin sentezi, dolayısıyla salgılanması durmuştur. insüline bağımlı diyabet'te enfeksiyonlarla birlikte etyolojide otoimmünitenin rol oynadığı bilinmektedir. insülitis durumunda adacıkların çevresi lenfosit gibi mononükleer hücrelerle sarılmıştır. β hücreleri granüllerini kaybetmiştir. insüline bağımlı diyabetiklerin % 30-85'i arasında, insüline bağımlı olmayan erişkin diyabetlilerin ise % 10'unda adacık hücrelerine karşı antikor (ICA) bulunmuştur (7,31).

insüline bağımlı Diabetes mellitus genellikle 30 yaşın altında başlar, ortalama bir sayı vermek gerekirse on insüline bağımlı olmayan diyabet'e karşılık bir insüline bağımlı diyabet görülebilir, genel popülasyonda ise görülme oranı %0.2-0.5'dir. Klinik olarak kilo kaybı en önemli bulgularındandır.

Hasta, süratle ketoasidoz'a girebilir ve oral antidiyabetiklere cevap vermez (1,23).

insülin eksikliğinde sadece glikoz metabolizması değil, aynı zamanda lipid ve protein metabolizması da değişmektedir. Hiperglisemi glikozüri'ye sebep olur. Bu da osmotik diürezin sebebidir, dolayısıyla Na^+ , K^+ kaybı ve dehidratasyon söz konusu olabilir. insülin eksikliğinde glikoz kullanımı azalırken lipidlerin yıkımı da artar, bunun sonucu ise ketonemi ve plazma pH'sının azalması olur yani asidoza gitmesidir. Diğer taraftan hiperglisemiye bağlı olarak osmotik diürez meydana gelir, idrar volümü artar ve buna paralel olarak elektrolitler (Na, K, Cl, Ca, Mg, fosfat ve azot) boşaltımı olur. Bunların sonucu olarak interselüler sıvı hücre dışına çekilir, bu durum konjestif kalp yetersizliğine sebep olacağından kontrolsuz diyabetiklerde hiperosmolalite ve ketoasidoz koması diyabetiklerin en ağır ve acil komplikasyonlarındanndır. Şekil 1'de insülin eksiliğinde karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmasında görülen değişimler ve sonuç görülmektedir (22,31).

Diyabetin çeşitli organlarda neden olduğu patalojik değişiklikler, bu konuda morfolojik ve klinik yönden birçok araştırmanın yapılmasına yol açmıştır; çünkü ortaya çıkan değişiklikler hasta bireyin kendi vücut sisteminde birtakım olumsuzluklar oluşturduğu gibi toplum ilişkilerini, uyumunu ve birlikteliğini de yine olumsuz yönde etkilemektedir (22,44).



Şekil 1: insülin eksikliğinde metabolizmada görülen değişimler

II.2 GENETİK FAKTÖRLER

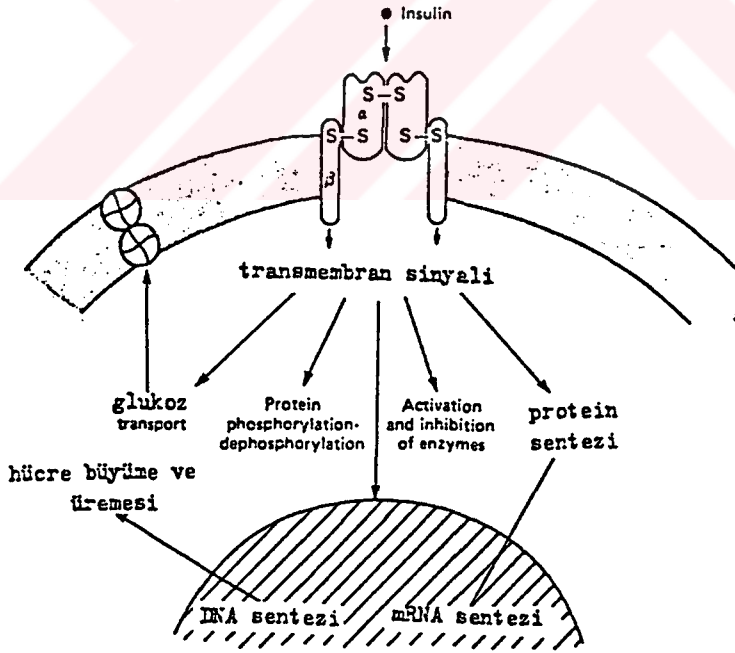
Diyabetin kalıtımla ilgili olup olmadığını anlamak için bir çok çalışma yapılmıştır. Sıçanlarda yapılan genetik çalışmalarda diyabetik etkiyi oluşturan virüsün otozomal resessif şekilde tek bir genle taşındığı anlaşılmıştır. Bundan başka β hücreleri izole edilmiş kültürler yapıldığında diyabetik genin etkisinde reseptörlerin yüzeyine bağlı olarak azalma gözlenmiştir. Diyabette kalıtım faktörlerini etkileyen faktörler HLA, otoimmünite, virüs hastalıkları ve adacık hücre antikoru olarak kabul edilmiştir (22,68,72).

Lökositlerin özel bir tipi olan insan lökosit antikorularına (HLA) sahip olan bir canlıda bazı özel ajanlara (virüs) bağlı olarak oluşan enfeksiyon sonucu insüline bağımlı diyabet oluşur. Bu olaylar β hücrelerinden oluşan otoantikoru yapımı ile hızlanır. Buna alternatif olarak membran reseptörü ile virüs arasındaki münasebet sonucu yeni bir antijen oluşarak β hücrelerini parçalar (1,32,44,72).

II.3 İNSÜLİN'İN ETKİSİ

insülinin çevre dokularda etkili olmasında rol oynayan başlıca faktörlerden biri insülin reseptörleridir. Hücrenin membranında bulunan insüline özgü reseptörlerle hormon reseptör kompleksi oluşur. Bu sinyal, hücre içinde, ikinci bir haberci görevini yapan c-AMP aracılığıyla iletilir. Hormon reseptör bağlanması reversibldır ve doyma noktası vardır, yani bağlanma

sınırsız değildir. Dolayısıyla reseptör sayısı genetik olarak belirlenmiştir. Reseptörlere bağlanmada krom gibi ortamdaki iyonların etkisi vardır. Şişmanlarda yağ hücrelerinin büyümesi sınırlı sayıdaki reseptörlerin artmasına neden olmaz, bu da insülinin çevre dokularda etkili olmamasının nedenlerinden biridir. Çünkü yağ hücreleri arttıkça membranlarındaki reseptör yoğunluğu azalır. Kimi diyabetiklerde hücre membranında mevcut olan reseptörlerde moleküler bir defekt olabilir. Bu durumda glikoz hücre içine girmez. Şekil 2'de insülinin hücreye etkisi ve hormon reseptör kompleksi oluşuktan sonra hücre içindeki çeşitli fizyolojik cevaplar görülmektedir (31,48,56).



Şekil 2: insülin ve insülin reseptörü arasındaki ilişki

insülin , β hücrelerinin endoplazmik retikulumu boyunca yerleşmiş ribozomlarda , proinsülin adı verilen bir ön molekül olarak sentez edilir , insülinin kan akımına salınımı proinsülin moleküllerinin oluşturduğu granüllerin membranının hücre membranı ile kaynaştığı ekzositoz süreci ile gerçekleştirilir. Salınımın en etkili maddesi glikozdur , glikoz sadece salınımı stimule etmekle kalmaz aynı zamanda bazal sekresyon hızının düzenlenmesinde de rol oynar. Bu olay için ortamda kalsiyumun bulunması gerekmektedir.insülin sekresyonu ortamdaki kalsiyum ile doğru orantılı olarak artar (31,60).

Aminoasitler (özellikle arginin) insülin salınımını uyarırlar, ancak etkili mekanizmalar tam olarak açıklanamamakla beraber yağ asitlerinin de etkisinden söz edilmektedir.

Diğer hormonların da insülin salınımını uyardığı gösterilmiştir; örneğin gastrointestinal hormonlar gastrin, sekretin gibi. insülinin ana etkisi kan glikoz konsantrasyonunu düşürmektir. Yeterli insülin deposuna sahip normal kişilerde arteriyel kan glikoz düzeyi genellikle 4.2 - 6.3 mmol/litre ya da 80 - 120 mg/100 ml arasında bulunmaktadır (31,56).

II.4 DiABETİN KRONİK KOMPLİKASYONLARI

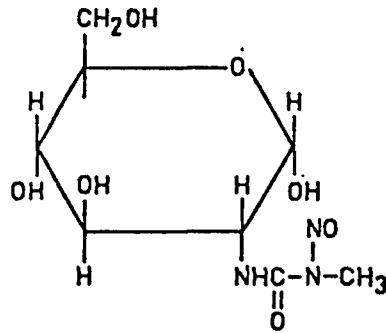
Diyabetin komplikasyonunda çok sayıda morfolojik, biokimyasal ve fonksiyonel bozukluklar (morbidite ve mortaliteye neden olan) oluşur. En belirgin biokimyasal bulgular karbonhidrat metabolizmasını ilgilendiren hiperglisemi ve

glikozüri olmakla birlikte protin ve yağ metabolizmasında da bozukluklar gelişir. Diyabet, insülin salgılanmasında ağır bir yetersizlik sonucu gelişmişse ve tedavisiz kalırsa Şekil 1'de görüldüğü gibi metabolik bozukluklar hızla diyabetik keto-asidoz denilen ağır bir biokimyasal ve klinik tabloyla ilerler ve acil olarak tedavi edilmesi gereken durum ortaya çıkar. Uzun dönemde ise insülin eksikliğinin nisbi olduğu veya insülinin periferik etkinliğinin azalmış olduğu vakalarda periferik sinirlerde, otonom sinirlerde, küçük damarlarda ciddi komplikasyonlar gelişir ve diyabetik kimseler ateroskleroza, doğum komplikasyonlarına, enfeksiyonlara diğer kimselerden daha çok eğilimli olurlar. Küçük damarların, arterlerin ve sinirlerin tutulmasına bağlı olarak organların anatomisini ve fonksiyonlarını ciddi şekilde bozan lezyonlar gelişir. Kanda hiperglisemi dolayısıyla hücrelerde glikoz eksikliği çeşitli organlarda farklı klinik belirtiler gösterir. Beyinde glikoz eksikliği ve bunun sonucu olarak ketoasitlerin birikimi beyin hücrelerinin fonksiyon yapmaması "koma" hali demektir. Göz dokusunda retinopati, gebelikte büyük bebek insidansında artış, düşükler, neonatal ölümler, konjenital defektlere yol açar. Sinir sisteminde nöropati, böbreklerde nefropati görülür. Vasküler sistemde glikozun damarlarda birikmesi mikroanjiopatiye neden olur. Buna bağlı olarak başta kalp hastalıkları olmak üzere damar sistemine bağlı bozukluklar görülür (7,9,16,27,28, 30,47,49,71,77).

Hipergliseminin ağızda gingivitis, diş çürüklerinde artış, periodontal hastalıklar ve alveol kemiğinde resorbsiyon yaptığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (1,21,61,66).

II.5 DiABET YAPAN AJANLAR

Hayvanlarda deneysel diyabet oluşturmak amacıyla bugün en çok kullanılan diyabetojenik ajanlar Streptozotocin ve Alloxandır. Streptozotocin (STZ) Alloxandan daha az toksiteye sahip olup, β hücreleri üzerinde daha selektif bir özelliğe sahiptir. Ayrıca STZ ile oluşturulan deneysel diyabet modeli insanda meydana gelen diyabete çok benzemektedir. Dolayısıyla STZ, Alloxandan daha kullanışlıdır. STZ ilk kez 1959'da bir mantar türü olan streptomyces achromogenes'in kültüründen elde edilmiştir. Bu kültürlerden STZ eldesi güç olduğundan daha sonraları sentetik olarak elde edilmeye başlanmıştır. Molekül yapısı ise aşağıdaki gibidir (14,26,42):



STZ antibakteriyel bir madde olarak bildirilmiştir ve bu ilacın antitümoral, tümörojenik ve diyabetojenik etkileri üzerine pek çok araştırma yapılmıştır. Bizim çalışmamızı ilgilendiren diyabetojenik etkisidir. STZ ile kalıcı ya da nisbeten kalıcı

denilebilecek hiperglisemi yaklaşık 24 saat içinde meydana gelir.STZ verilmesinden sonra kan şekerinde üç devreye ayrılabilen bir cevap görülür.Bu üç devre şu şekildedir:STZ enjeksiyonundan sonra 1-2 saat içinde hiperglisemi görülür,bundan sonra 6-12 saatleri arasında belirgin bir hipoglisemi izlenir,yaklaşık olarak 18-24 saatleri arasında da kalıcı bir hiperglisemi meydana gelir (6,41,64).

Genel olarak STZ'nin pankreas üzerindeki etkilerinin en önemlisi Langerhans adacıklarındaki β hücrelerine olan etkisidir,bu etki sonucu oluşan morfolojik değişmeler çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir.

STZ enjeksiyonundan sonra oluşan diyabet iki saat süresince reversibldır.Eğer bu süre zarfında nikotinamid (NAD) verilirse STZ'nin diyabetojenik etkisinin inhibe olduğu gözlenmiştir.Böylece STZ'nin β hücrelerinde NAD seviyesini azaltarak etki ettiği anlaşılmıştır (12,41,75).

STZ'nin etkisi ile meydana gelen diyabetin şiddeti verilen doza ve deney hayvanlarının türüne bağlıdır.10-20 mg/kg STZ dozlarının kan glikozunda önemli değişikliğe sebep olmadığı, 20mg/kg'dan daha büyük dozların kan glikozunda ilerleyici artışa sebep olduğu gösterilmiştir.Kan glikozunu en yüksek düzeye çıkartan STZ dozu genellikle 65 mg/kg'dır.Bunun üzerindeki dozlarda STZ verilmesi kan glikozunda önemli farklılıklar meydana getirmemektedir (33).

STZ'nin diğer dokularda da yaptığı değişimler çeşitli çalışmalarla değerlendirilmektedir (2,4,20,43,51).Fakat deneysel veriler β hücrelerinde seçimli bir birikim yaptığını gösterir.Bunun nedeni ise β hücresinin özelliğine bağlı olabilir. β hücrelerinde hücre içi pH'nın değişik olması, β hücrelerinde hücre içi ve hücre dışı glikoz konsantrasyonlarının farklı oluşu, β hücrelerinde glutatyon düzeylerinin önemi, β hücrelerinin indirgen gücünün durumu bugün etki mekanizmasını anlamak için yapılan çalışmalar arasındadır. Yapılan alışamalardan β hücresinde dehidrojenaz ve koenzimlerinin düşük konsantrasyonda olduğu görülmektedir.Bu durum STZ'nin bu dokuda daha etkili olmasını kolaylaştırır.Zaten düşük olan koenzim düzeyi daha da hızlı bir şekilde azaldığı için β hücresi insülin salgısını yapamamaktadır.

III . KEMİK YAPISI VE REGÜLASYONU

III.1 KEMİK YAPISI VE OLUŞUMU

Kemik organik matriks ve mineral matriks olmak üzere iki ana yapıdan meydana gelmiştir. Kemik mineralize olmuş bir bağ dokusudur. Bağ dokusu prensiplerine göre, bu sert doku lif ve ara maddeden oluşmuştur. Sertlik derecesi mine, dentin ve sementten sonra gelir. Kemikte organik matriksin kollagen, geri kalan kısım proteoglikan ve gamma-karboksiglutamik asit kapsayan proteinlerden ibarettir. Kemikğin mineral kısmı kollagen moleküllerinin özel bir biçimde toplu halde bulunduğu kollagen fibrillerinin içinde bulunur. İnorganik kısmın yerleşmesi ve oluşumu organik matriks tarafından yönlendirilir (18,38,50,70). Bu matriksdeki en önemli madde kollagenidir. Kollagen, en büyük kısmı kemikte olmak üzere, bağ dokusu, deri ve kıkırdakta bulunan fibröz bir proteindir. Güç çözünür. Bazı hayvanların sindirim kanalında kollageni hidroliz edebilen kollagenaz enzimi vardır. Kollagen ancak seyreltik asit ve alkalilerle kaynatılıp jelatine dönüştükten sonra suda kolayca çözünür. Çok sayıda kollagen tipi tarif edilmiştir fakat en iyi bilinenleri tip I, II, III, IV ve V olarak isimlendirilmiş olanlardır. Tip I dokuda en yaygın olanıdır. Kemik, dentin, tendon, kıkırdakta fazlaca bulunur. Fibroblast, osteoblast, odontoblastlar tarafından sentezlenir. Tip III kollagen de genellikle tip I'in bulunduğu yerlerde bulunur. Kollagenin yapısına giren başlıca aminoasitler

glisin (% 33-35),prolin (% 6-13) ve hidroksprolin (%9-17)'dir. Kollagen molekülünde amino ve karboksi terminali hariç hemen hemen her üç amino asidinden biri glisindir (39,69,76).

Kollagen fibrillerini oluşturmak için polimerize olan protein birimi tropokollagen molekülüdür. Molekül ağırlığı 100.000 olan üç kollagen molekülü urgan örgüsü oluşturacak şekilde bir araya gelerek 300.000 mol ağırlıklı tropokollageni oluştururlar. Tropokollagen oluşturan polipeptid zincirlerin kimyasal yapısındaki değişiklikler farklı kollagen tiplerinin ortaya çıkmasına neden olurlar. Her kollagen molekülünün amino asid dizilişi ayrı bir gen tarafından kontrol edilir (39,69).

Kollagen, omurgalıların dokularındaki hidroksprolinin hemen tümünü kapsamaktadır. Elastindeki az miktarda hidroksprolin hariç, başka bir hayvansal protein bu amino asidi anlamlı miktarda içermemektedir. Bu nedenle, hidroksprolin kollagen metabolizmasının incelenmesinde kullanılmaktadır. idrarla hidroksprolin atılımı ile kollagen metabolizmasındaki değişimlerin doğru orantılı olduğu bildirilmektedir (79).

Kemik ve dişlerin mineral maddesi iki kısımdan meydana gelmiştir:

1. Amorf kalsiyum hidrokspifosfat ($CaHPO_4$)
2. Hidrokspapatite çok benzeyen ve kemik apatiti denilen kristal yapı.Hidrokspapatitin bileşimi $3 Ca_3(PO_4)_2 Ca(OH)_2$ 'dir. Kemik apatiti bu yapıya ilave olarak küçük ve

değişken miktarlarda, özellikle Mg^{++} , Na^+ , CO_3 , sitrat ve florür iyonlarını ve eser miktarda diğer iyonları da kapsar (53).

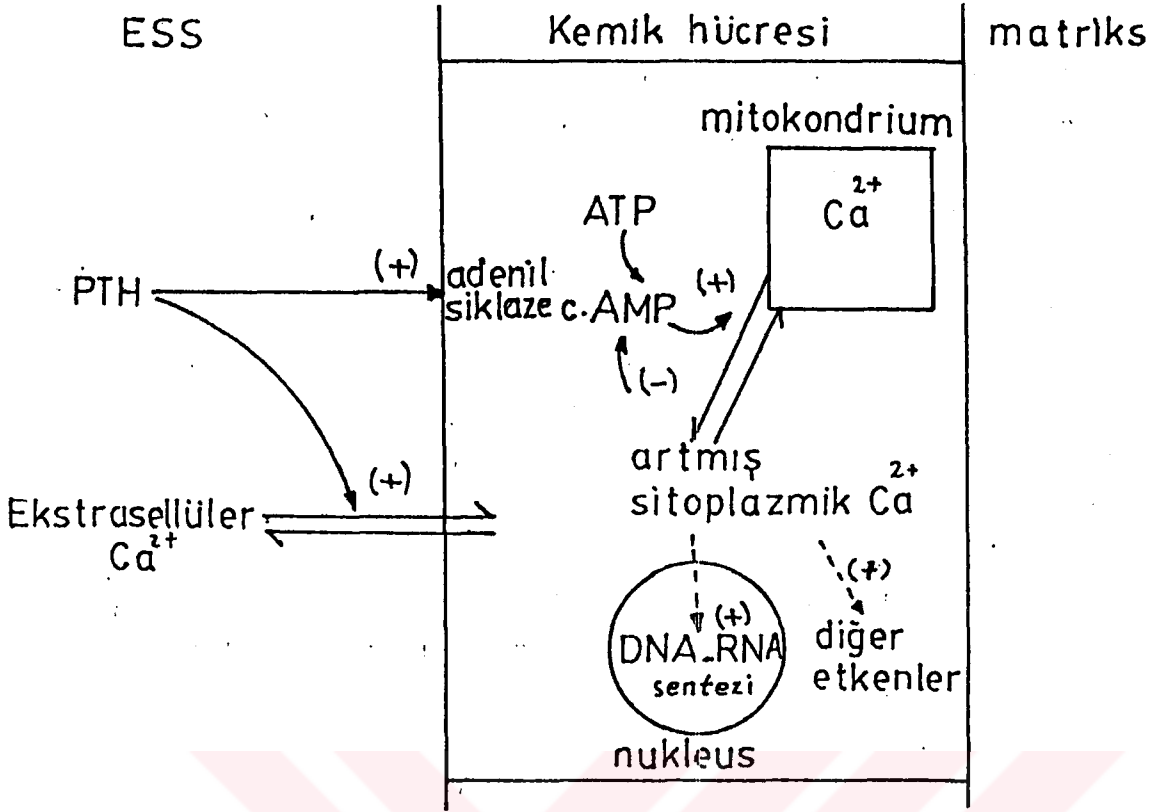
Kemik, dişlerin mineral yapısı içinde en önemli miktarda bulunan element kalsiyum'dur. Mineral matriksdeki kalsiyum, ekstraselüler sıvı iyonları ile denge halindedir. Ekstraselüler sıvıdaki kalsiyum total kalsiyumun sadece küçük bir kısmı olmasına rağmen fonksiyonları çok önemlidir ve büyük ölçüde sabit tutulur. Geri kalan % 1 oranında kalsiyum kanda üç şekilde bulunur: 1. Serbest iyon halinde (iyonize kalsiyum) 2. Plazma proteinine bağlı olarak, 3. Sitrat, oksalat gibi ufak inorganiklere bağlı bir şekildedir. Ekstraselüler sıvıdaki kalsiyum nöromüsküler aktiviteyi uyarır, membran permeabilitesini ayarlar, bir çok enzimlerin aktivitesi için gereklidir. Kalsiyum iyonu hücre içi için de çok önemlidir. Hücre içi fonksiyonlarda kalsiyum ikinci bir haberci görevindedir. Hücre içinde serbest kalsiyum artışı sekresyon, bölünme ve çeşitli hücre cevaplarından sorumludur. Bu nedenle kalsiyum hücre içi için de çok önemli bir mineraldir. Normal erişkinlerde bu miktar 9-11 mg/100 ml arasında sabit tutulur. Yetişkin bir insanda toplam olarak yaklaşık 25 mol (1kg) kalsiyum bulunur. Bu miktarın % 99'u kemiklerde yerleşmiştir. Normalde kalsiyum alımı ve atılımı denge halindedir. Yetişkin bir insanın günlük kalsiyum ihtiyacı 0,5 gram kadardır.

Kalsiyum absorpsiyonu ince barsaklarda homeostatik bir mekanizma ile hormonların kontrolünde gerçekleşir. Paratiroid

hormon (PTH) ve 1:25-dehidroksikolekalsiferol (1:25-DHCC) kemiklerde plazmaya kalsiyumu aktarmak, barsak emilimini sağlamak veya gerektiğinde fazla kalsiyumu kemiklere depo edebilmekte veya dışarı atmada fonksiyonu olan hormonlardır (8,58).

Kemikteki kalsiyumun bir kısmı stabil, çok az bir kısmı ise labil kalsiyum durumundadır. Labil kalsiyumun önemi büyüktür çünkü, ekstraselüler sıvıdaki serbest kalsiyum iyonları ile denge halindedir ve plazma kalsiyum düzeylerindeki ani değişimler için PTH'dan bağımsız hızlı bir tampon sistemi oluşturur. PTH, kemik hücreleri üzerine intraselüler kalsiyum konsantrasyonunu artıracak şekilde etki gösterir. PTH'nın bu etkisi iki yoldan olur. Birincisi, hücreye daha fazla kalsiyum girmesini sağlayacak direkt bir membran mekanizmasıdır. ikincisi, kalsiyum iyonlarının mitokondriyal depo bölgelerinde sitoplazmaya hareketini uyaran hücre içi cAMP konsantrasyonunu artırmaktır. Ayrıca hücre içinde artmış sitoplasmik kalsiyum RNA sentezinde rol oynamaktadır.

Şekil 3'de kemik hücresindeki kalsiyum metabolizması ekstraselüler ve intraselüler kalsiyum konsantrasyonundaki değişimlere PTH'nın etkisi görülmektedir (79).

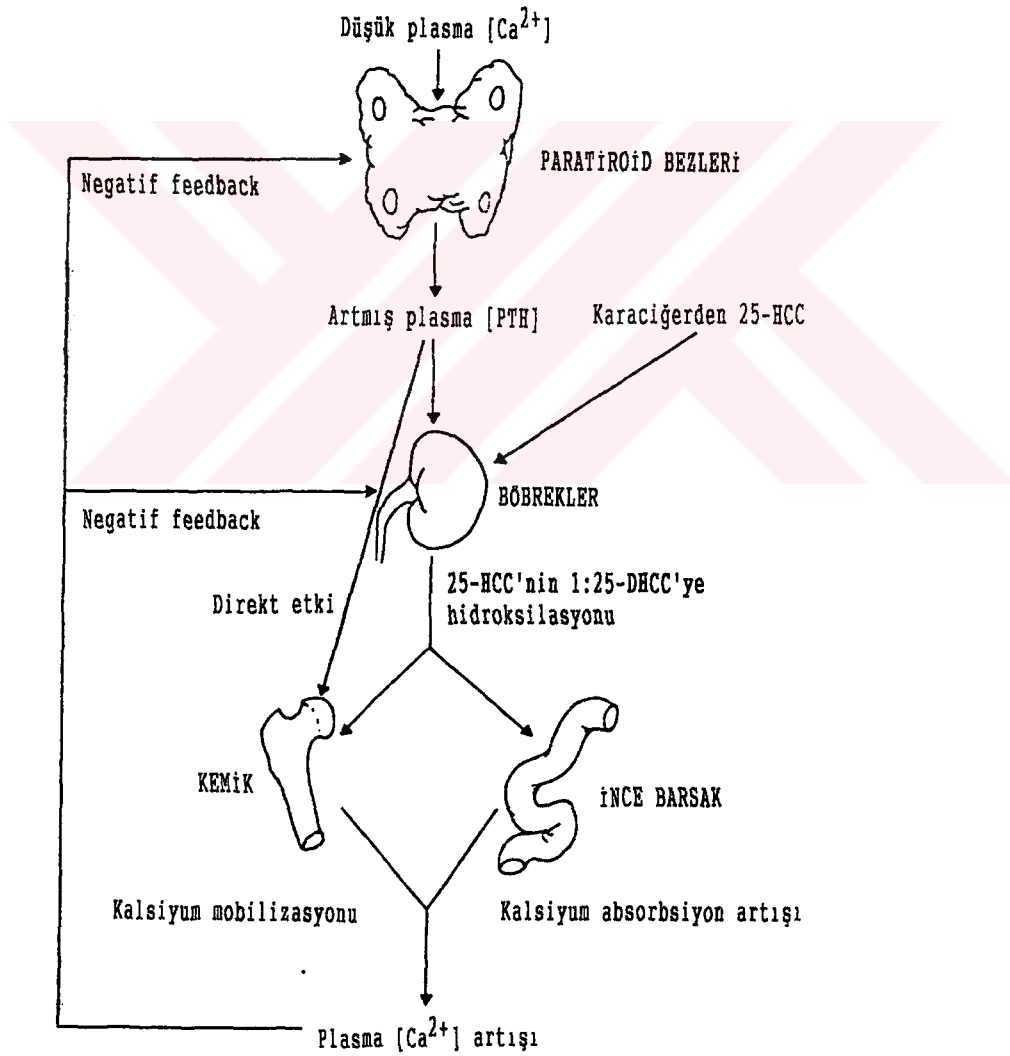


Şekil 3: PTH'un kemik hücresindeki metabolik etkileri

Trikalsitonin (TCT) ise kemik hücresinde sitoplasmik kalsiyumun konsantrasyonunu düşürecek şekilde etki gösterir. Trikalsitonin ayrıca kalsiyumun idrarla boşaltılmasını artırır ve $25(OH)D$ 'nin, $1:25(OH)_2$ 'ye dönüşümünü inhibe eder. Diğer elektrolitlerin boşaltımı da, kalsiyumun idrarla boşaltımını etkiler. Örneğin kalsiyum atılımı, sodyum atılımı ile orantılıdır. Sülfatlar gibi diğer iyonlar da kalsiyum boşaltımını artırır. Plazma kalsiyum seviyesi de TCT sekresyonunun düzenlenmesinde rol oynar. Plazma kalsiyum düzeyi 2.4 mmol/L (9.5 mg/100ml) üzerine çıkarsa, TCT sekresyonu da bununla orantılı olarak yükselir. TCT paratiroidlerden PTH salınımını uyarır (13,36).

D vitamini ve metabolitleri, paratiroid hücreleri tarafından kalsiyum tutulumunun direkt uyarımını sağlayarak PTH salınımını

inhibe eder. Plazma kalsiyum konsantrasyonlarındaki değişikliklere karşı paratiroid hücrelerinin verdiği cevap D vitamini ve metabolitleri tarafından düzenlenir. D vitamini vücutta bu fonksiyonlarını yapmadan önce hidroksilasyona uğrar. Bu işlem karaciğerde yapılır. Sonuç olarak D₃ vitamini (kolekalsiferol) 25-dehidroksikolekalsiferol (25-HCC) şeklinde karaciğerde aktifleşerek kalsiyumun böbreklerden absorpsiyonunu etkiler. Şekil 4'de kalsiyum homeostasisi görülmektedir (3,74).



Şekil 4: Kalsiyum homeostasisi; plazmadaki kalsiyum eksikliği durumunda oluşan hormonal cevap.

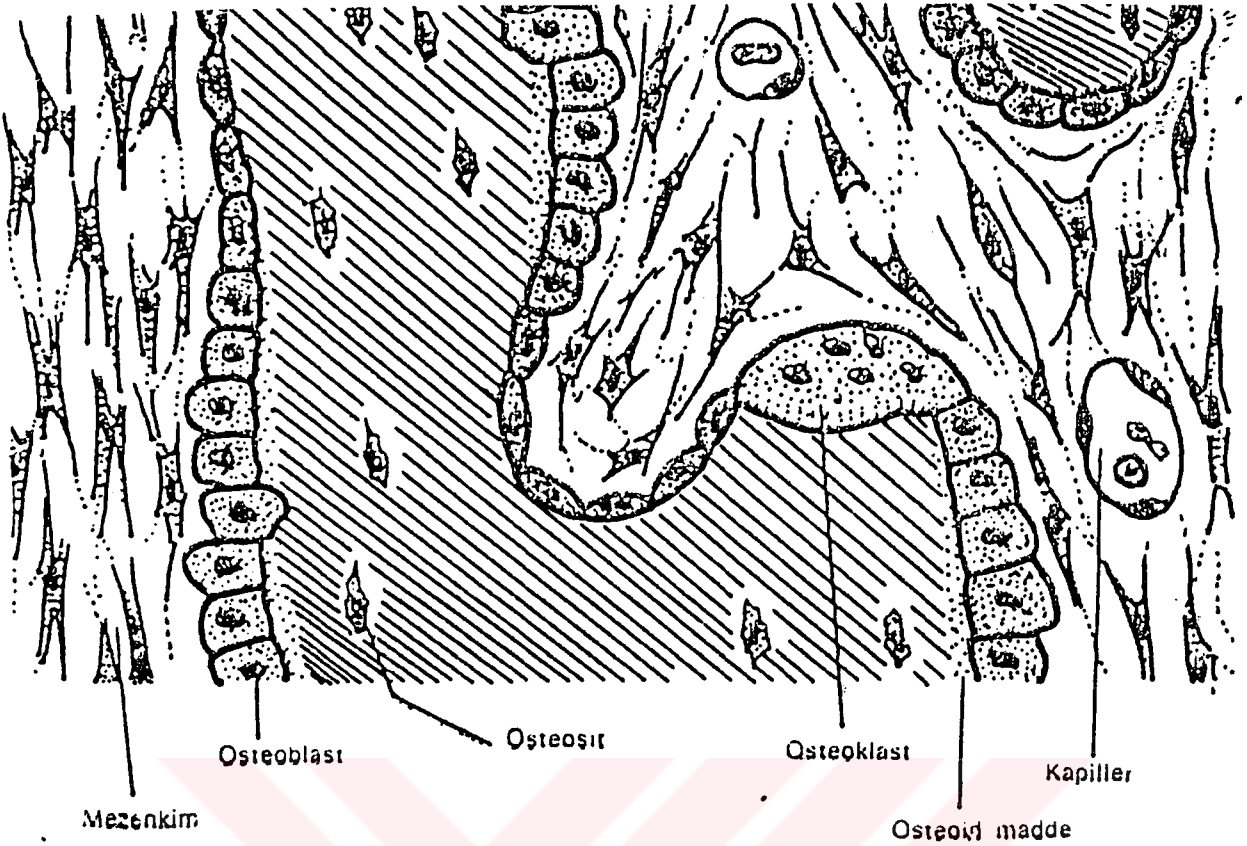
Kalsiyumdan sonra kemiğin mineral matriksinde görev alan en önemli element fosfordur. Bütün hücrelerde bulunan fosfor, hemen bütün metabolik reaksiyonlarda görev alır. Normal bir erişkinde bulunan toplam 1 kg fosforun yaklaşık % 85'i kemik ve dişlerde depolanmıştır. Fosforun emilimi de D vitamini ve metabolitlerinin kontrolündedir. Fosforun homeostasisinin sağlanması da böbrekler düzeyindedir. Diyetle alınan kalsiyumun çok az bir kısmının emilmeisine karşılık fosfor emilim büyük ölçüdedir. Diyetle alınan fosforun az olduğu hallerde bile alınan fosforun % 80-90'ı emilmektedir (3).

Kemik organik matriks sentezi yapan ve salgılayan mezenkimal bağ dokusu hücreleri tarafından oluşturulur. Mezenkimal bağ dokusu hücreleri, glikoprotein ve mukopolisakkaritlerden zengin jel kıvamında ara maddeden oluşur. Kemik oluşumu (osteogenesis) iki ayrı şekilde gerçekleşir. Birincisi desmal, yani doğrudan kemikleşme, ikincisi kondral, yani dolaylı kemikleşmedir. Desmal kemikleşmede mezenkimal bağ dokusunda yer yer damarlar çoğalır, daha sonra vaskülarizasyonu artan bu bölgede pluripotent mezenkim hücreleri, kemik yapımını üstlenecek osteoblastlara dönüşürler. Osteoblastlar kollageni sentezlerler. Osteoblast hücresi çevresindeki organik matriksin mineralizasyonu sonunda sert doku içinde hapsolür ve osteositlere dönüşür. Kondral kemikleşme genellikle uzun kemikler için söz konusudur. Buradan, önce ileride oluşacak kemiğin kıkırdak modeli yapılır, sonra bu kıkırdak modeli kemiğe dönüşür. Erişkinlerde epifizler kapandıktan sonra, uzunlamasına gelişim ve enkondral kemik

oluşumu ortadan kalkar sadece eklem yüzeyinin altındaki kıkırdak hücrelerinde çok az bir aktivite görülür; buna rağmen erişkinlerde bile kemiğin yeniden biçimlenmesi yaşam boyu süren bir olaydır (50,70).

Gerek desmal gerekse kondral kemikleşme sonucu bazı araştırmacıların embriyonal kemik adını da verdikleri kaba lifli düzensiz kemik oluşur. Kaba lifli kemiğin yerini ince lifli kemiğin alması olayına yeniden biçimlenme adı verilmektedir. Yeniden biçimlenme sırasında osteoklastlar belirlenmeye başlar, osteoklastlar çok çekirdekli dev hücrelerdir. Yaşam süreleri 1-2 gündür. Osteoklastlar, çeşitli parçalayıcı enzimleri, özellikle asid fosfataz taşırlar. Osteoklastlar bu içerikleri ile embriyonal kemiği rezorbe ederler. Osteoklastların rezorbe ettikleri embriyonal kemik alanlarını mezenkimal bağ dokusu doldurur. Mezenkimal bağ dokusundan gelişen osteoblast hücreleri de rezorbsiyonun konkav yüzeylerine yerleşip kemik yapmaya başlarlar. Şekil 5'de intramembranöz kemikleşme görülmektedir.

Kemik yüzeyinin yaklaşık % 10'u aktif oluşum ve rezorbsiyona katılır. Total iskelet kalsiyumunun % 18 kadarı her yıl birikir ve ortadan kaldırılır. Böylece kemiğin aktif metabolize olan ve hücreleri kan akımına bağlı olan bir doku olduğu görülmektedir. Kemik aynı zamanda gerek diğer dokulardaki çeşitli hücreler için gerekse mineral iyonlar için önemli bir depo vazifesi görmektedir (60).



Şekil 5: intramembranöz kemikleşme

Kemik rezorbsiyonu, mononükleer veya multinükleer osteoklast adı verilen hücreler tarafından yapılır. Osteoblastlarda bulunan bir enzim olan alkali fosfataz'ın serum aktivitesi, osteoblastların sayısı ve fonksiyonu arttığı zaman fazlalaşabilir. Mineral matriks, muhtemelen rezorbsiyon yapan hücrelerden salınan kollajenazların etkisi ile rezorbe olur. Bu enzimler kollajen üzerine özel bir yolla etki ederler. Rezorbsiyon hızı paratiroid hormon, heparin ve prostoglandinler tarafından stimüle edilir. Parat hormon, kalsiyum ve D-vitamini metabolitlerinin kemik metabolizmasına etkileri oldukça önemlidir ve kemiğin yapım ve rezorbsiyon dengesini belirleyici niteliktedir. Parat hormon kemiklerde yeni osteoklast oluşumunu, osteoklastik aktivitenin stimülasyonunu ve osteoblastik aktivitede geçici azalmayı sağlar (50,60).

III.2 KEMİK BÜYÜMESİNİ REGÜLE EDEN FAKTÖRLER

Yeni kemik formasyonu istirahat haldeki osteoblastların aktive olması veya preosteoblastların proliferasyonu ve değişimi neticesinde olabilir. Aktivasyon meydana gelince osteoblast matriks üretimi veya her hücre tarafından yapılan matriks sentez süresi hızı regüle edilebilir. Hormonal düzenleme osteoblast fonksiyonunda olduğu gibi hücre cevap seviyesinde kemik formasyonunu etkileyebilir. Osteoblastların kemik mineralizasyonu regülasyonunda direkt rolleri olduğuna, henüz isbat edilmemiş olmasına rağmen geniş çapta inanılmaktadır. Yeni meydana gelmiş matriksin hemen mineralize olmaması gerçeği mineralizasyondan önce değişikliklere uğradığının kanıtıdır. Endokondral kalsifikasyonun matriks üzerindeki kıkırdak hücrelerin etkisi ile taklit edildiği gerçeği vardır. Pek çok çalışmalar hormonların mineralizasyonu etkilediği fakat bunların kalsiyum ve fosfat seviyesini değiştirerek indirekt hareket ettiği fikrini yürütmez. Bu iyonların varlığı şüphesiz ki mineralizasyonun en önemli sağlayıcısıdır. Kemik formasyonunun hormonal kontrolü bir çok faktörün birbirini etkilemesi sonucu oluşmaktadır. Bu faktörler ve etki tarzları Tablo 1'de görülmektedir (60).

Birçok hormonun da insülin sekresyonuna etki ettikleri bilinmektedir. Bunlar ; glikokortikoidler, katekolaminler, büyüme hormonu, glukagon, somatostatin'dir. Glikokortikoidler fizyolojik miktarda in-vivo ve in-vitro şartlarda glikogenezisi, lipizisi artırır ve glikoz kullanımını engellerler. Farmakolojik

TABLO 1

*KALSİYUMU REGÜLE EDEN HORMONLAR	Direkt	İndirekt
Parathyroid hormon	↓	↑
1.25 dehidroksi vitamin D	↓	↑
Calsitonin	-	↑
*SİSTEMİK HORMONLAR		
Glucorticoidler	↓	↓
İnsülin	↑	↑
Thyroxin	?	↑
Sex hormonu	-	↑
Büyüme hormonu	-	↑
*BÜYÜME FAKTÖRLERİ		
Somatostatin	↑	↑
Epidermal büyüme faktörü	↓	?
Fibroblast büyüme faktörü	↓	?
Trombosit menşeli büyüme faktörü	↑	?
*LOKAL FAKTÖRLER		
Prostaglandinler	↓	↑
Osteoklastik aktivite faktörü	↓	?
Kemik menşeli büyüme faktörü	↑	?
*İYONLAR		
Kalsiyum	↑	↑
Fosfat	↑	↑

(↑)Kemik formasyonunu yükseltir

(↓)Kemik formasyonunu düşürür

(-)Değişim yapmaz

miktarlarda glikoza bağlı insülin sekresyonuna inhibitör etki yaparlar.Glukokortikoidlerin kalsiyum regülasyonu ve kemik metabolizması üzerinde karmaşık etkileri vardır.Klinik olarak glikokortikoid fazlalığı iskeletsel büyüme azalmasına ve daha az kemiksel kütle oluşmasına neden olur. Şu ana kadar anlaşılan, glikokortikoidlerin kemiksel büyümenin düzenlenmesinde

fizyolojik bir rol üstlendiğidir. Bu hormonun artması kalsiyum ve fosfatın barsakta absorpsiyonunu azaltır ve böbrek salgısını artırır. Bu etkenler bir sekonder hiperparatiroidizme neden olabilir ve bunun da bir osteomalasi yapması beklenebilir(19).

Katekolaminler, otonom sinir sistemi alfa ve beta adrenerjik reseptörlerle insülin sekresyonunu baskırlar. Adrenerjik stimülasyon sonucu insülin sekresyonunu inhibe ettiğii gibi artırirlar da. Bununla beraber alfa reseptörlerin ilk stimülasyonuna bağılı olarak verilen epinefrin veya norepinefrin insülin miktarını azaltır (60,72).

Büyüme hormonu (HGH) kaslara, insüline bağılı glikoz transportuna karşı antagonist etki gösterir. Böylece insan büyüme hormonunun kronik hipersekresyonu ve kullanımı sonucu insülin sekresyonu artar ve hiperglisemi oluşur. Plazma HGH konsantrasyonu gün boyunca, diyabet olmayan hastalarda, insüline bağımlı diyabetiklerden daha yüksektir (72).

Glukagon hormonu 29 aminoasitten oluşan bir proteindir. insülinin keşfinden kısa bir süre sonra glukagonun insüline antagonist etki gösteren hiperglisemik bir hormon olduğii anlaşılmıştır. Diyabetik hastalarda plazma glukagon miktarı yüksektir, diyabetik olmayanlarda glukagon plazma konsantrasyonu karbonhidrata bağılı olarak düşüş gösterir fakat diyabetli hastalarda bu her zaman oluşmaz, aksine glukagon miktarı çoğı kez aynı kalır veya yükselir.

Somatostatin hem in-vivo ve hem de in-vitro şartlarda insülin ve glukagon sekresyonunun kuvvetli inhibitörüdür. Bu iki hormonun da etkisi somatostatinin çok küçük konsantrasyonlarında bile baskılanır (60,72).

III.3 O S T E O P O R O Z

Osteoporoz tıbbi tedavide en çok görülen kemik hastalığıdır . Osteoporozlu hastaların yaklaşık beşte dördünün postmenapozal dönemdeki hastalar olduğu ve geri kalanların ise çeşitli hastalıklarla bağlantılı olduğu bilinmektedir. Bu bağlantıların en bilineni Diabetes mellitus'dur. Osteoporoz erişkin yaşı diyabetlilerin % 50'sinde, genç yaşın % 20'sinde görülmektedir. Eğer osteoporozla birlikte bu genç yaşı kimselerde arter kalsifikasyonu da görülürse bu diyabeti katileştirir (36,60,73).

Hayvanlarda kalsiyum alınmasındaki kronik yetersizlik veya barsak absorpsiyonunun düşük olması osteoporozun oluşmasına yol açabilmektedir. Bu durumun insanlarda da meydana geldiği ileri sürülmüştür (36,60).

Yapılan çalışmalarda uzun süreli ve çok az kontrol altına alınmış Diabetes mellitus'lu hastalarda osteoporozisin geliştiği gösterilmiştir ve azalan kemik kütlesi ile diyabet arasında ilişki olduğu bildirilmiştir. Levin, kemik kaybının kemik formasyonunda olan bir defektten kaynaklandığına, ancak diğer

araştırmacılar osteopeninin insülin yetersizliğine bağlı bir metabolik sonuç olduğuna inanmaktadırlar (46,52,55).

Kontrolsüz diyabetiklerde ve ketoasidozda negatif azot bilançosuna neden olan dönüşümler kemik sisteminde, kemiğin protin matriksinin boşalmasına yol açar. Ketoasidoz osteoklastik aktiviteyi artırır fakat bu değişiklikler yalnız diyabet için özel bulgular değildir (73).

Hough insüline bağımlı diyabetli hastalar üzerinde çalışmış, yaşları 7 ile 20 arasında olan bu hastaların % 22'sinde kortikal osteopenia mevcut olduğunu bildirmiştir. Kemik kaybı ile diyabet süresi arasındaki metabolik kontrol derecesi veya diyabetik komplikasyonlar arasında bir ilgi görülmemiştir. Osteopenik diyabetin kemik yaşı ile osteopenik olmayan diyabetiklerin kemik yaşının aynı olduğu bulunmuştur (35).

Osteopeni ve juvenil osteoporozun diyabetin kronik komplikasyonları arasında önemli bir yeri vardır. Ve bu konuda çok sayıda çalışma yapılmış, fakat bunların büyük bir kısmının kemik mineral matriksinin araştırılmasında yoğunluk kazandığı görülmektedir. Oysa ki organik matriks yapısındaki değişiklikler konusunda yeterli araştırma bulunmamaktadır.

IV . MATERYEL VE METOD

*Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmamızda kullandığımız kimyasal maddeler analitik saflıktadır, glikoz oksidaz kiti Boehringer firmasından satın alınmıştır.

*Kullanılan araç ve gereçler

Distile su cihazı (Electromag,M₃), Spektrofotometre (Bausch-Lamb, Spektroniz 20), Vorteks (Fote, UM20), otomatik pipetler (Gilsan), mikrotom.

*Deney hayvanlarının özellikleri ve beslenmeleri

Çalışmamızda Çapa Deneysel Araştırma Merkezinden (DETAM) alınan aynı jenerasyondan Wister Albino türü 17 adet dişi sıçan kullanıldı, sıçanlar kontrol edilmiş çevre ve metabolik kafeslerde muhafaza edildi. Sıçanların beslenmesinde İstanbul Topkapı Yem Sanayi Fabrikasında üretilen ve kapsamı;

ham protein (en az) %23

ham selüloz (en az) %7.5

ham kül (en az) %10

su (en çok) %13

kalsiyum (en az) %0.8

fosfor (en az) %0.7 olan pellet tipi sıçan yemi kullanıldı.

Her gün özel şişelerde taze musluk suyu verildi.

Sıçanların 7 tanesi diyabet,10 tanesi de kontrol grubu olmak üzere ayrılarak işaretlendi.Diyabet oluşturmak için Streptozotocin (STZ) kullanıldı.Tüm sıçanların deney öncesinde ve sonunda ağırlıkları tesbit edildi.STZ verilmeden önce sıçanlar eterle bayıltılarak kuyruk ucundan hematokrit tüplerine kan alındı,daha sonra bu kanlar açlık kan şekeri tayininde kullanıldı.Diyabet grubu olarak ayrılan sıçanlara pH'sı 4,5 olan sitrat tamponu ile taze hazırlanmış STZ çözeltisinden 80 mg/kg olacak şekilde tek dozda intraperitoneal olarak enjekte edildi.

Deney sonunda, 17 gün sonra diyabetik sıçanlar, 20 gün sonra kontrol grubu sıçanları eterle bayıltılarak kalplerinden kan alındıktan sonra yüksek dozda eter verilerek sıçanlar öldürüldü. Daha sonra mandibula kemikleri açığa çıkartılarak bu kemiklerden parça alındı,%10'luk formolde fikse edildi.Daha sonra %5'lik nitrik asitte dekalsifiye edilen kemikten parafin blokları hazırlandı ve bu bloklardan preparat hazırlanarak hemotoksilen eosin ve masson boyama yöntemleri ile boyanarak histopatolojik incelemeye tabi tutuldu.

*Kan şekeri tayini

Kan şekeri tayini için Bobriansen glikoz oksidaz testi kullanıldı. Hematokrit tüplerine alınan kan 5 dakika santrifuj edildi,Hamilton enjektörü ile plazmaları alınarak Opendork tüplerine konuldu, numune,standart ve kör olarak işaretilenen deney tüplerine sırası ile 25 pl plazma,25 pl kitin standart glikoz çözeltisinden ve 25 pl de distile su konuldu.Her birine

reaktif çözeltisinden 25 ml ilave edilerek karıştırıldı, oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi. 546 nmd köre karşı absorbanlar okunarak kaydedildi.

% mg glikoz miktarı aşağıdaki formülden hesaplandı:

$$\% \text{ mg glikoz miktarı} = \frac{\text{Numune absorbanı}}{\text{Standart absorbanı}} \times 100$$

* Parafine alma

1. %70'lik alkolde 1 gece bekletildi
2. %90'luk alkolde 1 gece bekletildi
3. %96'luk alkolde yarım gün bekletildi
4. %96'luk alkolde yarım gün bekletildi
5. %100'lük alkolde sabah bekletildi
6. %100'lük alkolde öğleden sonra bekletildi
7. 1/2 saat tolüol'de bekletildi
8. 1 saat parafinde durduruldu
9. ikinci 1 saat parafinde bekletildi , kalıplara döküldü.

Reichart marka kızartma mikrotomu ile 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak gliserin albuminde 370C'de bir gece kurutulup, etüvde kuruyan preparatların parafinlerini gidermek için toluol ve alkolden geçirildi.

* Boyama Yöntemleri

Hematoksilin-Eosin boyama yöntemi

Solüsyon A: Hematoksilin

Solüsyon B: Eosin (sıvı)

1. Toluol 5-10 dakika
 2. Toluol 5-10 dakika
 3. Alkol 100 °C
 4. Alkol 100 °C
 5. Alkol 96 °C
 6. Alkol 90 °C
 7. Alkol 70 °C
 8. Distile suda yıkandı
 9. Hematoksilin boyasında 15-20 dakika bırakıldı
 10. Çeşme suyunda yıkandı
 11. %1'lik asit alkol içerisinde fazla boyalar alındı (1-2 saniye çalkalandı)
 12. Çeşme suyunda morartıldı (15-20 dakika)
 13. Eosin boyasında 5 dakika tutuldu
 14. Distile suda yıkandı
- Sırası ile 70,70,90,90,90,96,96,100 °C alkolde diferansiye edildi, toluole kondu, Kanada balsamı ile kapatıldı.

Masson boyama yöntemi:

Solüsyonlar; A. %5'lik alüminyum-demir karışımı

- B. Hematoksilin
- C. Pikrik alkol
- D. Asit fuksin
- E. Anilin mavi asetik veya açık yeşil asetik
- F. Fosfomolibdik asit %1'lik
- G. %1'lik asetik asit

1. Kesitler 5 dakika boyunca önceden 45-50 °C'ye kadar ısıtılmış olan %5'lik alüminyum-demir karışımı içinde tutuldu
2. Suda yıkandı
3. Beş dakika boyunca hematoksilin ile boyandı
4. %95'lik etanol ile çalkalandı
5. Sadece hücre çekirdekleri siyah boyanana kadar pikrik alkolde tutuldu
6. Sarı renk yok olana kadar suda yıkandı
7. Asit fuksin ile 5 dakika boyandı
8. Distile su ile çalkalandı
9. Beş dakika boyunca %1'lik fosfomolibdik asit uygulandı
10. Çalkalamadan anilin mavi asit içinde 5 dakika tutuldu
11. Distile su ile çalkalandı
12. Kesitler tekrar 5 dakikalığına fosfomolibdik asit içine yerleştirildi
13. %1'lik asetik asit içinde 2 dakika boyunca çalkalandı
14. Suda yıkandı, dehidre edildi, sonra Kanada balsamı ile kapatıldı (29).

V. BULGULAR

Bu çalışmada kullandığımız, ölenlerin dışında toplam 17 sıçanın 10 tanesi kontrol grubu olarak, 7 tanesi ise deneysel diyabet yapmak için kullanılmıştır. Deneylere başlamadan önce hem diyabet hem de kontrol grubunda açlık kan şekeri değerleri ölçüldü. Hayvanların başlangıç ağırlıkları saptandı. Bu değerler Tablo 2-3 ve Şekil 6-7'de gösterilmiştir.

Şekil 8'da ve Tablo 4'te kontrol grubunda deneye başlamadan önce ve 17 gün sonraki açlık kan şekeri değerleri ve deney hayvanlarının ağırlıkları istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

Şekil 9 ve Tablo 5'te diyabet grubunda deneye başlamadan, yani STZ verilmeden önce ve 17 gün sonraki açlık kan şekeri değerleri ve deney hayvanlarının ağırlıkları istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

Histolojik Bulgular:

Çalışmamızda, deney hayvanlarında kemik iliği mesafesinde fibroz bağ dokusu oluşumu (Resim 1-2) ve kemik iliğinde hiperselüler yapı (Resim 3-4-5) gözlemledik. Kontrol grubunda ise normoselüler yapıda kemik dokusu görülüyordu (Resim 6-7-8-9).

Ayrıca deney grubu olgularında bazı alanlarda osteosit sayısında ve damarlarda artış izlenmekteydi (Resim 10-11).

Kontrol grubunda ise geniş kemik lamelleri üzerinde yer alan normal yapıda ve sayıda osteositler görüldü (Resim 12).

Deney grubundaki hayvanlarda, kemik iliği mesafesinde yer yer kalsifikasyon odaklarına rastladık (Resim 13) ve intratrabeküler alanda fibroz displaziye benzer değişiklikler oluşturan genç hücreler (fibroblastlar) gördük (Resim 14). Oysa ki kontrol grubunda fibroz displazik değişiklikleri olgun hücreler (fibrositler) oluşturmaktaydı.



KONTROL GRUBU (n=10)

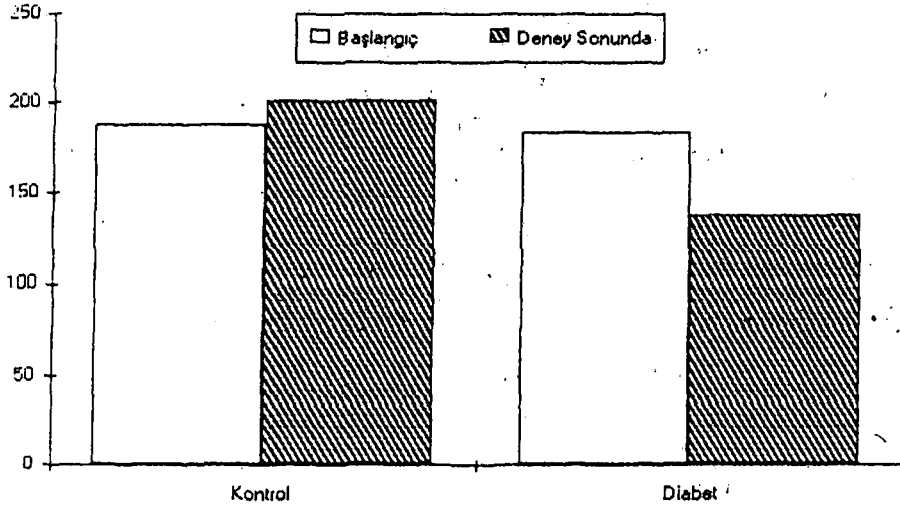
Başlangıç			Deney sonunda	
No	Ağırlık (gram)	A.K.Ş (%mg)	Ağırlık (gram)	A.K.Ş (%mg)
1	192	83	202	86
2	175	135	204	145
3	207	142	214	140
4	203	103	209	99
5	177	136	184	145
6	190	130	199	125
7	170	123	182	125
8	237	135	246	140
9	157	89	171	96
10	170	122	200	130

Tablo 2: Kontrol grubu olarak kullanılan sıçanlerin başlangıçta ve 17 gün sonraki ağırlıkları ve açlık kan şekeri değerleri.

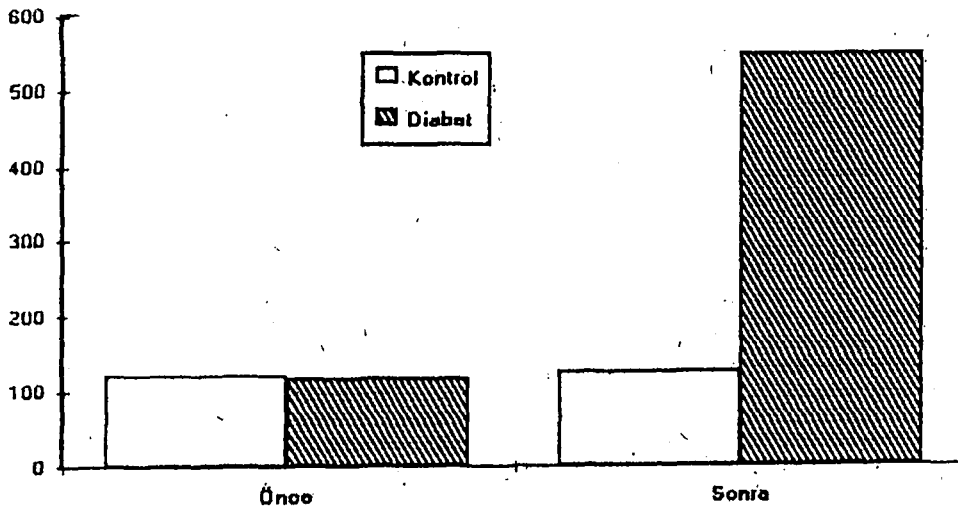
DIYABET GRUBU (n=7)

Başlangıç			Deney sonunda	
No	Ağırlık (gram)	A.K.Ş (%mg)	Ağırlık (gram)	A.K.Ş (%mg)
1	175	81	127	560
2	190	81	117	570
3	180	118	115	539
4	170	103	157	588
5	152	128	145	488
6	195	133	142	512
7	222	165	162	560

Tablo 3: Diyabet oluşturulan hayvanların başlangıçta ve deney sonunda ağırlıklarında ve açlık kan şekeri değerlerindeki değişimler.



Şekil 6: Kontrol ve diyabet grubunun deney süresince ağırlıklarında görülen değişim.



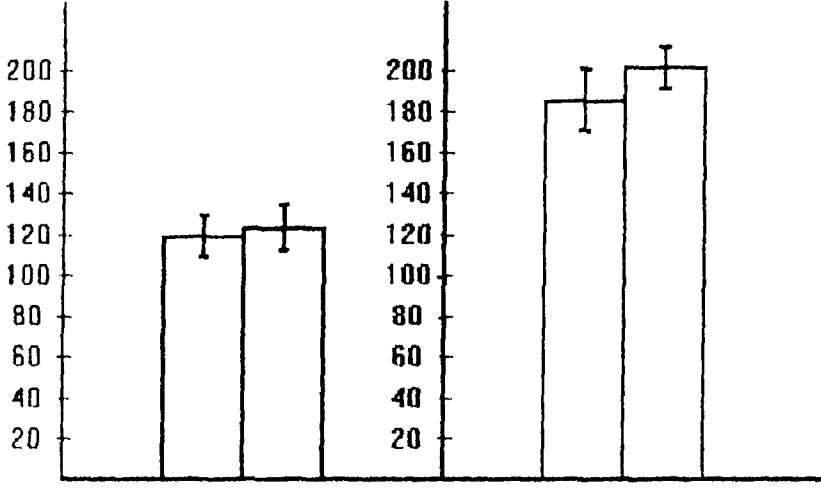
Şekil 7: Kontrol ve diyabet grubunun deney süresi sonunda açlık kan şekeri değerlerinde görülen değişim.

Diyabet ve kontrol grupları	p
Açlık kan şekeri	0.736
Ağırlık	0.918

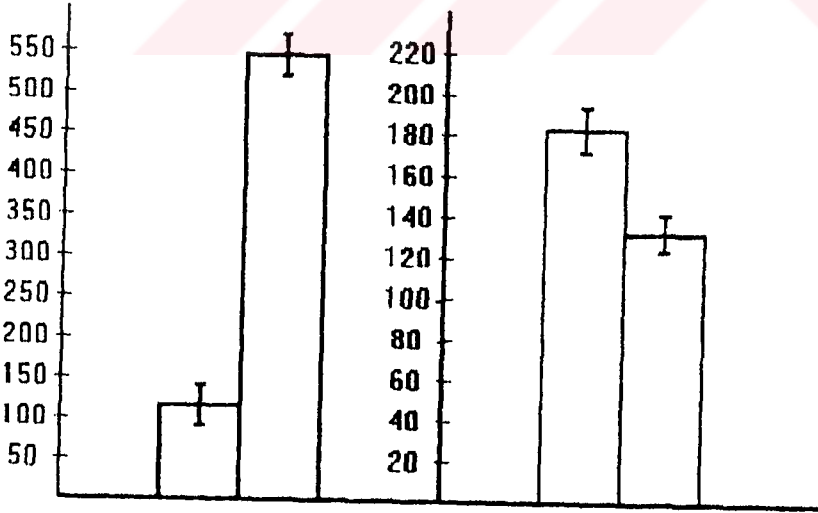
Tablo 4:Çalışma başlangıcında diyabet ve kontrol grupları arasındaki farkın istatistiksel değerlendirmesi. Gerek açlık kan şekeri yönünden gerekse ağırlık yönünden iki grup arasında anlamlı fark yoktur.

Diyabet ve kontrol grupları	p
Açlık kan şekeri	0.0001
Ağırlık	0.0001

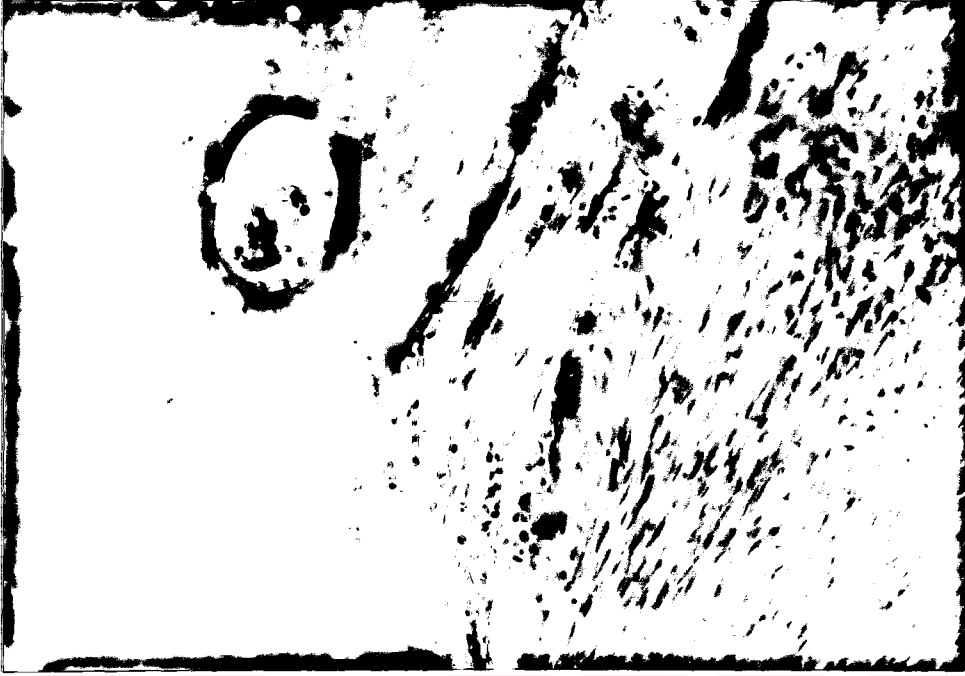
Tablo 5:Deney sonunda diyabet ve kontrol grupları arasında açlık kan şekeri ve ağırlık farkları istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.



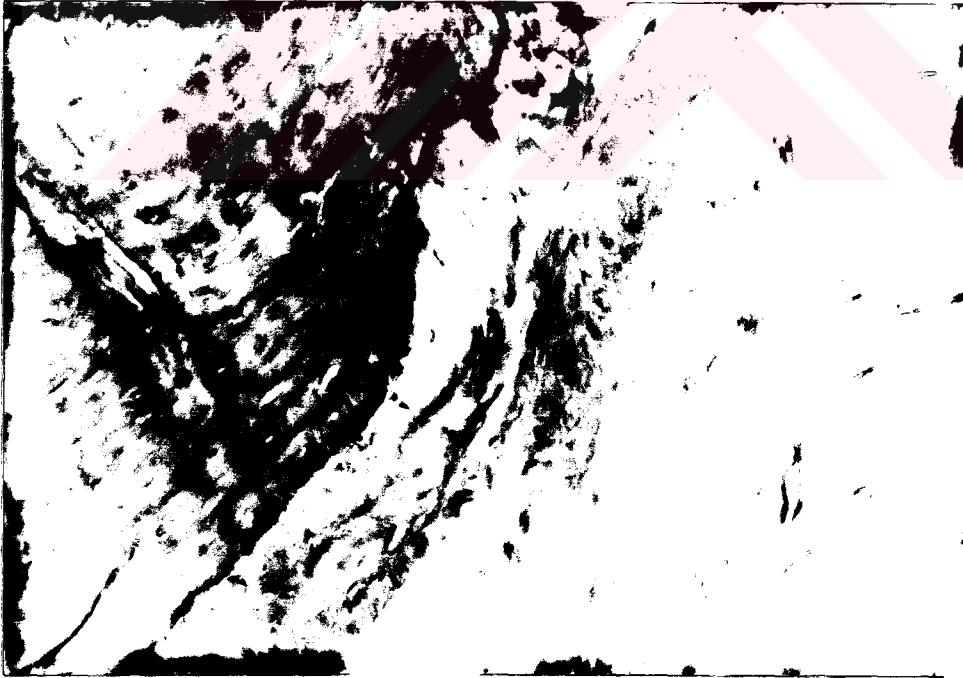
Şekil 8: Deneye başlamadan önce ve 17 gün sonra kontrol grubunda açlık kan şekeri değerleri ve deney hayvanlarının ağırlıkları.



Şekil 9: STZ verildikten 17 gün sonra diyabet grubunda açlık kan şekeri değerleri ve deney hayvanlarının ağırlıkları.

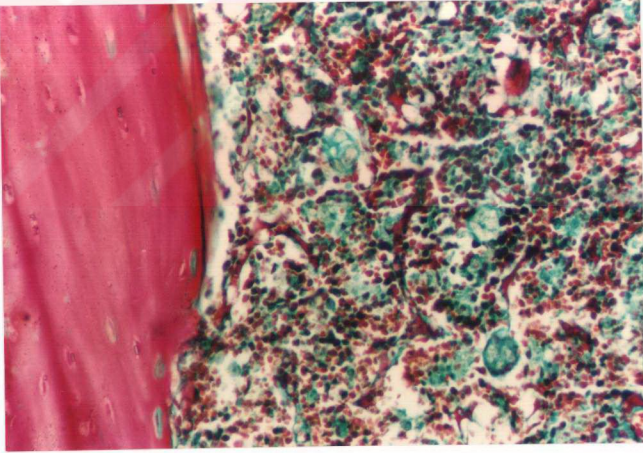


Resim 1:Deney.Kemik iliği mesafesinde dikkati
ekecek derecede fibroz bağ dokusu oluşumu
(Masson X 300).

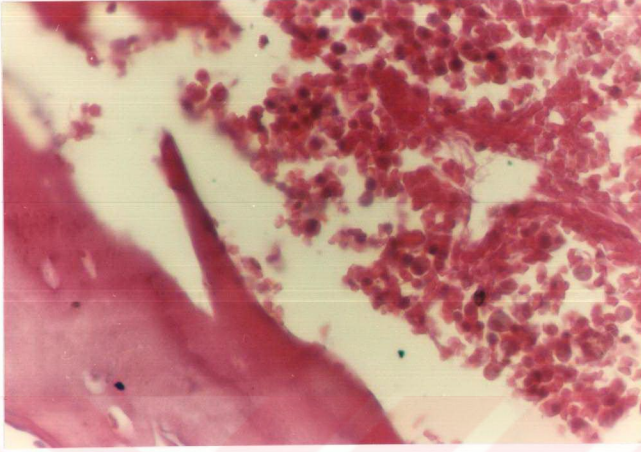


Resim 2:Deney.Kemik iliği mesafesinde dikkati
ekecek derecede lifsel yapılardan zengin
fibroz bağ dokusu oluşumu (Hematoksilin Eosin X 300).

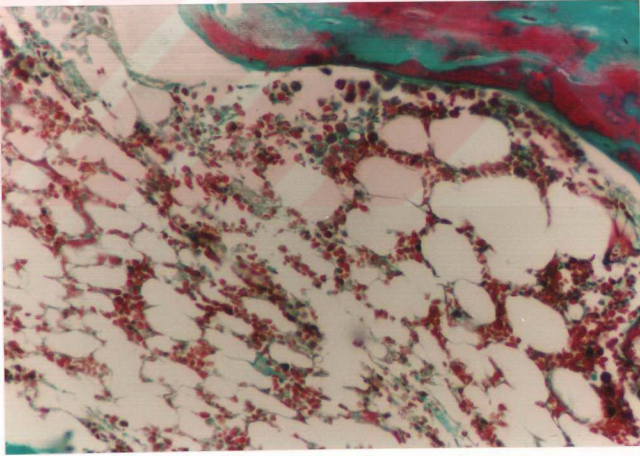
Resim 3:Deney.Kemik iliğinde genellikle hiperselüler bir yapı izlenmektedir (Masson X 150).



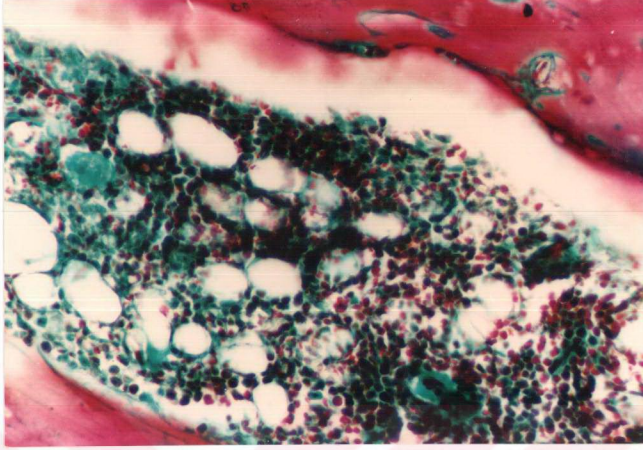
Resim 4:Deney.Kemik iliğinde genellikle hiperselüler bir yapı izlenmektedir (Resim 3'teki sahanın daha büyütülmüş görünümü; Masson X300).



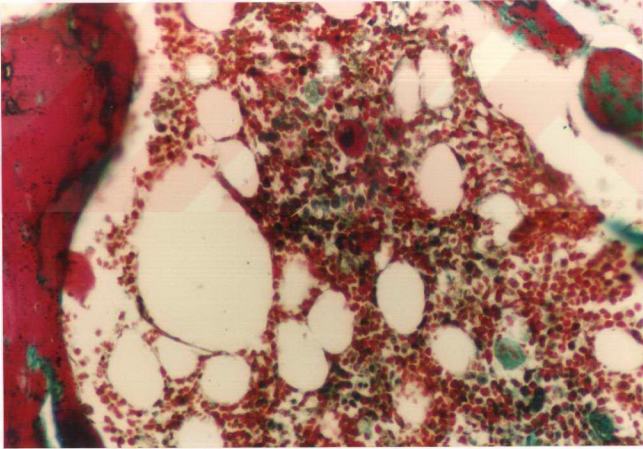
Resim 5:Deney.Kemik iliğinde genellikle hiperse-
lülerite görülmektedir (Hematoksilin Eosin X 300).



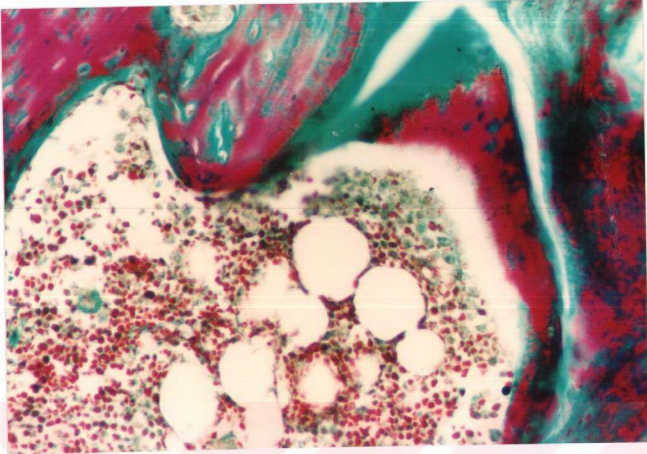
Resim 6:Kontrol grubunda yağ dokusunun normal miktarda
görüldüğü normoselüler yapının yanısıra yukarıda
görüldüğü gibi bazı alanlarda yağ dokusundan zengin
ve hücresel elemanlardan fakir hiposelüler bir yapı
izlenmektedir (Masson X 300).



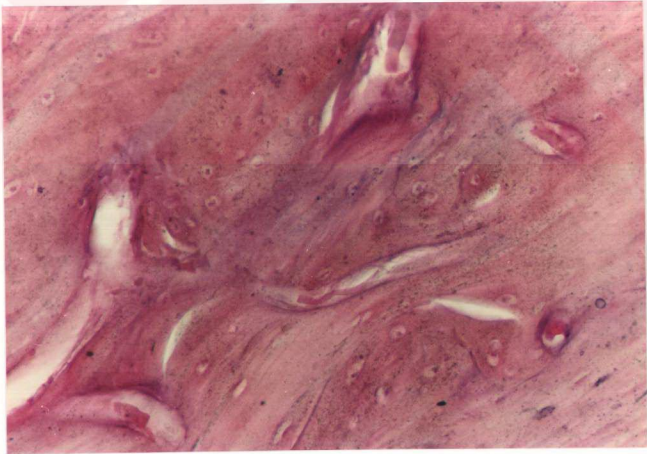
Resim 7:Kontrol grubunda normoselüler yapıda kemik dokusu (Masson X 300).



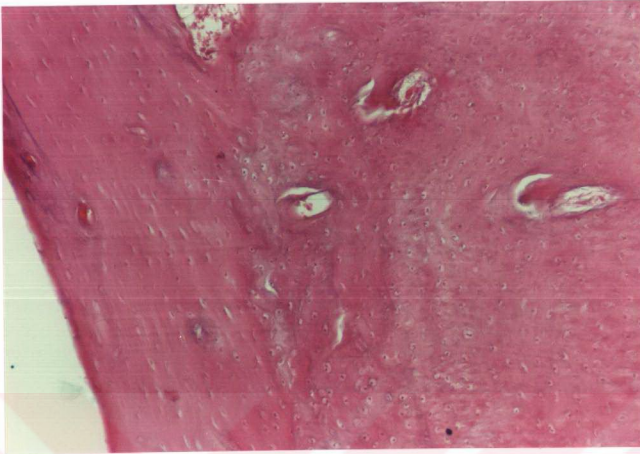
Resim 8:Kontrol grubunda normoselüler yapıda kemik dokusu (Masson X 300).



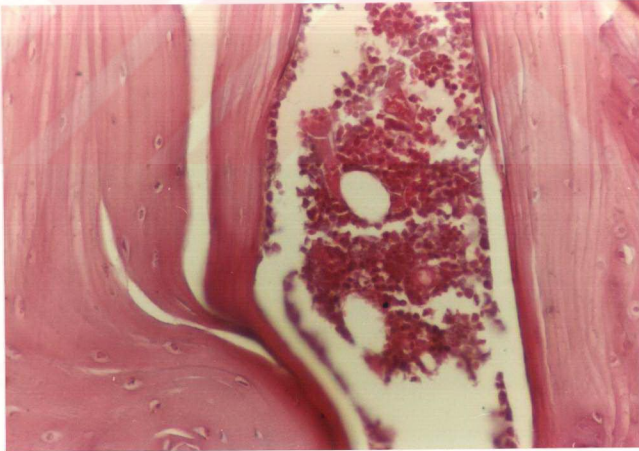
Resim 9:Kontrol grubunda yağ dokusunun normal miktarda görüldüğü normoselüler yapının yanısıra bazı alanlarda yağ dokusundan zengin hücresel elemanlardan fakir hiposelüler bir yapı izlenmektedir (Masson X 300).



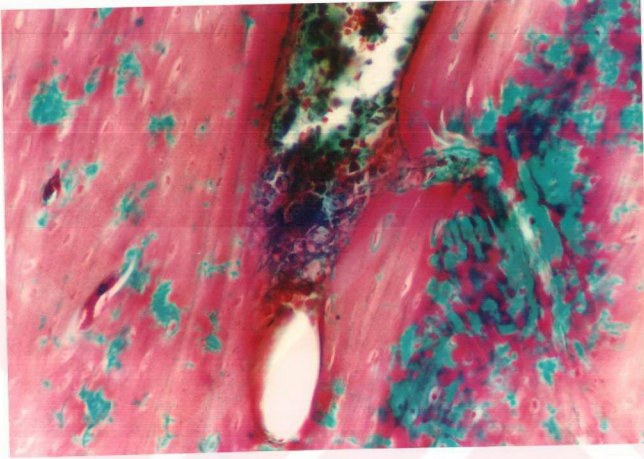
Resim 10:Deney.Kemik dokusunda, bazı alanlarda osteosit sayısında ve damarlarda artış görülmektedir (Hematoksilin Eosin X 300).



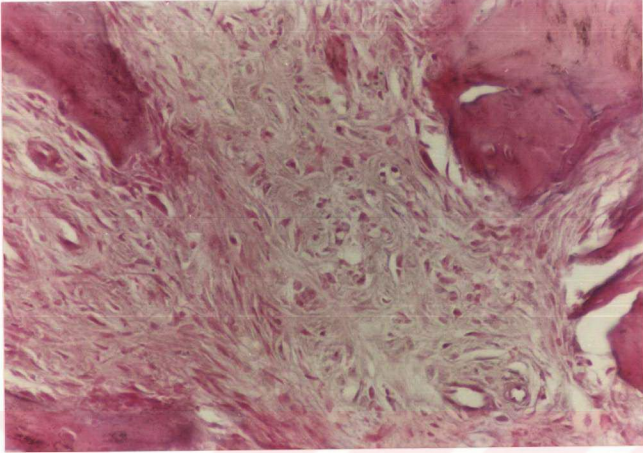
Resim 11:Deney.Kemik dokusunda, bazı alanlarda osteosit sayısında ve damarlarda artış görülmektedir (Hematoksilin Eosin X 150).



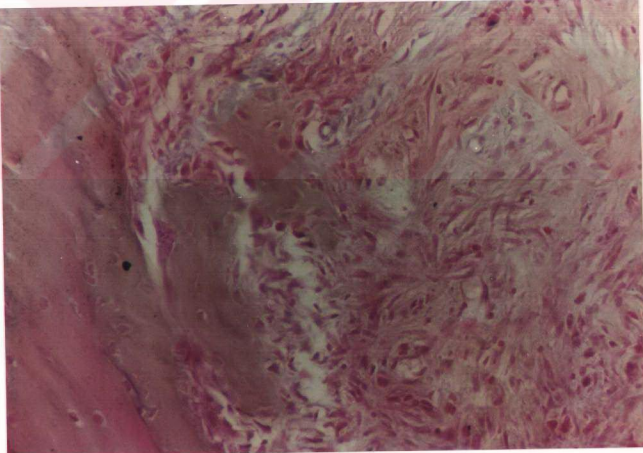
Resim 12:Kontrol grubunda kemik iliği mesafesi çevresindeki geniş kemik lamelleri üzerinde yer alan normal yapıda ve sayıdaki osteositler izlenmektedir (Hematoksilin Eosin X 300).



Resim 13:Deney.Kemik iliği mesafesinde yer yer görülen kalsifikasyonlar (Masson X 300).



Resim 14:Deney.Intratrabeküler alandaki fibroz displaziye benzer değişiklikler, deney grubu olgularında daha genç hücrelerden (fibroblast) meydana gelmiştir (Hematoksilin Eosin X 300).



Resim 15:Kontrol grubunda fibroz displazik değişiklikler oluşturan olgun hücreler (fibrosit) (Hematoksilin Eosin X 300).

VI . TARTIŞMA

Son yıllarda yapılan çalışmalar insüline bağımlı Tip 1 diyabetin kronik komplikasyonları arasında osteopeni ve jüvenil osteoporozun oldukça önemli yer tuttuğunu bildirmektedir. Fakat literatürde bu konu ile ilgili çalışmalar genellikle kemik mineral matriksinin ve organik matriksinin araştırmasına yönelik olmuştur.

Bulgularını sunduğumuz bu çalışmada amacımız diyabet'in kısa sürede mandibula kemiğinde yaptığı olumsuz etkileri incelemektir. 80 mg/kg dozda STZ verilmeden önce, yani başlangıçta açlık kan şekeri değerleri 123 ± 21.79 mg iken, STZ'den 17 gün sonra 545.3 ± 34.8 mg bulunmuştur. Bu esnada hayvanların ağırlıkları da 183.42 ± 22.04 gr'dan 137.85 ± 18.67 gr'a düşmüştür. Bunlar bize STZ'nin kalıcı diyabet oluşturduğunu göstermiştir. Literatürde ya az doz STZ verilerek uzun süreli diyabet, ya da yüksek dozda STZ verilerek kısa süreli diyabet oluşturduktan sonra, diyabetin çeşitli dokulara yaptığı etkiyi inceleyen çok sayıda araştırma vardır. STZ etkisi ile oluşan diyabet'ler doza bağlı olarak değişir, biz kan glikozunu maksimuma çıkaracak STZ dozunu kullandık ve kısa sürede yüksek glikozun mandibula kemiğindeki patolojik değişimlerini inceledik.

Streptozotocin ile diyabet oluşturduğumuz sıçanların mandibula kemiğinden yaptığımız kesitlerin histopatolojik olarak incelenmesinde deney grubunda kemik iliği mesafesinde dikkati

ekecek derecede fibröz bağ dokusu oluşumuna rastladık, kemik iliğinde genellikle hiperselülerite ve hücresel elemanların yerini yağ ve bağ dokusunun aldığı gözlemlendi. Ayrıca kemik dokusunun bazı alanlarında osteosit sayısında ve damarlarda artışa ve yer yer görülen kalsifikasyon odaklarına rastlandı. intratrabeküler alandaki fibröz displaziye benzer değişikliklerin deney grubu olgularında daha genç fibroblast hücrelerinden meydana gelmiş olmasından dolayı bize kemikte bir yıkımın olduğunu düşündürmektedir.

Kontrol grubu sıçanların kemik kesitlerinde yağ dokusunun az olduğu, normal selüler yapının yanı sıra bazı alanlarda veya olgularda yağ dokusundan zengin, hücresel elemanlardan fakir hiposelüler bir yapı, geniş kemik lamelleri üzerinde yer alan normal osteositler gözlemlendi ve ayrıca fibröz displazik değişiklikleri oluşturan olgun fibrositlere rastlandı. Kontrol grubunda normal sayıda osteosit ve fibrositlere rastlanması aktif olarak kemik matriksinin sentezinin devamlılığını göstermektedir.

Literatürlerde deneysel diyabetin iskelette yaptığı anormallikler histopatolojik olarak tam açıklanmadığından dolayı hücresel kemik yapılarının değişimi, bu yapılarda diyabetin oluşturduğu harabiyeti düşündürmektedir.

Çocukluk ağında başlayan Diabetes mellitus tiplerinde, çocuklarda iskelet gelişiminin geri kaldığı, ossifikasyon

merkezlerinin geç görüldüğü, diafizlerin kapanmalarının geciktiği çok eskiden beri bilinmekle birlikte yapılan çalışmalarda özellikle çocukluk çağında başlayan diyabet tiplerinde metabolik değişimlerle ilişkili olarak belirgin bir osteopeni olduğu gözlenmiştir. Diabetes mellitus'un normal metabolizması ve kemik bütünlüğü üzerindeki etkisi henüz net anlaşılmamıştır. Heterogen hasta grupları üzerinde yapılan klinik araştırmalar diyabetlilerde bozuk kemiklerin tipi, büyüklüğü ve şiddeti ve mineral homeostasisi ile ilgili birbiriyle çelişkili bilgiler verilmiştir. Bununla birlikte Tip 1 diyabette homojen grup olarak yapılan çalışmalarda hastalarda kemik kaybının, osteopeninin %50'ye kadar azaldığını belirten çalışmalar vardır. Her ne kadar azalan kemik kütlesinin diyabetin süresi ile ilgili olup olmadığı kesin anlaşılmamış ise de, hastaların ilk beş yılında bu kaybın daha fazla olduğu, ondan sonraki yıllarda, kemik mineral içeriğinin nisbeten değişmeden kaldığı anlaşılmaktadır (35,51,59,73).

Çocukluk ve gençlik çağlarında ortaya çıkan Diabetes mellitus'un gelişim geriliğinin etyopatogenezi ile ilgili yapılan araştırmalar bu olayın nedenlerinden birisinin kemiğin mineral ve protein içeriğindeki azalma olabileceği gösterilmektedir. Kemiğin mineral ve protein yapısındaki normalden farklı olan bu durumun hangi etkenlere bağlı olarak oluştuğunun ortaya konması tedavi yönünden önem arz etmektedir.

Diyabet'in oral kavitede ve buna yakın bölgelerdeki dejeneratif etkileri arasında, alveol kemiğinin yüksekliğinde azalma, osteoporoz ve redüksiyon gözlenmektedir. Fakat bu kemik kaybının ağız hijyeni kötü olan diyabetli olmayanlara göre daha şiddetli olduğu ileri sürülmektedir. Bununla birlikte gingivada enflamasyon, derin periodontal cepler ve nadir oluşan periodontal apseler bildirilmektedir (61,67).

Diyabet oluşturulan hayvanların tükrük bezlerinde yapılan çalışmalarda parotis ve submandibular bezlerin normal integrasyona ulaşabilmesi için insülinin normal salgılanmasına ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (5,10,11,45).

Hough, yaşları 7-20 arasında değişen 206 Tip 1 diyabetlinin kemik ve mineral metabolizmasını çeşitli yönleri ile incelemiş ayrıca HLA antijen sıklığı ile diyabetik osteopeni arasında ilişki olup olmadığını incelemiştir. Araştırmacı kemik kütlesini kemik minerali analizöründe değerlendirmiş ayrıca serum ve idrarda kalsiyum, fosfor, alkali fosfataz, magnezyum ve diğer elektrolitleri de ölçerek değerlendirme yapmıştır. Bu biyokimyasal değerlendirmelerin sonucunda 206 hastanın %22'sinde kortikal osteopeninin varlığını tespit etmiştir, buna paralel olarak trabeküler kemik kütlesinin de azaldığı görülmüştür. Kemik kaybının erkeklerde kadınlara nazaran daha fazla olduğu, 10 yaşından küçük çocuklarda ise kemik kaybının daha az olduğu saptanmıştır. Araştırmacı osteopenik diyabetli hastalarla, osteopenik olmayan diyabetli hastalarda HLA-antijen dağılışını

kıyaslamış, osteopenik hastalarda belirli antijenlerin sık oluşunu görmüş fakat bu sıklık istatistiksel yönden önemli olmamıştır (35).

Genç popülasyonda yapılan çok sayıdaki araştırmalarda insüline bağlı diyabetlilerde kemik yoğunluk kaybının çok olduğu anlaşılmıştır. Levin ve arkadaşlarına göre azalmış kemik seviyesinin erken belirtisi diyabette azalmış kemik formasyonu için bir endikasyondur. Ve bu durum esas hastalıktan çok insülin yetersizliğinin etkileridir ve diyabetli kemikte osteon formasyonu hızı azalması olayı gözlenmektedir. Sergent ve arkadaşlarının açıkladığına göre insüline bağımlı diyabetlilerde tüm vücutta kalsiyum tutulması azalmaktadır. Bu defektli mineralizasyona bağlı olarak çok yavaş bir şekilde osteonlar oluşmaktadır. Levin istatistiksel olarak diyabetin seyri ile birlikte kemik kaybı miktarının saptanmasında başarılı olamamıştır (46,63).

Kemikteki kollagen sentezi in-vitro şartlarda insülin ile stimüle edilmektedir ve insülinin varlığı sonucu gerekli olan anabolik etki ortaya çıkar. insülin etkisi kalsiyum transportu için de gereklidir. Buna göre kemik miktarındaki kayıp bazal hücrel bozukluk kadar metabolik etyolojiye de bağlıdır.

Diyabet osteoporosisi oluşumu ile ilgili çeşitli çalışmalar ve görüşler vardır. Yapılan hayvan deneylerinde deneysel olarak insülin eksikliği oluşturulup bunun sonucunda kemik bozuklukları

izlenmiştir. Ancak bu komplikasyonların patolojisi hala açık değildir. Osteit oluşumunda kollagen sentezinin bastırılması önemli rol oynar. Ayrıca kemik yapısında bulunan proteoglikanların da rolü önemlidir. deneysel diyabet yapılan hayvanlarda idrarda kollagenin yıkım ürününün olan hidroksiprolinin arttığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalardan tetrasiklinlerin doku kollagenaz aktivitesini inhibe ettiği anlaşılmaktadır (23,25).

Golub ve arkadaşları 350-400 gram ağırlıktaki sıçanlara vücut ağırlığının kg'mı başına 70 mg STZ vererek deneysel diyabet yaptıktan sonra bir taraftan uzun kemiklerinin ultrastruktürünü incelemişler, diğer taraftan biyokimyasal analizlerle Ca, P ve hidroksiprolin düzeylerini değerlendirmişlerdir. Kontrol grubunun kemiklerine göre diyabetik olanlarda Ca, P ve hidroksiprolin miktarlarında sırasıyla %41, %31, %29 gibi anlamlı azalmalar saptamışlardır. Araştırmacılar bu hayvanlara değişik zamanlarda tetrasiklin uygulamışlar ve tetrasiklinin hiperglisemiye etkilemedikleri halde kemikte azalmayı önlediğini bildirmişlerdir (24).

Deneysel diyabet sırasında iskelet anormallikleri osteoporozis Diabetes mellitus'un komplikasyonu olarak defalarca açıklanmıştır, ancak bu mekanizmaların iskelette yaptığı anormallikler hala bilinmemektedir. Rama Morti ve arkadaşları diyabetli sıçanlarda mandibulanın özgül ağırlığını ve ağırlığını azalmış olarak bulmuşlar, değişik parametrelerin ölçümünden

sonra kalsiyum, fosfat gibi minerallerde her bir birim hacmindeki kemiğin miktarında azalma görülmüş, ancak kemik normal olarak kalsifiye olmuştur. Çeşitli araştırmalar deneysel diyabet sırasındaki mineral metabolizmasındaki değişiklikleri ortaya çıkarmaya çalışmışlardır. Şimdiye kadarki bulgularda hiperkalsiüri ve fosfatüri ihtiva eden çalışmalar yapılmış, ancak serumdaki kalsiyum etkisi bilinmemektedir. Diyabetik sıçanlarda kalsiyum ve hidrokisprolinin idrardaki çıkımında dramatik artışlar diğer çalışmalara paralel olarak görülmüştür. Diyabetli çocuklarda %15-20 arasında kemik kaybının var olduğu, 3-5 yıllık diyabetli hastalarda %10 kemik mineral kaybı yani her 24 saatte kalsiyum dengesinde 50-100 mg'lık bir negatif durumun söz konusu olduğu bazı araştırmalarla belgelenmiştir. Bunun da iskeletin gelişmesine veya şekil değiştirmesine etkili olduğu ve neticede kemik yoğunluğunun azalması ve kortikal incelmeye sebebiyet verdiği açıkça gösterilmiştir. Fakat kemik kaybı ile diyabet süresi veya metabolik kontrol derecesi arasında önemli bir karşılıklı ilişki olduğu gözlenmemiştir (73,78).

McNair, insülinle tedavi edilen diyabetik hastalarda kemik mineral içeriği ile birlikte kalsiyum ve glukoz homeostasisini değerlendirmişlerdir. Bulgularında kemik mineral içeriğinin ilk 5 yıl içinde %10 azaldığını, bu durumun insülin salgısının durması, metabolik kontrollerin bozulması ve kalsiyum ve fosforun idrarla atılmasındaki artış ile aynı zamanda meydana geldiğini, dolayısı ile iskeletteki kalsiyum kaybının idrarla

atılan kalsiyumdaki fazlalıkla ilgili olduğunu tesbit etmişlerdir (54).

Yılmaz ve arkadaşları çocukluk ve gençlik yaşı diyabetiklerde (jüvenil diyabet),kemik protein yapısını incelemişler ve kollajenin son ürünü olan hidrokisprolinüri değerlerini saptamışlardır.Sonuç olarak, kemik organik matriksinin ana yapısı olan kollajenin yıkımının enkontral gelişmenin başlamasından önceki dönemde ve diyabetin ilk iki yılında en yüksek düzeyde olduğunu,glisemi ayarsızlığının ve metabolizma düzensizliğinin bu yıkımı artırdığını,diyabet sürecinin ikinci planda kaldığını bildirmişlerdir (78).

Rosenbloom ve arkadaşları,6-26 yaşlar arasındaki 196 insüline bağımlı diyabetik hastalarda (100) ulna kemiğindeki foton absorpsiyon miktarlarını araştırmışlardır.Siyah ve beyaz erkek ve kadınlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında Levin ve arkadaşları tarafından açıklanan,hem insüline bağımlı ve hem de insüline bağımlı olmayan diyabetli hastalarda bariz bir kemik kaybının olduğu ve bunun miktarının diyabetin gelişmişliğine bağlı olmadığı tezini doğrulamışlardır.Ayrıca beyaz ve siyah ırk arasında kemik kaybı yönünden bir bağlantı kuramadıklarını bildirmişlerdir (63).

Hough ve arkadaşları,serbest besin kontrolünde mineral hemostazı ve iskelet morfolojisini araştırmışlardır. Araştırmada STZ'ye bağımlı diyabetli ve insülin tedavisi görmekte olan

sıçanlar 7 hafta boyunca incelenmiştir.Tedavi edilmemiş diyabetli hayvanlarda hiperkalsemi,hiperfosfatemi ve fosfatüri tablosu ortaya çıkar.insülin tedavisi sonucu hiperkalseminin düzeldiğini ve kalsiürinin oldukça azaldığını rapor etmişler,fakat idrardaki fosfat seviyesinde bir azalma olmadığını ifade etmişlerdir.Tedavi edilmemiş diyabetli hayvanlarda immüno reaktif paratiroid hormonu (IPTH) miktarı oldukça azalmış olarak tesbit edilmiştir (34).

Harvey ve Nakamoto yüksek protein ve düşük karbonhidratlı diyet uygulanan sıçanlarla kıyas edildiğinde normal günlük besin verilen dişi sıçanların fetüslerindeki alt çene ile uzun kemiklerinin büyüme merkezleri üzerinde uygulanan diyetin etkilerini tespit etmişler. Gebeliğin 9. gününde 1. ve 3. kontrol gruplarına citrate buffer enjekte edilmiş, zikredilen sıraya göre 200 ve 600 gram protein/kg verilmiştir. 2. ve 4. kontrol gruplarına vücut ağırlığına göre 40 mg STZ/kg enjekte edilmiştir. Gebeliğin 22. günü bir kısım dişilere kalsiyum enjekte edilmiştir. Alt çeneler ve uzun kemikler çıkarılmış, tartılarak kalsiyum içeriği,kalsiyum absorpsiyonu, kollagen ve kollagen sentezi bakımından analiz edilmiştir. 200 gr protein/kg verilen diyabetli sıçanlar grubunda fetüsün ağırlığı, alt çene ve uzun kemik ağırlıkları diyabetli olmayan 200 gr protein/kg verilen gruptakilerden daha az bulunmuştur. Halbuki 600 gr protein/kg verilen diyabetli gruptakiler, 600 gr protein/kg verilen diyabetli olmayan gruba kıyasla hiç bir fark göstermemiştir. 600 gr protein/kg verilen grubun fetüsünde

diyabetli olmayan gruba kıyasla kollagen sentezi oranı daha yüksek bulunmuştur. 200 gr protein/ kg verilen diyabetli grubun kemiklerinde kollagen içeriği diyabetli olmayan grupla kıyas edilince daha aşağıda bulunmuştur, halbuki 600 gr protein/kg diyabetli ve diyabetli olmayan gruplar arasında hiç bir fark görülmemiştir. Alt çene ve uzun kemiklerde kalsiyum absorpsiyonu ve toplam kalsiyum içeriği günlük besinlerle beslenen diyabetli ve diyabetli olmayan sıçanlar arasında hiç bir fark gözlenmemiştir. Yüksek protein ve düşük karbonhidratlı diyet diyabetli dişi sıçanların fetüsünün büyümesi üzerinde değişiklikler meydana getirmiştir. Önemli bulgular arasında kemik formasyonunun tamamen azalması ve osteon formasyonunun artışı gözlenmiştir (30).

Geneday ve arkadaşları sıçan modelleri kullanarak prediyabetlilerde alveolar kemik rezorpsiyonunu direkt olarak çeneler üzerinde ölçmüşler ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabetik ve prediyabetik sıçanlarda belirgin farklılıklar görmüşlerdir. Bulguları belirgin alveolar kemik rezorpsiyonunun sadece diyabet gelişmesi için genetik yatkınlığı olan hayvanlarda oluştuğunu göstermiştir (21).

Roe ve arkadaşları diyabetin kemik kitlesine etkisini incelemek için yaşları 5-19 arasında 23'ü kadın 25'i erkek 48 diyabetli hastayı kompütürlü tomografide kontrol grubu ile birlikte incelemişlerdir. Diyabetli çocuklarda kortikal kemik dansitesini kontrole göre anlamlı olarak azalmış bulmuşlardır.

Fakat trabeküler kemik dansitesinde bir fark görmemişlerdir (62).

Sharpey fibrilleri periodontal ligement fibrillerinin alveol kemiğe ataşmanı ile dişe destek sağlar. Diabetes mellitusun bu destek mekanizmasına etkisi tarif edilmemiştir. Bu amaçla Johnson erkek sıçanlara STZ vererek diyabetli hale getirmiştir. Mandibulaları enjeksiyondan 9 hafta sonra çıkarılmış, interdental septumun depozisyon yüzeyinin ön bölgesindeki mineralizasyon periodontal ligamenti içerecek şekilde expose edilmiş, anorganik kısım eritilmiş ve elektron mikroskobu ile incelenmiştir. Diyabetlilerle kontrol grubu karşılaştırıldığında alveoler yükseklikte belirgin bir azalma görülmemiştir ancak belirgin değişiklikler ise kemiğin depozisyon yüzeyleri ve Sharpey fibrillerinde mineralizasyon bölümleri, alveol kemiğine giren Sharpey fibrillerinin sayısı diyabetlilerde belirgindir. Kontrol grubunun Sharpey fibrillerinin mineralize olmayan fissürleri diyabetli hayvanlarda mineralize doku ile giderilmiştir. Diyabetli alveolar duvarın orta ve apikal 1/3'ünün ön tarafı çok sayıda büyük kalsifiye globüllerle kaplanmıştır. Bunlar büyük kalkosteritelere benzerlik göstermekteydi. Bu durum, servikal üçlü veya kontrol dokularda belirgin değildi. Sharpey fibrillerinin yoğunluğu kontrol grubunda diyabetlilerden daha fazlaydı, ancak bunların çapları arasında belirgin bir fark yoktu. Bu araştırmalar erken diyabette periodontal septumun apikal üçlüsü ve ortasının depozisyon yüzeylerinde ve Sharpey

fibrillerinde alveolar tepe yüksekliğinde azalmaya neden olan morfolojik değişiklikler olduğunu göstermektedir. Bu değişiklikler periodontal ligament fibrillerinin kemik ataşmanını zayıflatmakta ve periodonsyumun intrusif kuvvetlere direncini azaltmaktadır (40).

El Deeb ve arkadaşları diyabet meydana getirmek için STZ verilen (70 mg/kg) sıçanlara yerleştirilen subperiostal hidroksiapatit preparasyonu ile kontrol grubu olarak alınan nondiyabetik sıçanları incelemişlerdir. implantlar (HAG, HACM, PFC.HA) dağınık bir şekilde subperiostal ceplere yerleştirilmiş, her gruptan 6 sıçan 3, 6, 12 ve 24 hafta sonra öldürülmüştür. 3 hafta sonra öldürülen hayvanlarda sporadik kemik proliferasyonu ve kemik rezorpsiyonu görülmüştür. Ancak 6,12 ve 24 hafta sonra öldürülenlerde implant/kemik bölgesinde yeni kemik formasyonu görülmüştür. implantın kemik ile teması osteogenez için bir uyarandı, fakat kemik sadece implantın basal tabakasında meydana gelmiştir.ID grubu en büyük enflamatuar yanıtı göstermesine rağmen en büyük osteogenesis derecesini göstermiştir. Hidroksiapatit kollagen eklenmesinin enflamatuar yanıtı azalttığı görülmüştür. HACM implante edilmiş örnekler ID ve ND gruplarının her ikisinde de implante edilen üç materyelin en az enflamasyon gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (15).

Tanigawa ve arkadaşları STZ ile 2-3 haftalık gibi kısa dönemde diyabet oluşturdukları sıçanları kontrol grubu ile birlikte tedavi etmişler. insülinin yapmış olduğu hipoglisemik

devrelerle fetüsün kemik gelişimi ile arada korelasyon kurmaya çalışmışlardır. Araştırmacıların bulgularına göre, insülinle oluşturulan hipoglisemi diyabetiklerde fetüsün ossifikasyonunda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde gecikme göstermiştir. Fetüsde özellikle kostal bölgede ileri derecede iskeletsel malformasyonlar görülmüştür. Bu etki özellikle insülin uygulanmasının onuncu gününde diğer günlere göre daha barizdi. Bu sonuçlar hamileliğin erken döneminde oluşabilecek hipoglisemik dönemlerde fetüsün iskeletsel gelişiminin önemli ölçüde değişebileceğini göstermektedir (71). Biz çalışmamızda STZ ile deneysel diyabet yaptığımız sıçanlara insülin uygulaması yapıp böyle hipoglisemik devrelerde kemikteki yapım değişikliğini değerlendirmedik, fakat biz de bu araştırmacılar gibi kısa dönemde hiperglisemi yapıp kemiğin histopatolojisini inceledik.

Ekstrasellüler kemik matriksinde bulunan, gammakarboksiglutamik asit içeren protein (BGP), ki bu vitamin K'ya bağımlı olarak kalsiyum bağlayan bir proteindir, aynı zamanda periferik kanda ölçülebilir olması nedeniyle metabolik kemik hastalıkları bulunan hastalarda kemik turnover'ının hassas bir göstergesidir. Ishida ve arkadaşları diyabetik osteopeninin fizyopatolojisini incelemek için STZ verilerek diyabetik hale getirilmiş sıçanlarda bu proteinin dolaşım seviyesinde ve kemikteki miktarlarını ölçmüşlerdir. Plazma kalsiyum ve total protein diyabetik grupta dikkate değer şekilde düşmüştü ve BGP plazma düzeyleri diyabetik sıçanlarda 19.6 ng/ml civarındaydı, ki bu normal kontrol grubu sıçanlerinde 89.2 ng/ml olan değerlerin

anlamla ölçüde altındaydı. Plazma BGP düzeyi ile kemik turnover'ı arasındaki ilişki nedeniyle, düşük plazma BGP değeri diyabetik sıçanlarda kemik turnover'ının azaldığını göstermektedir. Bu nedenle araştırmacılar, düşük kemik turnover'ının diyabetik osteopeninin patolojik göstergelerinden biri olduğunu ve Diabetes mellitusda bu komplikasyonun oluşmasından en azından kısmen sorumlu olduğunu varsaymışlardır (38).

Sonuç olarak çalışmamızda, streptozotocin verilerek diyabet oluşturduğumuz sıçanlarda meydana gelen bir takım değişimler sonucu mandibula kemiğinde oluşabilecek hücresel yapıların değişmesi histopatolojik yönden incelemeye tabi tutulmuştur.

Metabolik dengenin düzensizliği neticesinde kemikte patolojik bozukluğun olabileceği ve gelişen osteopeni'nin oral cerrahi yönünden önem arz ettiği düşünülmektedir. Nitekim bu tür hastaların oral muayenesinde diş çürüğüne eğilimin arttığını ve periodontal dokuların yıkımı ile birlikte alveol kemiği yüksekliğinde osteoporoz ve redüksiyon görülmektedir. Kontrol edilmeyen ve tanı konulmamış bu tür metabolik hastalığı olan hastalarda cerrahi operasyondan önce kan şekeri tayininin yapılması ve diyabet sürecinin tesbiti önem arz etmektedir. Özellikle oral cerrahi işlemlerinde diyabetin çene kemiğinde oluşturduğu harabiyet, bu tür vakaların cerrahi müdahale ve tedavilerinde endikasyon ve hastayı uzun süre kontrol altında tutma yönünden önem taşımaktadır. Yapmış olduğumuz bu çalışmanın bu konudaki diğer araştırmalar zemin olacağı kanısındayız.

Ö Z E T

Diabetes Mellitus'un yaşamın herhangi bir döneminde başlayabilen ve birçok sistemik komplikasyonlara yol açabilen endokrin metabolik bir hastalıktır. insülin'e bağımlı diyabetli hastalarda belirgin bir osteopeni'nin (kemik kaybı) ortaya çıktığı bilinmektedir. Azalan bu kemik kütlesinin diyabet süresi ile ilgili olmadığı belirlenmiştir. Ancak hastalığın ilk beş yılındaki kemik kaybının çok önemli olduğu vurgulanmıştır. Osteopeni'nin insülin yetersizliğine bağlı metabolik bir bozukluk sonucu ortaya çıktığına inanılmaktadır. Kontrolsüz diyabetlilerde ve ketoasidozda negatif azot bilançosuna neden olan dönüşümler kemik sisteminde birtakım bozukluklara ve kemiğin protein matriksinin boşalmasına yol açmakta ve ketoasidoz osteoklastik aktiviteyi artırmaktadır.

Bu çalışmada diyabetin kemik dokusuna etkisini incelemek amacıyla sıçanlarda deneysel diyabet oluşturularak mandibula kemiği histopatolojik olarak incelendi. Bu amaçla her deney hayvanına 80 mg/kg olmak üzere Streptozotocin enjekte edildi ve 24 saatte kalıcı diyabet oluşturuldu. Deney grubu sıçanlarda 17 gün sonra kan şekeri değerlerinin başlangıçta 123.00 ± 21.79 mg iken deney sonunda 543.30 ± 34.80 mg olduğu görüldü. Deney hayvanlarının ağırlıkları da 183.42 ± 22.04 gr iken deney sonunda 137.85 ± 16.67 gr'a düştüğü belirlendi. Kalıcı diyabet oluşturulduktan 17 gün sonra deney grubu sıçanlar eterle bayıltılarak açıldı; mandibula kemiği çıkarıldı, histopatolojik

değişimleri değerlendirmek amacıyla hazırlanan preparatlar hematoksilin eosin ve masson boyama yöntemleri ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi.

Çalışmamızda, STZ verilip diyabet oluşturulan deney grubu sıçanların mandibula kemiklerinin kesitlerinde kemik iliği mesafesinde yer yer dikkati çekecek derecede fibröz bağ dokusu oluşumu ve yer yer de kemik iliğinde hiperselülerite görüldü. Kemik dokusunun bazı sahalarında da osteosit sayısında ve damar sayısındaki artışlar dikkati çekti. Kemik iliğinde kalsifikasyon odaklarına rastlandı. Ayrıca bazı deney hayvanlarında ise kemik iliğindeki hücresel elemanların yerini değişik boyutlarda yağ ve bağ dokusunun aldığı gözlemlendi. intratrabeküler alandaki fibröz displaziye benzer değişiklikler görüldü. Çalışmamızda incelediğimiz sıçanların mandibuler kemiklerinin hücresel elemanlarında meydana gelen histopatolojik değişikliklerin, kalıcı diyabete bağlı olabileceği düşünüldü.

SUMMARY

Diabetes Mellitus is one of the endocrine diseases which might cause to many systemic complications. It is also known that Osteopenia has been commonly seen in insulin dependent diabetic patients. According to the studies this bone loss was not related to the duration of the diabetes and the main bone loss during the first five years of the disease was very important. Osteoporosis was believed as a result of metabolic disorder due to insulin insufficiency. Due to ketoacidosis in uncontrolled diabetic patients negative nitrogen balance develops and this lead to decrease in amount of protein and increase of osteoclastic activity bones.

In order to investigate the effect of diabetes mellitus on bone tissue, in this study the effect of diabetes on mandibular bone in diabetic rat was studied histopathologically. Permanent diabetes induced in rats after 24 hours from injecting 80 mg/kg streptozotocin intraperitoneal. Blood sugar level before injecting STZ and after 17 days treatments were 123.00 ± 21.79 mg and 543.30 ± 34.80 respectively. Diabetic rats showed weight loss. The body weight was before STZ treatment was 183.42 ± 22.04 gr, while at the end of the study it was 137.85 ± 16.67 gr. After 17 days from induction of permanent diabetes rats anaesthetized with ether, mandibular bone was removed and sent for histopathological examination using light microscope. Hematoxiline eosin and masson staining methods was used in this investigation.

The histopathological examination showed following changes: local connective tissue fibrosis, bone marrow hypersellulitis, increase in number of osteosit and blood vessels and bone marrow calcification. In some diabetic rats changes of normal cellular elements to fatty and connective tissues in bone marrow was also observed. Also similar fibrous displagia changes was seen in intratrabecular area in some diabetic rats.

As a conclusion of this study the histopathological changes seen in mandibular bone might be due to permanent diabetes mellitus.



KAYNAKLAR

1. Ainamo, J., Lahtinen, A., Uitto, V.-J.: Rapid periodontal destruction in adult humans with poorly controlled diabetes. *J Clin Periodontol*, 17:22-28, 1990.
2. Arison, R.N., Feudale, E.L.: Induction of renal tumor by STZ in rats. *Nature*, 214:1254-1255, 1967.
3. Arnaud, C.D., Rasmussen, H., Anast, C.: Further studies on the interrelationships between hormone and vitamin. *D.J.Clin. Invest*, 45:1955, 1966.
4. Arnould, Y., Dons, H.A., Bastenie, P.A.: Treatment of insulinoma with STZ. *Lancet*, 1:1210-1211, 1969.
5. Atalay, T.: Streptozotocin verilerek diabetes mellitus oluşturulan sıçanlarda, submandibular gland'ın sekretuar hücrelerinde meydana gelen değişikliklerin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenmesi. M.Ü. Diş Hekimliği Fak., Oral Diagnoz A.B.D., Doçentlik tezi, 1984.
6. Avery, G.S.: Principles and Practice of Clinical Pharmacology and Therapeutics. Second Edition, ADIS Press, Sydney. 542, 1980.
7. Bağrıaçık, N.: Diyabet ve Tedavisi, Nurettin Uycan Cilt ve Basım A.ř. İstanbul, 20-50, 1988.
8. Blum, J.W., Mayer, G.P., Potts, J.I. Jr.: Parathyroid hormone responses during spontaneous hypocalcemia and induced hypercalcemia in cows. *Endocrinology*, 95:84-87, 1974.
9. Chandramouki, V., Carter, J.R.: Cell Membrane Changes in Chronically Diabetes Rats. *Diabetes*, 24:257-260, 1975.
10. Conner, S., Ironpour, B., Mills, J., Rochester, N.Y.: Alteration in parotid salivary flow in diabetes mellitus. *Oral Surg.*, 30:55, 1970.
11. Davidson, D., Leibel, B.S., Berris, B.: Asymptomatic parotid gland enlargement in diabetes mellitus. *Annals of internal medicine*, 70:131, 1969.

- 12.Devrim,A.S.,Altuğ,T.,Küçük,M.,Erseven,G.:Sıçanlarda multipl subdiabetojenik streptozotocin zerkleri ile oluşturulan diabet modeli hakkında.Diabet Yıllığı,1:166-180,1983.
- 13.Dietrich,J.W.,Canalis,E.M.,Maina,D.M.,Raisz,L.G.:Hormonal control of bone collagen synthesis in vitro:effects of parathyroid hormone and calcitonin.Endocrinology,98:943,1976.
- 14.Dulin,W.G.,Soret,M.G.:Chemically and hormonally induced diabetes"The diabetic pancreas".Brunow volk and Klaus l. Wellim, Planum Press New York,second printing,425-457,1979.
- 15.el Deeb,M.,Roszkowski,M.T.,Sauk,I,el Hakim,I,Swak,J.: Extracranial and mandibular augmentation with hydroxyapatite-collagen in induced diabetic and nondiabetic rats.Journal Oral and Maxillofacial Surg,70:165,1991.
- 16.Emekli,N.:Ateroskleroz ve Glikolizasyon,XXII.Ulusal Hematoloji Kongresi,124,1991.
- 17.Emrich,J.L.,Shlossman,M.,Genco,R.J.:Periodontal disease in non-insulin dependent diabetes mellitus.J Periodontol,62:123, 1991.
- 18.Erimoğlu,C.:insan Anatomisi.Üniv. Yayını,No:3187:7-11,1990.
- 19.Fisher,J.A,Blum.J.W.,Hunziker,W.,Binzwanger,U.:Regulation of circulating parathyroid hormone levels.Klin Wschr.53:939,1975
- 20.Ganda,O.P.,Rossini,A.A.,Like,A.A.:Studies on the STZ diabetes. Diabetes,25:595-603,1976
- 21.Genaday,G.,Garfunkel,A.A.,Cohen,A.M.:Alveolar bone changes in experimentally induced prediabetics and diabetes.Journal Dent Sci,41:137,1989.
- 22.Genuth,S.:Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. Medical Clinics of North America,66:191-197,1982.
- 23.Golub,L.M.,Lee,H.M.,Lehrer,G.,Nemiroff,A.,McNamara,T.F., Kaplan,R.,Ramamurthy,N.S.:Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes:preliminary observation and a proposed new mechanism of action.J Periodontol Res,18:516-526,1983.

24. Golub, L.M., Ramamurthy, N.S., Kaneko, H., Sasaki, T., Rifkin, B., McNamara, T.F.: Tetracycline administration prevents diabetes-induced osteopenia in the rat. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, 68:27-37, 1990
25. Golub, L.M., Ramamurthy, N.S., McNamara, T.F., Gomes, B., Wolff, M., Casino, A., Kapoor, A., Zambon, J., Ciancio, S.G.: Tetracycline inhibit tissue collagenase activity: A new mechanism in the treatment of periodontal disease. *J Periodontal Res*, 19:651-655, 1984.
26. Goodman and Gilman: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Sixth Edition, MacMillan Publishing Co., Inc. New York, 1252-1259, 1982.
27. Goodman, A. and Gilman, A.: *The pharmacological basis of therapeutics*. Mac Millan Publishing Company, 1503-1505, 1975.
28. Gottsegen, R.: *Diabetes mellitus, Cardiovascular Diseases and Alcoholism*. *Clinical periodontology*, seventh edition: 274-275, 1990.
29. Gurr, E.: *Biological staining methods*. 8th edition, 36-47, 1973.
30. Harvey, W.K., Nakamoto, T.: The influence of a high-protein, low-carbohydrate diet on bone development in the fetuses of rat dams with streptozotocin-induced diabetes. *British Journal of Nutrition*, 59:57-62, 1988.
31. Hatemi, H., Biyal, F., Korugan, Ü.: *Diabetes Mellitus*, *Dergah Yayınları*, 35-38, 1983.
32. *Heredity and other factors in the development of diabetes*, in *Diabetes Mellitus*, Edited by S.D. Waife, Ch 2. 12-19. Indiana, Eli Lilly and Comp. 1980.
33. Hoftieger, V., Carpenter, A.M.: Comparison of streptozotocin and alloxan-induced diabetes in the rat including volumetric quantitation of the pancreatic islets. *Diabetologia*, 9:178, 1973.
34. Hough, E., Avioli, L.V., Bergfeld, M.A., Michael, D.N., Slatopolsky, E., Teitelbaum, S.L.: Correction of abnormal bone and mineral metabolism in chronic streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat by insulin therapy. *The Endocrine Society*, 108:2228-2233, 1981.

35. Hough, F.S.: Alteration of bone and mineral metabolism in diabetes mellitus. *SAMJ*, 72:120-123, 1987.
36. Howell, S.D.: Metabolic bone diseases. Chapter 82. 1310-1311, 1973.
37. Hugoson, A., Thorstensson, H., Falk, H., Kuylenstierna, J.: Periodontal condition in insulin dependent diabetics. *J Clin Periodontol*, 16:215-223, 1989.
38. Ishida, H., Seino, Y., Taminato, T., Usomi, M., Takeshita, N., Seino, Y., Tsutsumi, C., Moriuchi, S., Akiyama, Y., Hara, K., Imura, H.: Circulating levels and bone contents of bone gamma-carboxyglutamic acid-containing protein are decreased in streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes*, 37:702-705, 1988.
39. Janguerira, I.C., Corneiro, J., Contopoulos, A.: Basic Histology. 5. Baskı. 89-119, 1986.
40. Johnson, R.B.: Morphological characteristics of the depository of alveolar bone of diabetic mice. *Journal of Periodont Rec*, 7:40, 1992.
41. Junod, A., Lambert, E., Stauffacher, W., Renold, A.: Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *The Journal of Clinical Investigation*, 48:2129, 1969.
42. Kayaalp, S.O.: Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, ikinci baskı, cilt 1, 754, 1981.
43. Lazarus, S.S., Shapino, S.H.: Serial morphologic changes in rabbit pancreatic islet cells after STZ. *Lab. Invest.* 27:174-183, 1972.
44. Leslie, R.D.G., Lazarus, N.R., Vergani, D.: Aetiology of insulin dependent diabetes. *British Medical Bulletin*. 45:58-72, 1989.
45. Leslie, S.C.C., Harriet, E.P., Constance, C., Rusetto, S.B.: Ultrastructural studies of the rat submandibular gland in STZ induced diabetes mellitus. *Virchows, Arch A Path and Histol*, 382:301, 1979.