

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
VCR-YL-2006-2011

**DENEYSEL DİABET OLUŞTURULAN RATLARDA DİĞER
DOKUSUNUN EKSTRASELLÜLER MATRİKS VE HÜCRE
YÜZEYİNDE BULUNAN GLİKOKONJUGATLARIN YAPISI VE
LOKALİZASYONUNUN İNCELENMESİ**

Sabri Fatih KURBANLU

DANIŞMAN
Prof. Dr. Aytegin BİLİK

İkinci Danışman
Prof. Dr. Kamil SEYREK

AYDIN-2011

Ç NDEK LER

- Giri
- Diabetes Mellitus'un Sınıflandırması
- Tip 1 Diabetes Mellitus ve Tip 2 Diabetes Mellitus
- Diabetes Mellitus Tanısı
- Deneysel Diabet Modelleri
- Di ler ve Di lere Ba lı Destekleyici Yapılar
- Diabet ve Periodontal Doku
- Ba dokusu ve Ekstraselüler Matriks
- Glikoproteinleri ncelemede Kullanılan Ba lıca Önemli Yöntemler
- Gereç ve Yöntem
- Bulgular
- Tartı ma
- Sonuçlar
- Özet
- Kaynaklar
- Te ekkür

GİRİŞ

- Diabetes mellitus, insülin salgısının yetersizli i ve/veya insülin etkisizli i sonucu açığa çıkan, karbohidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluklarına neden olan, kronik hiperglisemi ile oluşan bir hastalıktır (Genuth ve ark. 1998).
- Kanda glikozun normal değerlerin üzerinde bulunması toksik etkilidir ve vücudun tüm hücrelerinde az veya çok tahribata neden olur. Bu tahribat, çok yavaş olmasına karşın oldukça tehlikelidir (Mamo lu 2009).
- Periodontal hastalık ve diabet arasındaki ilişki, uzun yıllardan beri araştırılmış ve genel olarak da periodontal hastalığın diabetlilerde, non-diabetlilere göre daha sık ve şiddetli olarak seyrettiği bildirilmiştir. Bu güne kadar diabetli ratların diş eti dokusundaki glikokonjugatların yapılarında ve lokalizasyonunda bir değişimin olup olmadığı konusunda bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada bu konudaki eksikliğin giderilmesi amaçlanmıştır.

Diabetes Mellitus'un Sınıflandırması

Günümüze kadar diabetin de i ik sınıflandırması yapılmı tır. Dünya Sa lık Örgütü (DSÖ= WHO, Word Helth Organisation), 1985 yılında diabet hastalı nı insüline ba ımlı diabet (Insülin-Dependent Diabetes Mellitus, IDDM) ve insülin ba ımlı olmayan diabet (Non- Insülin Dependent Diabetes Mellitus, NIDDM) olarak ayırmı ve klinik bir sınıflama yapılmı tır (Yenigün M. 2001). 1997 yılında ADA etiyolojik bir sınıflama yaparak, IDDM ve NIDDM yerine Tip 1 ve Tip 2 diabet terminolojisini önermi tir (Alberti ve Zimmet 1998).

Etiyopatogeneze Göre Diabetes Mellitusun Sınıflandırılması

- I. Tip 1 diabet (pankreas hücre hasarına ba lı olu an insülin eksikli i sorumludur)
 - A. Otoimmün nedenli
 - B. diyopatik
- II. Tip 2 diabet (de i ken derecede insülin rezistansı , rölatif insülin eksikli i vardır)
- III. Di er spesifik tipler
 - A. Pankreas hücre fonksiyonlarının genetik bozuklukları
 - B. nsülin etkisinde genetik defektler
 - C. Ekzokrin pankreas hastalıkları
 - D-Endokrinopatiler
 - E- laç ve kimyasal maddeler
 - F-Enfeksiyonlar
 - G- mmün aracılıklı diabetin nadir formları
 - H-Diabetle ili kili olabilen di er genetik sendromlar
- IV - Gestasyonel Diabetes Mellitus. (Alberti ve Zimmet 1998):

Tip 1 Diabetes Mellitus ve Tip 2 Diabetes Mellitus

Ciddi insülin eksikliği ile karakterize olan Tip 1 diabet de, yaşamı sürdürmek ve ketozisten korunmak için dışarıdan insülin alınmalıdır.

Insülin, hücresel glikoz alımını, glikolizi, glikojen sentezini, protein sentezini ve lipogenezi artırır. Epinefrin, kas ve yağ dokusunda glikozun hücre içine girişini inhibe eder, glikojenolizi, glukoneogenezi uyarır, lipolizi artırır.

Tip I Diabette asıl defekt insülin yetmezliği olmasıdır. Ancak, insülin karınıtı hormonların plazma düzeylerinin artması ardından hipergliseminin hakim olduğu metabolik bozulmalar; hiperozmolarite, osmotik diürece yol açar. Sıvı kaybı ile birlikte elektrolit imbalansı ve asidoz olur (Genuth 1998).

Tip 2 diabet genetik olarak bu hastalığa eğilimli olan kişilerde ihtiyaçtan daha fazla kalori alımının devam etmesi durumunda ortaya çıkan bir hastalıktır. Tip 2 diabete neden olan birçok genetik bozukluk vardır. Bu genetik bozukluklar neticesinde şeker metabolizması, yağ ve protein metabolizmasında bozukluklar oluşarak şeker hastalığı meydana gelmektedir (Gündoğdu ve Açbay 1996).

Toplumda en sık rastlanılan diabet tipidir. Genellikle 45 yaş üzerinde ilk yakınmalar başlar, kronik seyirlidir ve sinsi girdir. Hastaların hekime ilk başvurma nedenleri polidipsi, poliüri ve polifaji gibi yakınmalardan ziyade görme bozuklukları, el ve ayaklarda uyuşukluk veya fasiyal sinir paralizisi gibi kronik komplikasyonlar mevcuttur. Hastaların çoğu obezdir. Aile öyküsü hemen hepsinde alınabilmesine karşılık, hastalık henüz tek bir genetik zemine oturtulamamıştır (Gündoğdu ve Açbay 1996).

Diabetes Mellitus Tanısı

- Diabetes Mellitus tanısı anamnez, fizik muayene ve e itli ko ullar altında plazma glikoz de erlerinin ölçülmesiyle konur. Diabet tanısı için takip eden farklı günlerde do rulama gerekmektedir (mamolu 2009).
- Açlık plazma glikozu 100-125 mg/dl arasında ise Bozulmuş Açlık Glikozu, oral glikoz tolerans testi sonrası 2. saat plazma glikozu 140-200 mg/dl arasında ise Glikoz intoleransı olarak tanımlanır.
- Epidemiyolojik çalışmalar için insidans ve prevalansın hesaplanması açlık plazma glikozunun 126 mg/dl (7.0 mmol/L) olmasına dayanır (Tuomiletho ve ark 1994).
- Diabetten kaynaklanan komplikasyonların biyokimyasal temeli bugüne kadar diabetin komplikasyonlarının biyokimyasal temelini açıklanmasına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Hayvan modelleri kullanılarak oluşturulan sayısız deneysel çalışmalara karşın komplikasyonların tümünün nasıl ortaya çıktığının açıklanması tam olarak mümkün olmamıştır. Bunun nedeni ise diabet sonucu ortaya çıkan komplikasyonların çok sayıda organı etkilemesi olarak gösterilmiştir.
- Kan glikoz seviyesinin uzun süreli yüksek seyretmesi dokularda yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Dokularda oluşan hasarın nedenleri arasında proteinlerin nonenzimatik glikolizasyonu önemli bir yer tutar. Glikolize olan proteinler biyolojik fonksiyonlarını yerine getirememektedir (Ekmetzoglou ve Zografos, 2006).

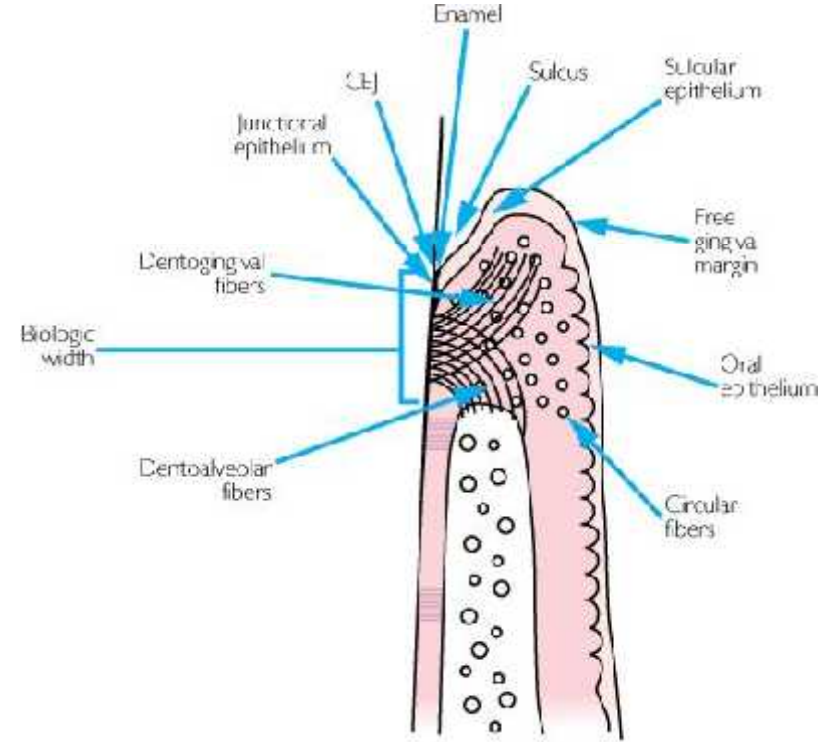
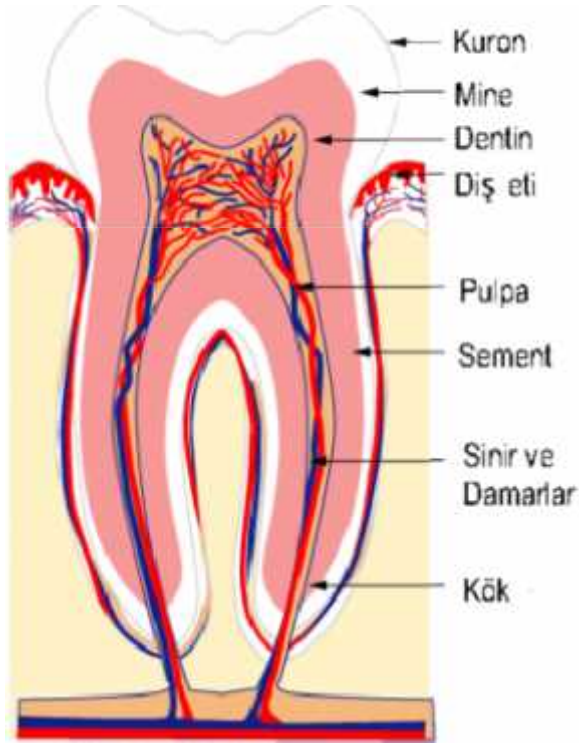
Deneysel Diabet Modelleri

- Hayvanlarda Diabetes Mellitus, kedi ve köpeklerde sıkça karşılaşılan endokrin bir hastalıktır (Şekeroğlu ve ark 2000, Rand ve ark 2004). Tip 1 diabet genelde köpeklerde görülürken tip 2 diabet daha çok kedilerde görülür (Rand ve Marshall 2005, Zerbe 2001).
- DM nadiren de olsa koyun, keçi gibi küçük; sığır gibi büyük ruminant ile at gibi tek tırnaklı hayvanlarda da görüldüğü bildirilmektedir (Pamukçu 1998, Taniyama ve ark 1993).
- Deneysel diabet modelleri, birçok hayvan diabet modeli bulunmakla beraber, bu modellerden hiçbirisi insan diabetine tam olarak eşdeğer tutulamaz. Fare, sıçan, tavşan, kobay, hamster, gibi deney hayvanları deneysel diabet oluşturmak amacıyla kullanılabilir (İrer ve Alper 2004).

Dişler ve Dişlere Bağlı Destekleyici Yapılar

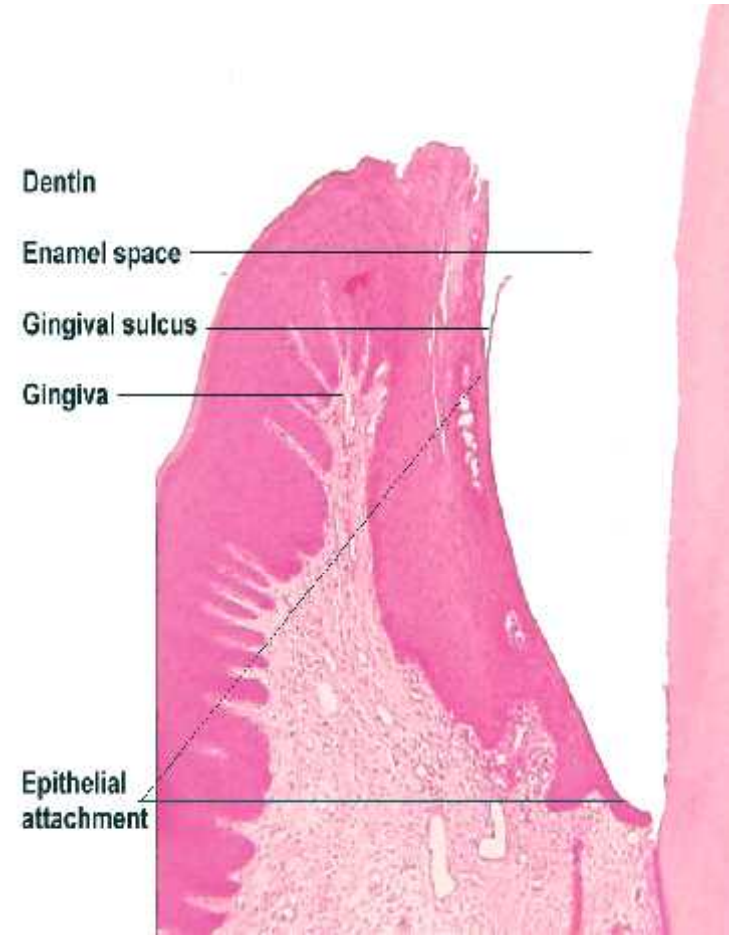
- Dişler, diş etinin (gingiva) üzerinde kalan taç bölümü ile diş eti içinde yer alan, kemiğe gömülü kök bölümü olmak üzere iki anatomik bölümden oluşur. Bu iki bölüm dişin boyun (serviks) bölümünde birleşir.
- Dişler histolojik özellikleri birbirinden farklı bölümler içerirler. Dişin ortasında yer alan ve kök kanalı ile devam eden pulpa boşluğunda özel bir bağ dokusu olan pulpa bulunur.
- Pulpa kavitesini dentin çevreler. Dentinin dışında taç bölümünde mine, kök bölümünde ise sementum ve periodontal ligament (periodontal membran) yer alır. Periodontal ligament, diş kökünü alveol kemiğine bağlar. Mine, dentin ve sementum inorganik matriksten zengin, dişin sert bölümleridir. Pulpa, gingiva ve periodontal ligament ise organik matriksten zengin yumuşak bölümlerdir (Ross ve ark. 1995).

Periodontiyum dört ana komponent ihtiva eder ki bunlar; di eti, periodontal ligament, alveol kemi i ve sementtir. Bu periodontal komponentlerin her biri gerek yerle imleri, gerek doku yapıları, gerekse hücresel ve kimyasal kompozisyonları açısından farklı olmalarına rağmen, tek bir ünite gibi birlikte görev yaparak, di lerin uygun fonksiyonlarını yerine getirmek için destek sa larlar (Bartold ve ark. 2000).



- Dişeti bağ dokusunda yer alan ESM' nin organik bileşenleri kollagenler, nonkollagenöz proteinler ve proteoglikanlardır. Kollagenler esas yapı elemanını oluşturur.
- Sağlıklı bir dişeti, normal olarak alveol kemiği ve diş kökünü koronalden minesement birleşime kadar kaplar (Narayanan 1994).
- Epitel, doğal olarak bol sellüler yapıdadır; bağ dokusu ise daha az sellülerdir ve fibröz-nonfibröz proteinlerin, büyüme faktörleri, mineraller, lipitler ve suyun bütünleyici bir ağ örgüsü şeklinde kompoze olmuştur.
- Periodontal bağ özel bir tip bağ dokusudur. Lifleri bir taraftan dişin seğmentine girip onu kemiksi cebin duvarına bağlarken, diğer taraftan dişin sınırlı bir şekilde hareket etmesine izin verir (Bartold ve Narayanan 1998).

- Anatomik olarak dişeti üç farklı kısma ayrılır; serbest marjinal dişeti, interdental dişeti, yapışık dişeti.
- Histolojik olarak ise iki farklı komponente ayrılır; üstte uzanan epitelyal yapılar ve altta uzanan bağ dokusudur (Sandallı 1981).



Resim 1. Periodontal Destek Doku

Diabet ve Periodontal Doku

- Diabetes mellitusun, komplikasyonlarından birinin de periodontitis olduğu artık araştırmacılar tarafından kabul görmektedir.
- Periodontitis, alveol kemiği, sement ve periodontal ligament gibi diş destek dokularının kronik iltihabıdır. Önceleri periodontal infeksiyonların sadece periodonsiyumda lokalize olduğu ileri sürülmüşse de günümüzde bu görüş tamamen değişmiştir.
- Son yıllarda yapılan araştırmalar sonucunda periodontitisin subklinik kronik bir hastalık gibi sistemik enflamatuar cevaba katıldığı ve yüksek serum CRP, IL-6, IL-1 ve TNF-; konsantrasyonlarına eşlik ettiği ileri sürülmektedir (Ide ve ark 2003).

- Diabetin periodontal dokular üzerindeki asıl etkisi immunoinflamatuvar cevap ve doku homeostazındaki değişikliklerdir.
- Glikasyon son ürünlerinin serumdaki konsantrasyonları arttığı zaman dişeti oluşu sıvısına da geçebilmektedir. Dişeti oluşu sıvısındaki ileri glikasyon son ürünleri, oksidatif stres, vasküler yaralanma ve sitokin artışına neden olarak periodonsiyumda patolojik değişiklere sebep olmaktadır.
- Diabetes mellitusun, patogeneğinde yer alan faktörlerden en önemlileri mutlak/nisbi insülin eksikliği ve insülin direncidir. İnsülin direnci, glikozun hedef hücrelere transfer kapasitesinde azalmaya neden olduğundan dolayı hiperglisemi gelişir (Mealey ve Oates 2006).

- Dişeti cebinin enflamatuar yumuşak doku duvarından kaynaklanan Dişeti Oluğu Sıvısı (DOS), başlıca enflamatuar hücreler, serum proteinleri, bakteriler, doku yıkım ürünleri, enzimler, antikorlar, kompleman ve enflamatuar mediatörler içeren seröz veya visköz eksudatıdır.
- Periodontal hastalık, dişler üzerinde kolonize olan ve çevre yumuşak dokuları infekte eden bakteriler tarafından başlatılan, dişeti ve dişleri destekleyen dokuların infeksiyonudur (Lalla ve ark. 2006).
- Diabete bağlı olarak periodontal dokularda ortaya çıkan metabolik bozukluklar ve mikroanjiopatiler doku direncini olumsuz yönde etkilemektedir (Löe 1993, Mealey ve Oates 2006).
- Diabet periodontal sağlığı olumsuz yönde etkilerken, periodontal infeksiyonların da glisemik kontrolü olumsuz etkilediği bilinmektedir. Ayrıca stres, puberte, menstruasyon ve hamilelik dönemlerindeki hormonal değişiklikler periodontal kapiller permeabilite ve subjinjival florayı değiştirerek jinjivit ve PH gelişimini artırmaktadır (Garcia 2005).

Periodontal Hastalığın Diabetik Durum Üzerine Etkisi

- Periodontal hastalıkların diabet üzerine etkisini araştıran çalışmalar, ilerlemiş periodontal hastalıkların zayıf glisemik kontrol ve diğer sistemik komplikasyonlarla (kardiovasküler hastalık ve ölüm oranı, proteinüri ve nefropati) ilişkili olduğunu göstermiştir (Faria ve ark. 2006).
- Periodontal hastalığın, diabetin metabolik durumu üzerine belirgin bir etkisinin olduğu saptanmıştır. Periodontitis oranı arttıkça glisemik kontrolde kötüleşme riski artmaktadır.
- Bir çalışmada şiddetli periodontitisi olan diabetik vakalarda periodontitisi olmayan diabetik vakalara kıyasla glisemik kontroldeki kötüleşme riskinin 6 kat arttığı gözlenmiştir. Diabetik bireylere uygulanan periodontal tedavinin glisemik kontrolde iyileşme sağlayabileceğine yönelik çalışmalar bulunmaktadır (Oliver ve Tervonen 1994, Faria ve ark. 2006).

- Kontrol altında olmayan diabetik bireyde yürütülen bir çalışmada, peridontal tedavi ve sistemik antibiyotik tedavisinin diabetin kontrolü üzerine etkileri değerlendirilmiştir.
- Periodontal tedavi ve 2 hafta süreyle günde 100 mg sistemik doksisisiklin tedavisi uygulanan grupta, tedavi uygulanmayan kontrol grubuna göre periodontal durumda belirgin oranda iyileşme ve HbA1c değerlerinde de azalma elde edilmiştir.
- Longitudinal bir vaka kontrol çalışmasında şiddetli periodontitisi olan diabetik bireylerin % 82' sinde major kardiyovaskuler, serebrovaskuler veya periferel vaskuler hastalıkların biri veya daha fazlasının başladığı gözlenirken bu oran periodontitisi olmayan diabetik bireylerde % 21 olarak bulunmuştur (Oliver ve Tervonen 1994).

Bağ dokusu ve Ekstraselüler Matriks

- Bağ dokusu; bağdokusu hücreleri ve bu hücrelerin arasını dolduran hücre dışı matriksten oluşur. Hücre dışı matriks, aynı zamanda ekstraselüler matriks (ECM) olarak da adlandırılır.
- ECM bağ dokusunun liflerini ve hücrelerini çevreleyen kollajenler, kollajen dışı glikoproteinler ve proteoglikanların bir bileşimidir. Hücreler arasındaki boşlukları doldurur, hücreleri ve dokuları birbirlerine bağlarlar.
- Hücreleri besleyici ve koruyucudur. Bağ dokusu iplikleri ve şekilsiz temel madde olarak iki kısımda incelenilebilir. Bağ dokusu iplikleri retikulum iplikleri, elastik ipliklerdir. Retikulum iplikleri; Çoğunlukla kırmızı kemik iliği, dalak, lenf düğümleri, lenf foliküllerinde bulunur.
- Elastik iplikler; en az bulunan bağ doku iplikleridir. 1-4 mikron büyüklüklerindedir. Elastik arterler, düz kas tendoları, akciğerlerde bulunurlar. Fibroblastlar ve az miktarda da düz kas telleri tarafında yapılırlar (Aytekin 1998).

- Epitel ve epitel olmayan hücreler ECM bileşenleri için reseptörlere sahiptir. Örneğin fibronektin ve laminin için bağlanma afinitesi içeren integrinler ailesidir.
- İntegrinler hücre biçimi ve adezyonu değiştirerek veya fokal temaslar kurarak ECM ile hücre etkileşimlerini kuvvetlendirerek hücre iskeleti ile etkileşir.
- ECM çeşitli kollajen olmayan glikoproteinleri hücrelerle etkileşimlere aracılık eder ve ECM bileşenlerinin toplanmasını düzenler. Hücre dışı matriksin en önemli yapısal protein olan ve hayvan dokularında en çok bulunan protein kollajendir. Kollajenler en az 19 farklı üyesi bulunan büyük bir protein ailesidir.
- Üç polipeptid zincirinin, halata benzer bir yapı oluşturmak üzere birbirlerine sıkıca dolandığı üçlü sarmal yapılarıyla karakterizedir. En bol bulunan kollajen tipi - tip I, bağ dokularının temel yapısal bileşeni olan fibril oluşturan kollajenlerden biridir.
- Bu kollajenler hücreden salgılandıktan sonra, üçlü sarmal moleküllerin düzenli, aralıklı diziler halinde bir araya geldiği kollajen fibrillerini oluştururlar (Ross ve ark. 1995).

- Bağ dokuları kollajen fibrillerin yüzeyine bağlanarak onları birbirlerine veya diğer matriks bileşenlerine tutturarak, fibril bağlantılı kollajenler de içerirler. Bazal lamina, ağ yapan kollajen tip IV den oluşur.
- İki boyutlu ve çapraz bağlantılı bir ağ halinde bir araya gelirler. Ağ yapan kollajenler fibril yapan kollajenlerden daha esnektir. Bir başka kollajen tipi de, bazı bazal laminaları alttaki bağ tabakasına bağlayan sabitleme fibrillerini oluşturur (Aytekin 1998).

Dağılımlarına göre kollajen çeşitleri

Kollajen Sınıfı	Tipleri	Doku Dağılımı
Fibril bağlantılı	IX	Kollajen II içeren dokular
	XII	Kartilaj ve fibroz doku
	XIV	Esnek bağ doku, akciğer
	XVI	Çoğu doku
Ağ oluşturan	IV	Bazal Lamina
Sabitlenen filamentler	VII	Bazal Laminanın altındaki bağ dokusuna tutunması

- Ba dokuları, düzenli olarak genle ip tekrar ba langıçtaki biçimine dönen organlarda özellikle bol miktarda bulunan elastik fibrillere de sahiptir.
- Proteoglikanlar, hücre dı 1 matriksin büyük bir bölümünü amino ekerler, eker asitleri ve üronik asit içeren polisakkaridler olu turur. Asit karakterli olan bu polisakkaritlere glikozaminoglikanlar (GAG) denir.
- Proteoglikan kümeleri, ECM' nin ana bile enleridir. GAG' lar bir protein gövdeye ba lanarak proteoglikanları olu tururlar. GAG' lar hücre yüzey bile enleri, büyüme faktörleri ve di er ECM bile enleri ile ba lar kurarak proteoglikanların biyolojik fonksiyonlarını kontrol eder (Aytakin 1998).

- Glikoproteinlerin karbonhidrat kısmında ba lıca 7 çe it monosakkarid bulunur. Bu monosakkaridler, de i ik sıralama ve farklı ba yapıları ile bir araya gelirler ve sonuçta çok sayıda karbonhidrat zinciri yapısı ortaya çıkar.
- Glikoproteinlerde yer alan monosakkaridler; glikoz, galaktoz, mannoz, fukoz, N-asetil glikozamin, N-asetil galaktozamin, N-asetilnöraminik asit (sialik asit)'tir. Bunlardan ba ka daha az sıklıkla rastlanan arabinoz ve ksiloz vardır (Rao ve ark. 1998).
- Oligosakkarit zincirleri glikoproteinlerin peptid omurgasına 5 ayrı amino asit artı 1 birinden ba lanmı lardır. Bunlar; asparajin, serin, treonin, hidroksilizin veya hidroksipirrolindir (Yavuz 2001).

- İçerdikleri bağ tipine göre glikoproteinler, N-glikozidik bağı içerenler ve O glikozidik bağı içerenler olmak üzere 2 ana sınıfa ayrılır.
- N-glikozidik bağı içeren glikoproteinlerde Şeker asparajin yan zincirinin amid grubuna bağlanır. Ovalbumin, immunglobulinler, orosomukoid başlıca N-bağlı glikoproteinlerdir. N-bağlı glikoproteinlerde karma, mannozdan zengin ve melez oligosakkaritler olmak üzere 3 ana sınıf oligosakkarit bulunur.
- Her 3 sınıf glikoproteinde de ortak bir pentasakkarit çekirdek bulunur. (Man3 Glc NAc2) Bu ortak pentasakkaritin varlığı bunların biyosentezlerinde ortak bir baŐlangıç mekanizmasının bulunması ile açıklanır (Murray ve ark.1998).

- Karma tip glikoproteinler genellikle uç NeuAc kalıntıları ile tabanda yatan Gal ve GlcNAc kalıntıları içerir. Karma glikoproteinler hayvan glikoproteinlerinde bulunur. 100'den fazla tipinin belirlenmiş olması kimyasal işaretleme ve tanıma olaylarında karbonhidratların farklılığını gösterir (Nelson ve Michael 2000).
- Mannozdan zengin oligosakkaritler tipik olarak, pentasakkarit çekirdeğe bağlı 2-6 ek mannoz kalıntısı içerirler. Bütün N-bağlı oligosakkaritler başlangıçta mannozdan zengin yapılar halinde oluşurlar, daha sonra farklı tipte kompleks oligosakkaritlere farklılaşırlar.
- Bunlar hayvan glikoproteinleri içinde sınırlı sayıda yer alırlar. Daha çok düşük ökaryotlarda ve viral zarf glikoproteinlerinde bulunurlar. Melez oligosakkaritler ise diğer iki sınıfın her ikisine ait nitelikleri taşırlar (Elbein 1999).

- N-bağlı glikoproteinler glikoproteinlerin ana sınıfını oluşturur. Glikoproteinlerin biyosentezi, N- ve O-bağlı glikoproteinlerin sentezi endoplazmik retikulumun lümeninde ve golgide gerçekleşir.
- O-bağlı glikoproteinlerin sentezi sırasında lipid taşıyıcılar olaya katılmazken N-bağlı glikoproteinler lipid yapısında olan dolikol ve onun fosforile türevi olan dolikol pirofosfata gereksinim gösterirler (Opdenakker ve ark. 1993).
- N-glikolizasyon olayı 2 evreye ayrılabilir:
- 1. Oligosakkarit P-P dolikol'ün bir araya gelmesi ve aktarılması
- 2. Oligosakkarit zincirinin işlemlenmesi O-bağlı oligosakkaritlerin sentezi ise şeker nükleotidlerden şekerlerin basamak basamak eklenmesi ile golgi'de gerçekleşir. Lipid taşıyıcılar olaya katılmaz (Yavuz 2001).

- Glikozilfosfatidilinozitol (GPI) bağlı glikoproteinler glikoproteinlerin üçüncü büyük sınıfını oluşturur. GPI bağlı glikoproteinler plazma zarının dış katmanına fosfatidilinozitolün (PI) yağ asitleri ile tutunur.
- PI, bir Glc- NH₂ parçası yoluyla, çeşitli şekerler içeren bir glikan zincirine bağlanır. Oligosakkarit zinciri daha sonra fosforiletanolamin yoluyla bir amid bağı ile bağlanan proteinin karboksil ucuna bağlanır.
- Glikozilfosfatidilinozitol çatılarının çoğu bir molekül fosforiletanolamin, üç MannoZ kalıntısı, bir molekül GlcNH₂ ve bir molekül fosfatidilinositol içerir (Gabiuz 1997).
- Bazı GPI bağlı proteinler; Asetilkolinesteraz (alyuvar zarı), alkale fosfataZ (barsak, plasenta), yıkım hızlandırıcı faktör (alyuvar zarı), 5'-Nükleotidaz (T lenfositler), Thy-1 antijeni (beyin, T lenfositler), değişken yüzey glikoproteinleri (Trypanosoma brucei) dir (Allen ve Kisailus 1992).

- Glikoproteinlerin yapısındaki şekerlerin en önemli görevleri moleküller ve hücreler arası tanıma olaylarında görülür (Lisowska 2002).

Bundan başka;

Hücre içinden ve dışından gelen proteolize karşı korunma sağlar,
Öncül proteinlerin daha küçük ürünlere proteolitik işlemesini etkiler,
Fizikokimyasal nitelikleri (çözünürlük, akıkanlık, yük ve denaturasyon) değiştirir,
Biyolojik etkinliğe katılır (örn: korionik gonadotropini),
Zarlarla yerleşmeyi, hücre içi göçü, sınıflandırılmayı ve salgılamayı etkiler,
Embriyonik gelişmeyi ve farklılaşmayı etkiler,
Kanser hücreleri tarafından seçilen metastaz noktalarını etkiler (Murray ve ark.1998).

- Birçok hücre bileşeninin hidrolizini ve dönüşümünü gerçekleştiren lizozomlar; proteazlar, lipazlar, glikozidazlar gibi birçok lizozomal enzimler içerirler. Bu enzimler N-bağlı glikoprotein yapısındadır. Mannoza zengin oligosakkaritler bazı proteinleri hücredeki spesifik bölgelere hedefler.
- Proteoglikanlar bağ dokusunda fibroblast, kıkırdak dokuda kondroblast, kemik dokuda osteoblastlar tarafından sentezlenir. Proteoglikanlar aşırı derece de fazla yük yoğunluğuna sahiptir, bu yüzden belirgin osmotik basınca sahiptir. Bu durum, bu moleküllerin çok yüksek şişme kapasitelerinden dolayı, sıkıştırmaya karşı direnç göstermek için bir bağ dokusu yatağı oluşmasına katkıda bulunur.
- Fetus – anne arasında sıvı, gaz değişim için önemli elementler olan göbek bağı damarları, sıkışmaya karşı direnç sağlamak için bağ dokunun proteoglikanca zengin bir tipi ile çevrilmiştir (Kobata 1992).

Proteoglikanlar yaygın olan GAG türüne göre isimlendirilir.

- Proteoglikan dermatan sülfat
- Proteoglikan kondroitin sülfat
- Proteoglikan keratan sülfat
- Proteoglikan heparan sülfat

Glikoproteinleri ncelemede Kullanılan Ba lıca Önemli Yöntemler;

- Bu yöntemlerden en sık kullanılanları, İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer Chromatography) (TLC), Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography) (HPLC), Gaz Kromatografisi (Gass Chromatography) (GC) dir.
- Lektin Affinite Kromatografisi: Kullanılan özgül lektine bağlanan glikoproteinler ve glikopeptidleri saflaştırmak için kullanılır.
- NMR Spektroskopi: Özgül şekerlerin dizgisinin, bağlarının ve glikozid bağlarının anomer doğasının kimliklendirilmesinde yararlanır.
- Kütle Spektroskopisi: Molekül kütlesi, bileşimi, dizgisi ve bazen bir glikan zincirinin dallanması hakkında bilgi verir (Allen ve Kisailus 1992).

Lektinler

- Lektinler genellikle şekerlere spesifik olarak bağlanabilen protein ya da glikoprotein yapısındaki maddelerdir (Franz 1986). Lektin kelimesi latince kokenlidir ve secmek anlamına gelir.
- Lektinler üzerine yapılan çalışmalar 19. Yüzyılın son çeyreğinde Estonyalı bir araştırmacı olan Hermann Stillmark'ın doktora çalışmalarını sürdürdüğü bir farmakoloji enstitüsünde, Ricinus communis bitkisinden elde edilen ekstraktın eritrositler üzerine aglütine edici etkisini keşfetmesiyle başlamıştır.
- Stillmark, çalışmalarının odağını bitkilerdeki zehirli maddeler oluşturduğundan, doğal olarak yanılığa düşmüş ve eritrositlerdeki aglutinasyonun Ricinus communis'in içeriğindeki risin adlı toxinin neden olduğu kanısına varmıştır (Gabijs 1988, Uhlenbruck 1983).

- Yapılan araştırmalar yıllardır organizmada yalnızca enerji kaynağı (glikojen, nişasta vs) ve yapı taşı olarak (kitin, selüloz vs) dűřünűlen karbonhidratların da bu fonksiyonlarının yanı sıra yaşamın sűrekliliđi için vazgeçilemez olan hücreler arası iletişimin sağlanmasında anahtar rolű oynadıklarını ve bu rollerini gerçekteştirirken kendileri için spesifik lektinleri reseptör olarak kullandıklarını ağığa çıkarmıştır.
- Termodinamik kurallar gereği dokulardaki karbonhidrat rezidűlerinin bu kadar çok sayıda varyasyonları bulunmamakla birlikte amino asitlerin birbirleri ile yaptıkları peptit bağlarının sayısıyla karşılaştırılacak olursa yine de aradaki fark çok büyüktür (Schmidt 1986).

- Memeli hayvanlarda bulunan lektinlere “Endojen lektinler” ismi verilmiştir. Bu lektinlerden insan plasentasında bulunan galektin-1, sığır kalbinde bulunan da sarcolektin olarak adlandırılmıştır (Gabius 1987, Gabius 1997). Endojen lektinler tümörlü ve tümörsüz dokularda bulunmaktadır. Fakat bunların görevleri henüz aydınlatılamamıştır. Yapılan bir çalışmada insan embriyonik kalp ve karaciğeri, Nasetilgalaktozaminli ortamda 10-50 hafta bekletilmiş ve son haftalara doğru N-asetilgalaktozaminin organlarda galektin-1 ve sarkolektine bağlandığı bildirilmiştir (Kayser ve ark. 1995).
- Ekzojen Lektinler, doğada birçok bitkide tespit edilmişlerdir. Bu lektinler tespit edildikleri bitkilerin isimleri ile anılmaktadırlar. Örneğin: Soya fasulyesinden elde edilen lektine “Soya fasulyesi Aglutinin” (SBA), buğday tohumundan elde edilen lektine “Buğday tohumu Aglutinin” (WGA), ökse otundan elde edilen lektine “Ökse otu Aglutinin” (VAA) adı verilmiştir (Franz 1986).

- Hücre yüzey ve organellerindeki Şeker kalıntılarına spesifik olarak bağlanabilme özelliğine sahip olan lektinlerin normal ve kanserli hücre yüzey ve organellerine bağlanma özelliklerini inceleyen birçok çalışma yapılmıştır (Aoki ve ark. 1993).
- Lektinler zerine yapılan çalışmaların yođunlaŐtıđı son 20 yıl içerisinde, bu proteinleri diğer moleküllerden ayıran birçok özellik ortaya çıkmıştır. Enzim ve antikor özelliğinde olmadıklarına ilişkin ilk tanım 1988 yılında Barondes tarafından yapılmış ve bu tanımlama bütün araŐtırmacılar tarafından benimsenmiŐtir. Çünkü lektinlerin hücrelerdeki sentezi herhangi bir antijen tarafından uyarılması sonucunda değil, genler tarafından kontrol edilmektedir (Barondes 1988).

- Hemen bütün lektinler glikoprotein özelliğinde olup, aralarında antikorun aksine yapısal bir benzerlik göstermezler. 18 farklı polipeptit zincirinden oluşabildikleri gibi genelde 2 ile 4 üniteden oluşurlar ve kural olarak her bir ünite bir karbonhidrat rezidüsünü bağlama yeteneğine sahiptir.
- Karbonhidratlarla lektinler arasında oluşan bağlar kovalent özellikte olmayıp, zayıf nitelikli hidrojen köprüsü bağlardır (Lis ve Sharon 1977).
- Bir lektinin aglutine edici etkisinin şekillenebilmesi için glikokonjugatların yapısındaki karbonhidrat zincirlerinden sadece birine bağlanması tek başına yeterli olmamakta, en az iki karbonhidrat yapısına bağlanması gerekmektedir.
- Bir çok lektin sadece kendilerine özgü olan monosakkarit rezidüleri (L-fukoz, D-galaktoz, D-Mannoz) ile etkileşime girerlerken, diğer bazı lektinler basit şekerler yerine kendilerine özgü olan kompleks şekerlerle (β -D-galaktozido (1-3) N-asetil-D-galaktozamin) reaksiyona girme eğilimindedirler (Rüdiger ve Gabius 1993).

- Dokuların şekillenmesinde hücreler arası kontak kurulması ve iletişim esansiyeldir. Hücrelerin hemen hepsi membran yüzeylerindeki sialik asitin yarattığı negatif yükten dolayı birbirleriyle direkt ilişki içinde değil, glikokonjugatların yapısında bulunan bir çok aracı molekül (lektinler, karbonhidratlar, laminin, integrin vs) üzerinden iletişimlerini sağlamaktadırlar (Wieser ve Brunger 1982).
- Özellikle 1950'li yılların ortalarından bu yana yapılan yoğun çalışmalar, hücreler arası var olan ilginin hücre yüzeylerinde lokalize olan moleküllerin bir sonucu olduğunu ortaya çıkarmıştır (Fukuda 1991).
- Lektinlerle glikokonjugatların karbonhidrat üniteleri arasında anahtar kilit prensibi esasına göre şekillenen karbonhidrat-protein etkileşimleri; hücreler arası haberleşmede, sinyal transferinde, hücre içi protein transportunda, döllenmede, hücre farklılaşmasında, hücre adezyonunda, büyümenin kontrolünde, interferon ve sitokin salgılanması gibi immunolojik olaylarda, makrofajların fagositoz için uyarılmasında, patolojik olaylarda hücrelerin transformasyonunda, metastazda, embriyogenezde, ekzostoz ve endostozda rol oynarlar (Bourrilon ve Aubery 1989).

- Lektinlerin vücut savunma sistemlerinde de görev aldığı rapor edilmiştir. Örneğin, kollektinlerinin bir üyesi olan mannan bağlayan serum lektin miktarı normalin altında olan çocukların daha sıklıkla hastalandıkları belirtilmiştir (Summerfield 1992, Turner 1994).

İzole edilmiş bazı hayvansal lektinler ve spesifik karbonhidrat rezidüleri (Seyrek 1999)

Adı	Bulduğu Yer	Spesifik Karbonhidratı
Selektinler	Lökositler(L)	Fukozlanmış
(L,P,E)	trombositler(P),	sulfatlanmış
	endotel hücreleri (E,P)	epitoplar
Mannan-bağlayan lektin	Plazma, karaciğer	mannoz, fukoz
Tetranektin	Plazma	Bilinmiyor
Asialoglikoprotein-rezeptörü	Hepatositler, testis	Galaktoz
Sürfaktan protein A ve- D	Alveolar sürfektan	fukoz, maltoz, ManNAc
CD69	Aktif T ve B-hücreleri, nötrofiller, Trombositler	Bilinmiyor
Galektin-1	Bir çok hücre türünde	Galaktoz

- Enfeksiyonların şekillenmesinde bakteriyel karbonhidrat rezidüleri ile organlardaki lektinlerin etkileşimleri esansiyeldir. Bazı bakteri türlerinin yalnızca belli organları enfekte etmeleri, bunların oligosakkaritleri için ligand teşkil eden lektinlerin organlardaki farklı dağılım göstermelerinden kaynaklanmaktadır.
- In vitro çalışmalarda pneumokokların, karaciğer, dalak ve beyin hücrelerine adeze olmazken, akciğer hücrelerine tutunabilmeleri ve yine genç bayanlarda idrar yolu enfeksiyonlarına yol açan *Staph. saprofiticus*'un idrar yolları epitel hücrelerine büyük bir yatkınlık göstermesi, enfeksiyon yapan ajanların neden özellikle belli organlara lokalize olduğunu açıklamaktadır. Bu çalışmalarda başlangıçta hücre başına 23-25 bakterinin yapıştığı gözlemlenirken hücrelerdeki lektinlerin karbonhidratlarla bloke edilmesinden sonra hücre başına sadece 4-5 bakterinin adeze olabildiği görülmüştür (Beuth ve ark. 1988).
- Parazit invazyonlarında (*Leishmania mexicana amazonensis*, *Plasmodium falciparum* ve *Typanosoma cruzi*) ve viral (influenza) enfeksiyonların oluşumunda da lektin-karbonhidrat etkileşimlerinin rol oynadığına dair yayınlar bulunmaktadır (Uhlenbruck 1983).

- Bazı bitkisel lektinler ise zehirli olmalarından dolayı hayvanlar tarafından tüketilmelerine karşı doğal koruyucu olarak işlev görürler. Bitkisel lektinlerin hücre içi lokalizasyonu incelendiğinde ağırlıklı olarak depo proteinleri ile birlikte bazı enzimler ile yakın ilişki içerisinde buldukları gözlemlenmiştir.
- Lektinlerin bitkisel hücrelerde vakuollerde depolanacak proteinlerin buralarda toplanması ile ilişkili olabileceği kanısını vermektedir. Baklagillerin köklerinde bulunan lektinler üzerinden bir çok bakteri köklere tutunarak bitkilerle simbiyoz bir yaşam sürdürebilirler. Bakteriler baklagillerin köklerinden organik maddeleri alırken, bu bitkilere azot temin ederler (Rini 1995).
- Glikoprotein ve glikolipitlerin terminal oligosakkarid zincirinin önemli bir komponenti de sialik asittir (Malykh ve ark., 2003).

- Sialik asit terimi ilk kez 1952 yılında, gangliositler ve tükürük bezi müsininde bulunan özel bir asidik amino şekeri tarif etmek için kullanılmıştır. Dokuz karbonlu bir şeker olan nöraminik asitten türeyen sialik asit glikoproteinlerin ve glikolipidlerin oligosakkarit zincirlerinin terminal şeker komponentini oluşturur.
- Mannozdan oluşan, karboksil grubu içeren, dokuz karbonlu bir monosakkarittir. Sialik asit glikokonjugatların (glikoproteinler, glikolipitler, proteoglikanlar) oligosakkarit ünitelerinin terminal pozisyonunda yer alır.
- Hücre membranının dış yüzeyi sialik asitin en çok lokalize olduğu bölgedir. Sialik asitler mannoz çekirdeği taşıyan karbonhidrat ünitesinde bulunan galaktoz rezidülerine α -2,3, α -2,6, α -2,8 olmak üzere üç farklı formda bağlanabilir (Reuter ve Gabius, 1996).

- Taşıdığı negatif yük nedeniyle bir yandan hücrelerin birbirlerine agregasyonunu önlerken, diğer yandan hücre membranlarının gerginliğini de sağlar.
- Birçok hastalık grubunda serum sialik asit miktarında meydana gelen değişiklikler ilgi ile izlenmekte ve hastalığın tanısında veya prognozunda klinik olarak yararlanma yolları araştırılmaktadır (Silver ve ark., 1978).
- Sialik asit miktarı ile tümör tipleri arasında direk bir ilişkinin varlığı belirlenmiş ve sialik asit miktarlarındaki değişikliklerin takip edilmesinin tümörün prognoz ve erken nüksünün belirlenmesinde yararlı olabileceği bildirilmiştir.
- Birçok tümör tipinde sialik asit miktarında artışların görüldüğü, özellikle de metastatik hücrelerin sialik asit bakımından zengin oldukları bildirilmiştir (Narayanan 1994).

- Biyosentezi çok karmaşık olmakla birlikte D-glikoz anahtar rolü oynar. Yeni sentezlenen sialik asitler spesifik sialiltransferazlar tarafından glikokonjugatlara eklenir. Sialik asit bazı bakteri türleri hariç hemen hemen bütün canlılarda bulunur.
- Sialikasit molekülünün fizyolojik pH'da negatif yük taşıması, hücrenin patojenler tarafından tanınmasında, hücreler arası etkileşimlerde, hormon reseptör ilişkilerinde ve membranın proteolizden korunmasında önemli rol oynar. (Narayanan, 1994).
- Sialik asit hücre adezyonu, hücre göçü, hücre-hücre ve hücre-ekstrasellüler matriks etkileşimleri için önemli olan siglek ve selektinler için ligand teşkil eder. Taşıdığı negatif yük nedeniyle bir yandan hücrelerin birbirlerine agregasyonunu önlerken, diğer yandan hücre membranlarının gerginliğini de sağlar.
- Enfeksiyonların şekillenmesinde bakteriyel karbonhidrat rezidüleri ile organlardaki proteinlerin etkileşimleri esansiyeldir (Deepa ve ark. 1998).

2. GEREÇ ve YÖNTEM

- **2.1. Gereç**

Bu çalışmada Adnan Menderes Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi'nden alınan 20 adet Wistar dişi sıçan kullanıldı.

Ratlar araştırma süresince 12 saat aydınlık/ karanlık ortamda, konvansiyonel koşullarda bakıldı. 10 adet sıçan kontrol grubu olarak seçilirken kalan 10 adet sıçan ise deney grubu olarak çalışıldı.

Denemeye başlamadan önce hem kontrol hem de deney grubunda bulunan bütün sıçanların açlık kan glikoz düzeyleri belirlendi.

2.2. Yöntem

Deneye başlamadan önce hem kontrol hem de deney grubunda bulunan bütün sıçanların açlık kan glikoz düzeyleri belirlendi.

Sıçanlarda diabet oluşturmak için;

0,01 M sodyum sitrat tamponu (pH 4.5) içinde streptozotosin (572201, Calbiochem)

50mg/kg intraperitoneal olarak deneme grubuna (n=10) tek doz enjekte edildi.

Kontrol grubu hayvanlara deney grubuna benzer şekilde aynı oranda 0.01 M sodyum sitrat tamponu intraperitoneal olarak uygulandı.

Enjeksiyonu takiben 21 gün sonra hayvanlar 12 saat süre ile aç bırakıldı ve tekrar serum glikoz düzeyleri ölçüldü.

Kan glikoz düzeyi kontrol grubunda ort. 182.5 ± 33.6 mg/dl, deneme grubunda $367,7 \pm 41$ mg/dl olarak bulunmuştur. Deneme grubundaki bütün hayvanların diabetli olduğu belirlendikten sonra (kan glikoz düzeyi > 300 mg/dl) ratlara hafif eter anestezisi altında servikal dislokasyon ile ötanazi uygulandı.

- Ötenazi uygulanan ratların diş etlerinden örnekler alındı ve bu dokular -20°C'de muhafaza edildi. 6 µm inceliğindeki kriostat kesitler alındı. Kesitler,
- % 1'lik paraformaldehid (PBS, pH 7.4) içinde 10 dakika süre ile oda ısısında tespit edildi.
-
- Takiben iki kez 5 dakika PBS ile yıkandı.
-
- Peroksidaz aktivitesini bloke etmek için 30 dakika süre ile H₂O₂'nin metanol içersindeki %2'lik solüsyonunda bırakıldı.
-
- PBS (10 mM, pH 7.4) ile 10 dakika yıkanacak olan kesitler, spesifik olmayan bağlanma noktalarını bloke etmek için %2'lik sığır albumini (BSA, Sigma) çözeltisinde 30 dakika süre ile inkübe edildi.
-
- Üç defa beşer dakika PBS'de yıkanan dokular biotin ile işaretlemiş lektinler ile inkübe edildi.

Bu işaretli lektinler sırasıyla:

- 1-N-asetilglikozamine spesifik [Erythrina Cristagalli Lectin (ECL, ECA)
- 2-N asetil glikozamine spesifik (WGA)]
- 3-Galaktoza spesifik Euonymus Europaeus Lectin (EEL)
- 4-N-asetilgalaktozamine spesifik [Griffonia Simplicifolia Lectin I (GSL I, BSL I)
- 5-Laktoza spesifik Ricinus Communis Agglutinin I (RCA I, RCA₁₂₀),
- 6-Fukoza spesifik Pisum Sativum Agglutinin (PSA)
- 7-Mannoza spesifik [Galanthus Nivalis Lectin (GNL)
- 8-Sialik asite spesifik [Maackia Amurensis Lectin II (MAA)
- 9-Sialik asitin galaktoz ünitelerine α -2,6 bağlanan Sambucus Nigra Lectin (SNA, EBL)] ile biotinlenmiş olan lektinler kullanıldı.

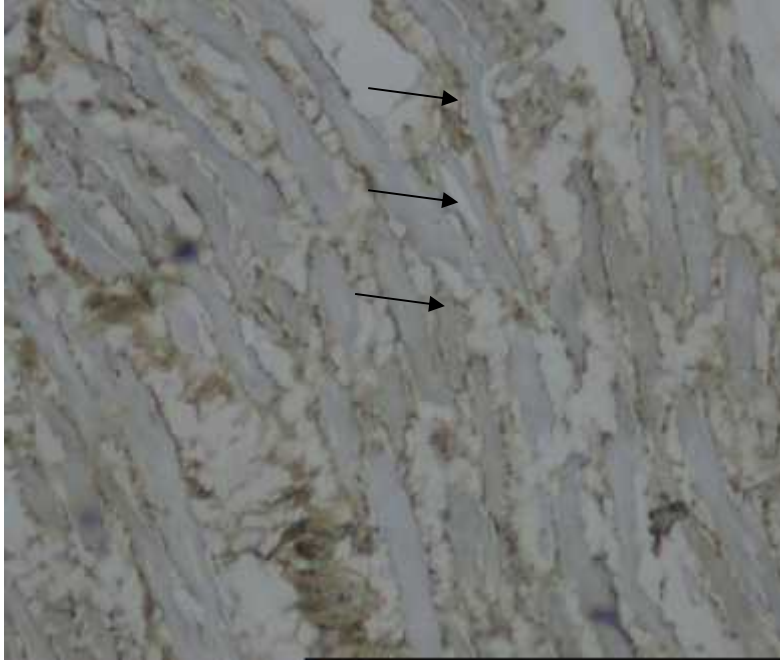
- PBS içinde sulandırılıp hücreler üzerine damlatıldı gece boyunca +4°C'de inkübasyona bırakıldı. Bağlanmamış lektinleri uzaklaştırmak için birçok defa tekrarlanan yıkama işleminden sonra hücreler ABC (avidin-peroksidaz kompleksi) ile aynı şekilde 1 saat boyunca reaksiyona sokuldu.
- Lektinlerin bağlantı yerleri DAB (3'-3'-Diaminobenzidin) renk substratı kullanılarak görünür hale getirildi.
- Hücreler hematoksilin ile 3-5 saniye süre ile karşı boya yapıp, dehidre edildi ve entellan kullanılarak kapatıldı. Reaksiyonların değerlendirilmesi ışık mikroskopunda gerçekleştirildi.

3. BULGULAR

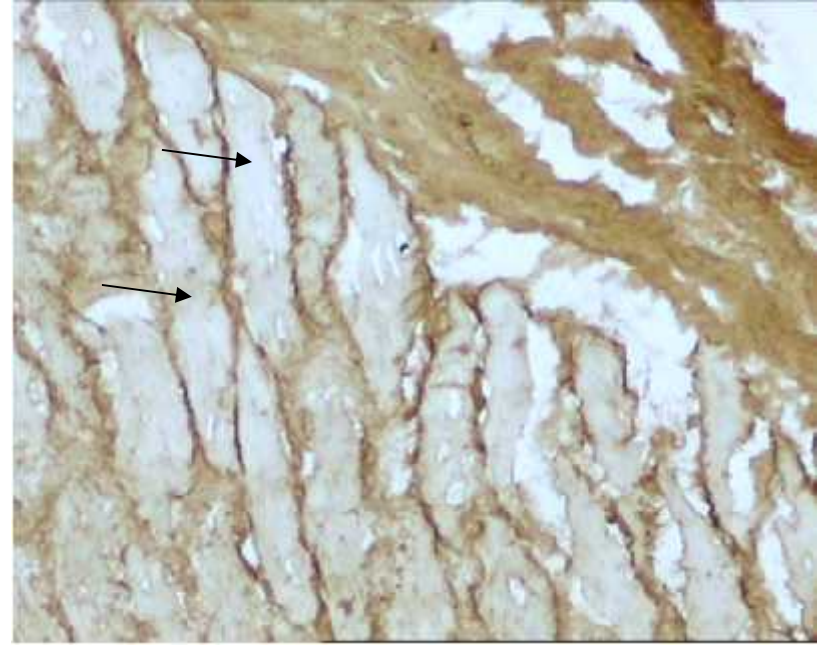
- Karbonhidrat ünitelerine spesifik biotinlenmiş lektinler kullanılarak elde edilen histokimyasal sonuçlar sağlıklı ve diabetik diş eti dokusundaki monosakkaritlere ilişkin önemli ip uçları ortaya koymuştur. N-asetilglukozamine spesifik biotin işaretli ECL boyamalarında kontrol grubundaki hayvanların diş etinin bağ dokusunda yoğun olarak N-asetilglukozamin ünitelerinin bulunduğunu ortaya koymuştur (Resim 3). Deney grubundaki hayvanların bağ dokusunda da N-asetilglukozamin ünitelerinin bulunduğu ancak burada görülen reaksiyonun şiddeti sağlıklı dokulardakine oranla çok daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Resim 2).
- Yine N-asetilglukozamin ünitelerine spesifik diğer bir lektin olan WGA kullanıldığında hem kontrol grubundaki hem de deney grubundaki hayvanların dokularında N-asetilglukozamin ünitelerinin çok yoğun olmamakla birlikte bağ dokusunda var olduğunu ortaya koymuştur. WGA kullanılarak yapılan boyamalarda ECL ile yapılan boyamalardakine benzer şekilde sağlıklı hayvanlarda (Resim 5) deney grubundakilerine (Resim 4) oranla daha fazla olduğu görülmüştür.

- Galaktoz ünitelerine spesifik EEL lektin ile yapılan boyamalarda hem kontrol grubundaki hem de deney grubundaki hayvanların bağ dokusunda bulunan bazı hücrelerin tek tük reaksiyon verdikleri gözlenmiştir. Reaksiyonların şiddetinin her iki grupta da çok hafif olduğu görölmüştür (Resim 6,7)
- N-asetil galaktozamine spesifik GSL-I ile yapılan boyamalarda deney ve kontrol gruplarında bağ dokudaki fibroblast hücrelerine benzer hücrelerde pozitiflik olduğu görölmüştür. Reaksiyonların şiddeti açısından gruplar arasında önemli bir farklılığın varlığı tespit edilmemiştir (Resim 8,9).
- Yine N-asetil galaktozamine spesifik RCA kullanılarak yapılan boyamalarda deney ve kontrol gruplarında bağ dokuda pozitiflik olduğu görölmüştür. Kontrol grubundaki boyamaların reaksiyonları deney grubundakiler göre daha şiddetli olduğu görölmüştür (Resim 10,11).

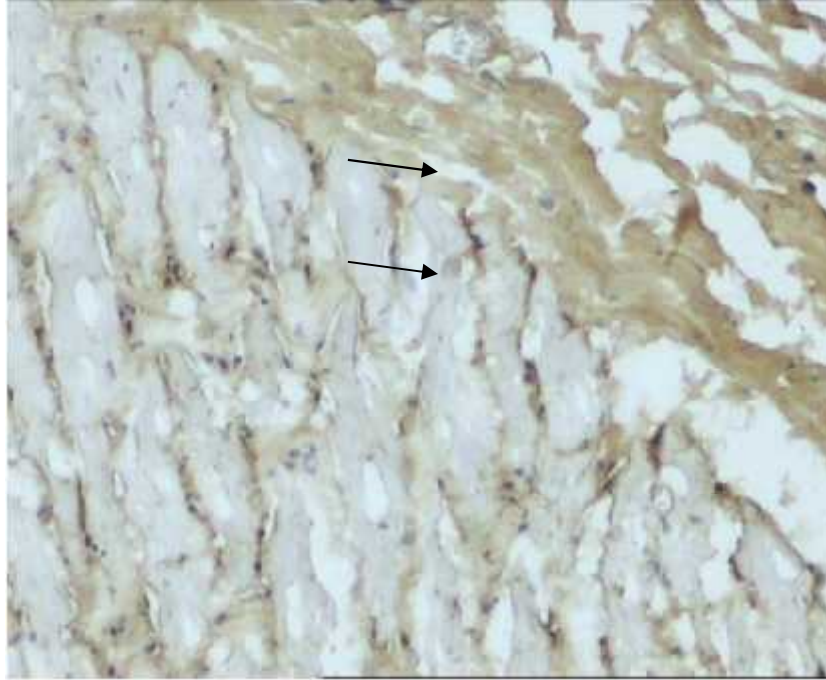
- Fruktoz ünitelerine spesifik PSA ile yapılan boyamaların yine bağ dokusunda olduğu ve sağlıklı hayvanların dokularındaki reaksiyonun şiddetinin daha fazla olduğu gözlenmiştir (Resim 12,13).
- Mannoza ünitelerine spesifik GNL kullanılarak yapılan boyamaların bağ dokuda bulunduğu ve kontrol grubundaki reaksiyonun şiddeti deney grubundakilere oranla daha fazla olduğu görülmüştür (Resim 14,15).
- Sialik asite spesifik lektinler kullanılarak yapılan boyamalarda, sialik asite spesifik lektin MAA kullanıldığında deney grubundaki hayvanların bağ dokusundaki boyanmanın kontrol grubuna göre daha yoğun olduğu boyanma görülmüştür (Resim 16, 17).
- Sialik asitin galaktoz ünitelerine spesifik lektin SNA ile yapılan boyamalarda ise deney grubundaki hayvanların bağ dokusunda çok az boyamanın varlığı tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki hayvanların SNA ile boyamalarındaki reaksiyonların daha fazla olduğu saptanmıştır (Resim 18, 19).



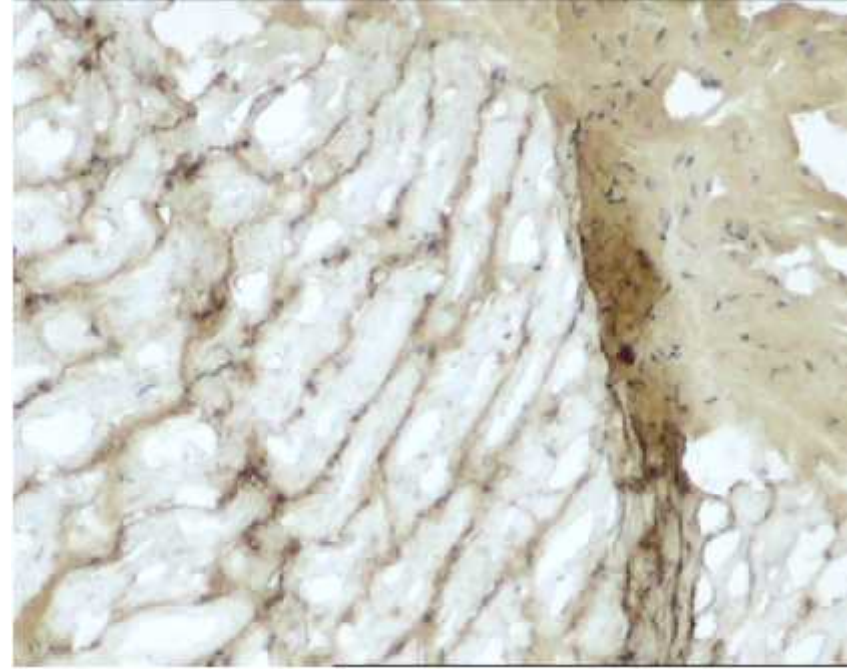
Resim 2. Deney grubu - ECL lektin ile boyanmı kas hücre membranları ++ pozitiflik (oklar). 10 μ m.



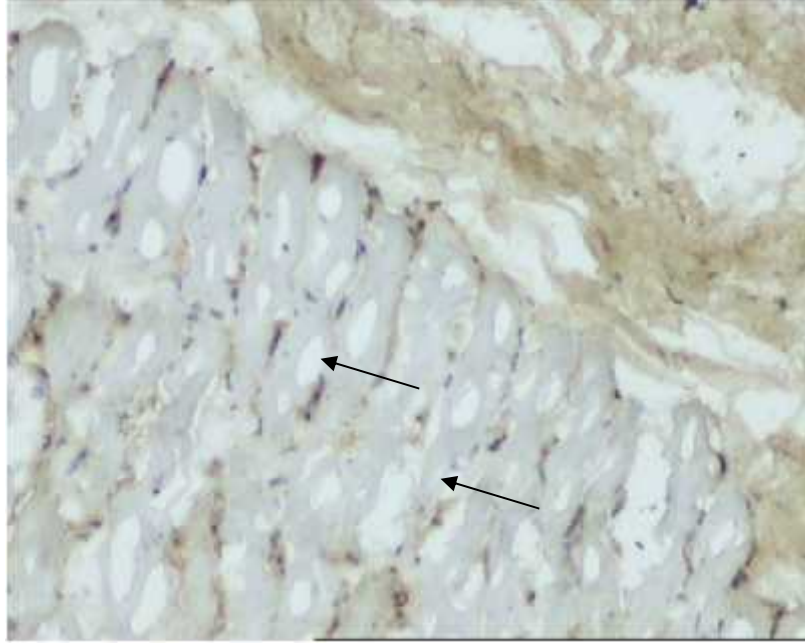
Resim 3. Kontrol grubu - ECL lektin ile boyanmı kas hücre membranları +++ pozitiflik (oklar). 10 μ m.



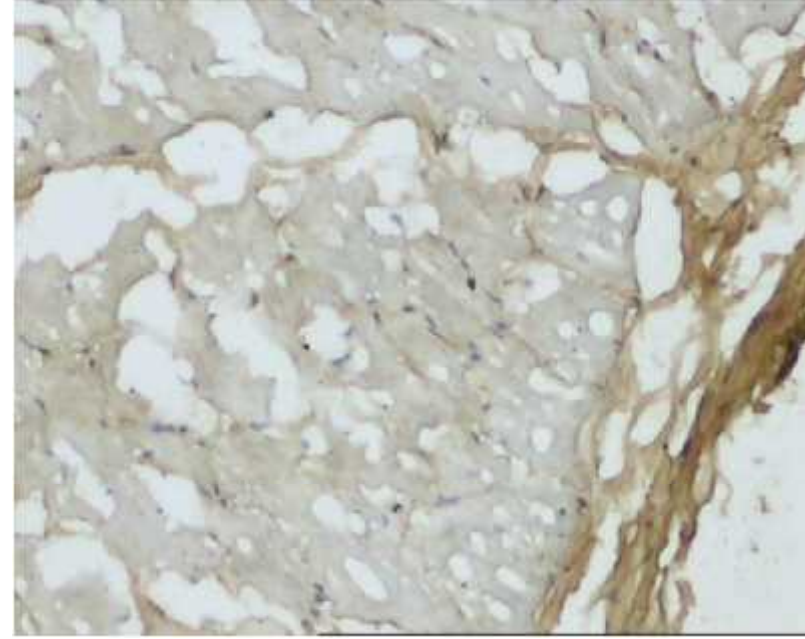
Resim 4. Deney grubu – WGA lektin ile boyanmı kas hücre membranları + pozitiflik (oklar). 10 μ m.



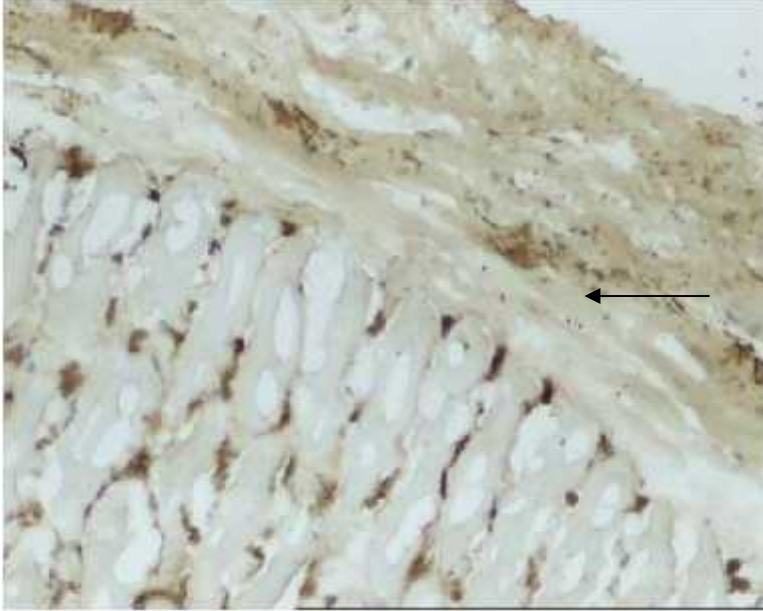
Resim 5. Kontrol grubu - WGA lektin ile boyanmı kas hücre membranları ++ pozitiflik (oklar). 10 μ m.



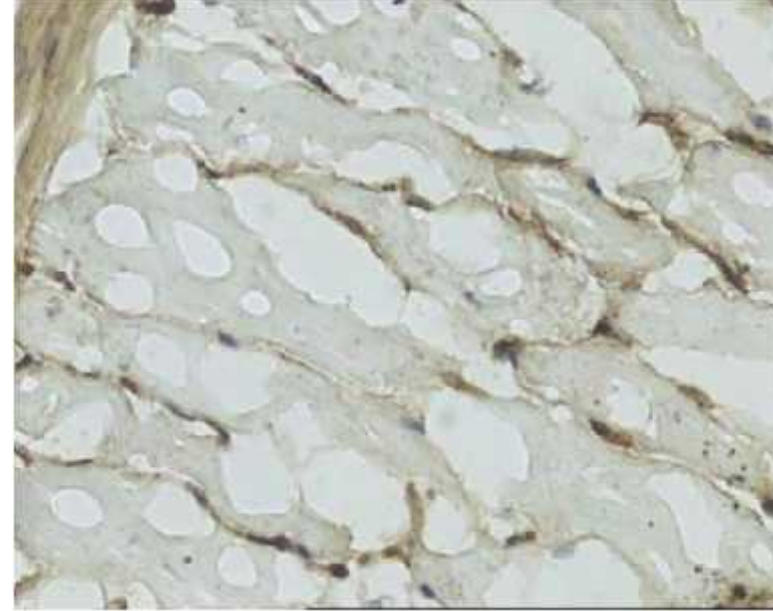
Resim 6. Deney grubu - EEL lektin ile boyanmı kas hücre membranları + pozitiflik (oklar). 10 μ m.



Resim 7. Kontrol grubu EEL lektin ile boyanmı kas hücre membranları + pozitiflik (oklar) 10 μ m.



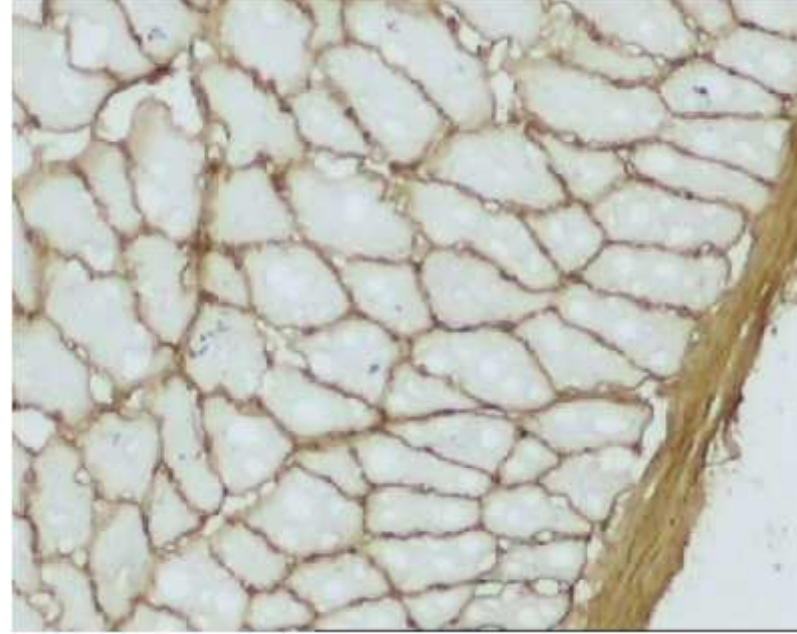
Resim 8. Deney grubu - GSL I lektin ile boyanmı kas hücre membranları + pozitiflik (oklar) 10 μ m.



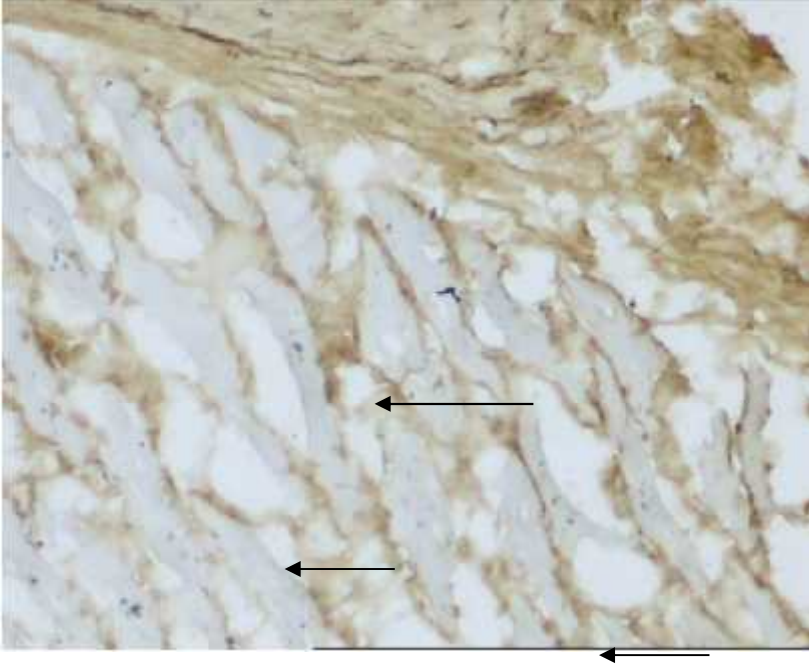
Resim 9. Kontrol grubu - GSL I lektin ile boyanmı kas hücre membranları + pozitiflik (oklar)10 μ m.



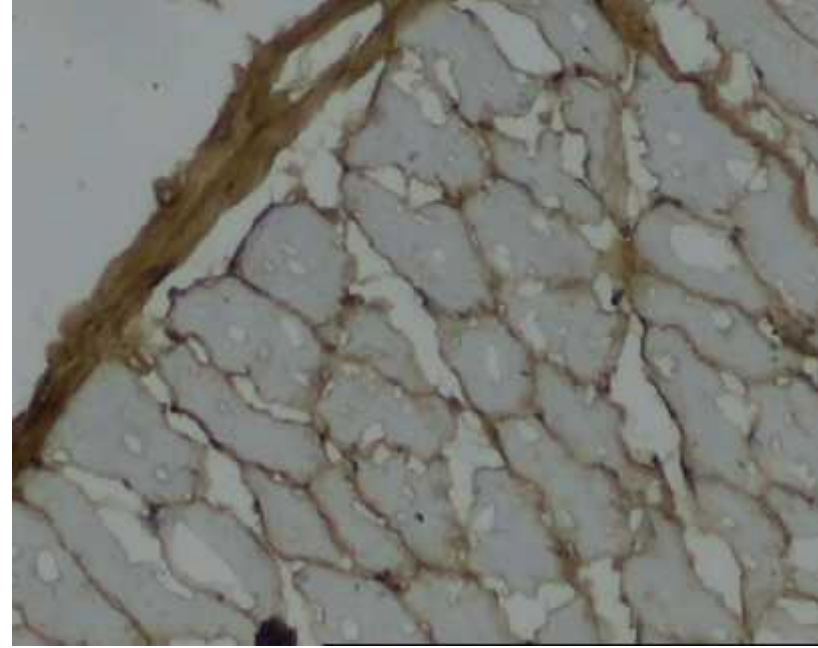
Resim 10. Deney grubu - RCA lektin ile boyanmı kas hücre membranları ++ pozitiflik (oklar) 10 μ m.



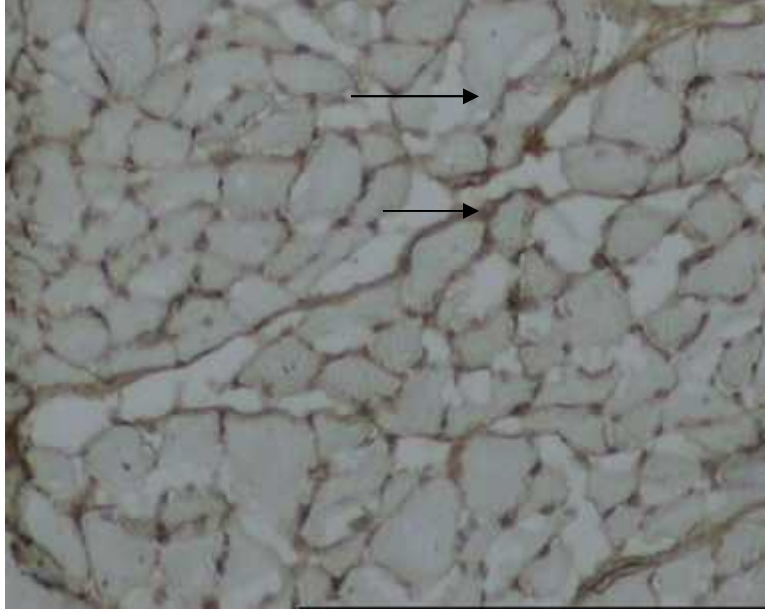
Resim 11. Kontrol grubu – RCA lektin ile boyanmı kas hücre membranları +++ pozitiflik (oklar) 10 μ m.



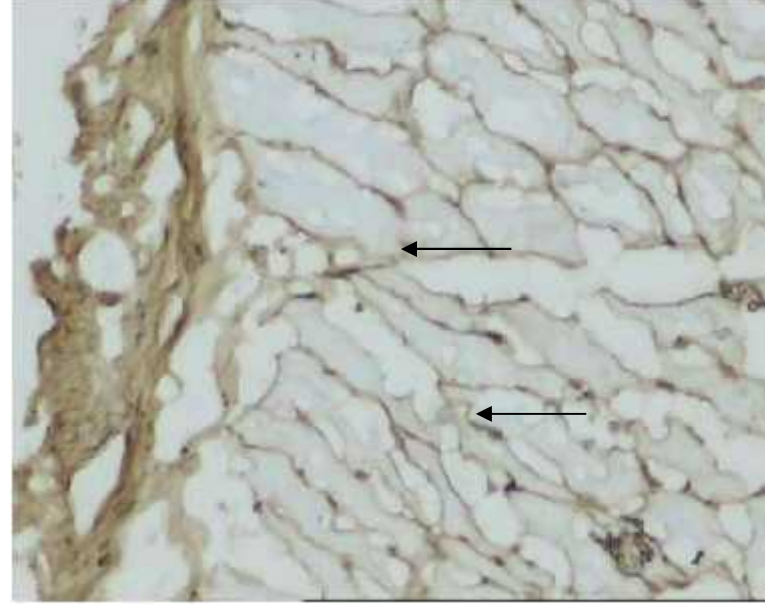
Resim 12. Deney grubu - PSA lektin ile boyanmı kas hücre membranları ++ pozitiflik (oklar) 10 μ m.



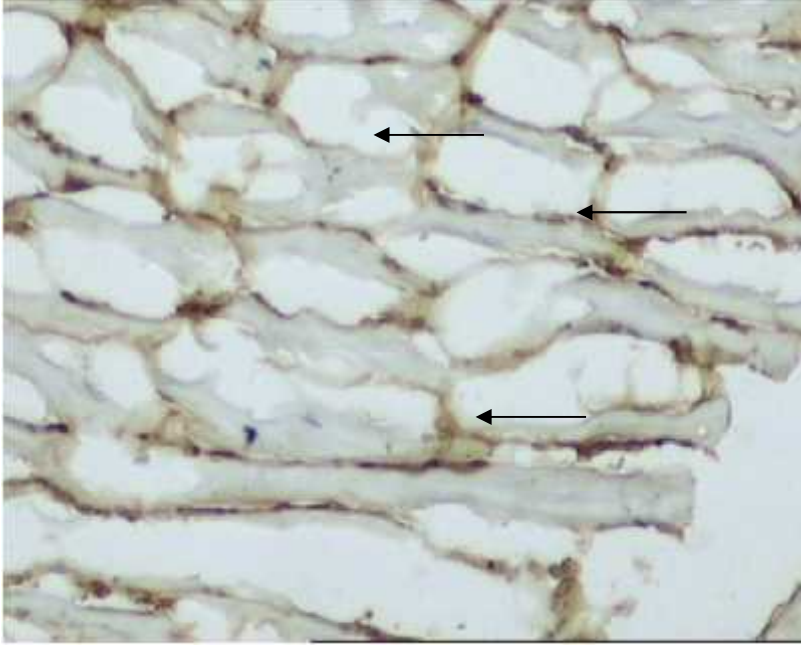
Resim 13. Kontrol grubu - PSA lektin ile boyanmı kas hücre membranları + ++ pozitiflik (oklar) 10 μ m.



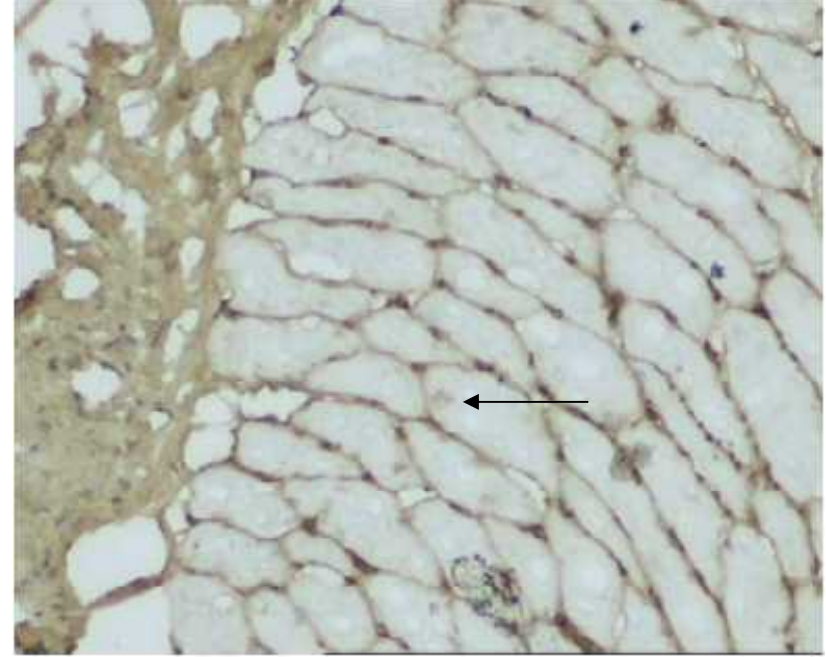
Resim 16. Deney grubu - MAA lektin ile boyanmı kas hücre membranları +++ pozitiflik (oklar) 10 μ m.



Resim 17. Kontrol grubu - MAA lektin ile boyanmı kas hücre membranları ++ pozitiflik (oklar). 10 μ m.



Resim 18. Deney grubu - SNA lektin ile boyanmı kas hücre membranları + pozitiflik (oklar) 10 μ m.



Resim 19. Kontrol grubu - SNA lektin ile boyanmı kas hücre membranları + + pozitiflik (oklar) 10 μ m.

4. TARTI MA

- Lektinler karbonhidrat ba layan proteinlerdir, en az iki eker ba lama bölgesi içerirler, enzimatik aktivite göstermezler ve insan, bakteri veya bitki kaynaklı olabilirler Genellikle çe itli epitellerdeki glikokonjugat da ılımları (Murase ve ark 1985) geli im ve farklıla ma üzerine çalı malarda kullanılırlar (Steffenson ve ark. 1987).
- Lektinlerle ilgili çok fazla sayıda çalı ma olmasına ra men di eti dokusu, diabet ve lektinler arasındaki ili kiler hakkında çalı ma yok denecek kadar azdır, özellikle yapılan literatür ara tırmalarında diabetik hastaların di eti dokusunun lektinlerle olan ili kilerine dair bir çalı maya rastlanmamı tır.

- Bampton ve arkadaşları (1991) tarafından yapılan bir çalışmada 15 farklı lektin kullanılarak gingival epitelyum, sulkular epitelyum, bağ dokusu ve bazal membran ile olan bağlanma ilişkileri araştırılmıştır. N-Asetil Glikozamin'e spesifik WGA'nın gingival, sulkular ve bağ dokusu epitelyumunda pozitif olduğu belirlenirken bazal membranda negatif olduğu gözlemlenmiştir.
- Fukoz'a spesifik PSA çalışılan tüm bölgelerde pozitif sonuçlar vermiştir, yine aynı şekilde Galaktoz'a spesifik BSL I ile yapılan çalışmada da PSA ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Laktoz'a spesifik RCA₁₂₀ ile de gingiva dokusuna ait tüm hücre, membran ve bölgeler pozitif sonuçlar vermiştir.
- WGA, PSA, RCA₁₂₀ ve BSL I'i de içeren yedi farklı lektin ile yapılan çalışmada sağlıklı ve iltihaplı insan gingiva dokularında iç ve dış gingiva dokusu üzerinde lektin bağlanmalarını gözlemlenmiştir, fakat herhangi bir farklı bulguya rastlanmamıştır (Murase ve ark. 1985).

- Hormia ve Virtanen (1989), WGA, RCA₁₂₀ yi de içeren ondört farklı lektin ile insan gingiva dokusu üzerine yaptıkları çalışmada bu lektinlerin bağlanması ile ilgili yapılan çalışmada elde edilen sonuçlarla paralel bulgular ortaya koymuştur. Diş eti bağ dokusunun WGA, RCA lektinleri ile bağlandığını görmüşlerdir.
- Diabetin periodontitis gibi bakteriyel infeksiyonlar için yüksek risk grubu olduğu bilinmekte ve periodontitis ile diabet arasındaki ilişki uzun yıllardan beri birçok araştırma için konu oluşturmaktadır (Tervonen ve ark. 1994). Hatta, periodontal hastalıklar diabetin komplikasyonu olarak kabul edilmiştir. Diabetin, bireylerde nasıl bir değişim yaparak periodontal hastalık için yatkınlık oluşturduğu hala merak konusu olmaya devam etmektedir. Bu anlamda nötrofil kemotaksisi, fagositoz gibi konak cevabında gözlenen önemli bazı dejenerasyonların periodontitis görülme sıklığı ve şiddetinin artmasında etkili olduğu bulunmuştur (Lamey ve ark. 1992). Her geçen gün yeni veriler elde edilmekte, diabet ve periodontitis ilişkisi ile ilgili pek çok bilimsel yorum yapılmaktadır.

- Periodontitis, mikroorganizmalara inflamatuvar hücreler ve çeşitli sitokinler aracılığıyla geliştirilen konak cevabı sonucu gelişen bağ dokusu yıkımı, ataşman kaybı ve marjinal alveol kemik rezorpsiyon ile karakterize multifaktöriyel ve kronik seyir gösteren bir hastalık özelliği taşımaktadır (Kabashima ve ark. 2002, Kornman ve ark. 2000, Bascones ve ark. 2005). Periodontitisli bireylerin dişeti dokularında lenfosit ve makrofajların baskın olduğu yoğun inflamatuvar hücre varlığı gösterilmiştir (Zappa ve ark. 1992, Keleş ve ark. 2005).
- Periodontal hastalığın başlangıcını, ilerleyişini ve şiddetini etkileyen hastalıkların başında diabet gelmektedir (Almas ve ark. 2003). Diabetle birlikte, periodontal dokularda vasküler değişiklikler meydana gelmektedir. Oral mikrofloradaki değişiklikler, kollajen üretiminde azalma ve kollajenaz aktivitesinde artış sonucu periodontal dokulardaki yıkım artmaktadır (Kıran ve ark. 2005).

- Periodontitisin diabetli bireylerde daha şiddetli ve fazla oranda görülmesindeki mekanizmayı açıklamaya yönelik yapılmış çoğu klinik ve epidemiyolojik çalışma, iddia edilen bazı zıt görüşlere rağmen, (Goteiner ve ark. 1986), diabetli (Tip 1 ve 2) bireylerde diabetli olmayanlara göre daha yüksek oranlarda periodontitis gözleendiğini göstermektedir (Thorstensson ve Hugoson 1993). Ayrıca, kontrol altında olmayan diabetlilerde kontrol altındakilere göre daha yüksek oranlarda gingivitis ve periodontitis gözlenmektedir (Tervonen ve ark. 1994, Sastrowijoto ve ark. 1990).
- Diabet ve lektinlerle ilişkili çalışmalar genellikle Mannoz bağlayan lektinler (MBL) üzerine yoğunlaşmıştır. Diabetli hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda çeşitli dokularda MBL miktarının arttığı ve insülin ile MBL'nin baskılandığı belirlenmiştir (Hansen ve ark. 2003).

- Tip 1 diabet hastalarının önemli bir kısmında diabetik nefropati gelişmektedir ama bir kısmı bu komplikasyondan korunmuştur. Persistan mikroalbüminüri (üriner albümin eksresyonu 30-300 mg/24 saat), diabetik nefropati (albüminüri >300 mg/saat) gelişimi için risk faktörüdür.
- Mikroalbüminüri erken böbrek hasarının önemli bir göstergesidir, bu evrede erken renal yapısal lezyonlar tespit edilebilir. MBL'ye bağlı olarak inflamasyon ve kompleman aktivasyonunun diabetik mikrovasküler komplikasyonların patogenezinde rol oynadığı düşünülerek yapılan bir çalışmada, MBL proteini ile persistan mikroalbüminüri gelişimi arasındaki ilişkinin incelenmesi amacıyla, serum MBL düzeyi 270 hastada (159 erkek) diabet tanısı aldıktan 3 yıl sonra ölçülmüş, hastalar ortalama 18 yıl boyunca izlenmiştir. Yetmiş beş hastada persistan mikro veya makroalbüminüri (üriner albümin eksresyon oranı >30 mg/24 saat) gelişmiştir. Persistan mikro veya makroalbüminüri gelişimi kümülatif insidansı, MBL düzeyi ortalamadan yüksek (1.597 µg/L) olan hastalarda %41 olarak bulunurken, MBL düzeyi ortalamadan düşük olan hastalarda %26 olarak bulunmuştur. Yüksek MBL düzeyi, erken dönem tip 1 diabet hastalarında, yaş ve cinsiyetten bağımsız olarak persistan mikro ve makroalbüminüri gelişimi ile ilişkili bulunmuş, bu da komplemanın MBL'ye bağlı aktivasyonunun diabetik mikrovasküler komplikasyonların patogenezinde anahtar rol oynadığını göstermiştir (Hovind ve ark. 2005).

- Yüksek MBL düzeyinin, komplemana bađlı hasarı artırarak graft yařam beklentisinde azalmayla iliřkili olduđu dűřünülmektedir. Yapılan bir çalıřmada 266 bűbrek transplant alıcısının transplantasyon ۆncesinde serum MBL dűzeyi ELISA ile ۆlűlműő, transplantasyon sonuçları arařtırılmıřtır. Gecikmiř graft fonksiyonunun MBL dűzeyi dűřűk olan (<400 ng/ml) alıcılarda, yűksek olan (>400 ng/ml) alıcılarda karřılařtırıldıđında, farklı olmadıđı gűrűlműő. On yıllık izlemde dűřűk MBL dűzeyi olan hastalarda graft surveyi %89.9 iken, yűksek MBL dűzeylilerde %78.8 olarak bulunmuřtur. Yűksek MBL dűzeyinin, daha ciddi boyutta bir rejeksiyona, tedaviye cevapsızlıđa ve graft kaybına yol açtıđı gűsterilmiřtir. Bu alıřma sonucunda transplantasyon ۆncesinde MBL dűzeyi ۆlűlerek risk belirlenebileceđi dűřünülműő (Bergver ve ark. 2005).
- Oral gingival, sulkular ve bađ epitelinde çeřitli lektinlerle yapılan histokimyasal bir çalıřmada BPA gingival ve sulkular epitelyum tabakalarında pozitif boyanma gűsterirken bađ dokusu epitelinde negatif reaktivite gűstermiřtir. GSL I, gingival ve sulkular epitelyumun bazal ve suprabazal tabakalarında ve ayrıca bađ dokusu epitelinin apikal bűlgesinde pozitif boyanma gűstermiřtir (Takata ve ark. 1990).
- Rat intestine epitelinde GNL űzerine yapılan bir arařtırmada Mannoz'a spesifik GNL jejunum ve ileumda pozitif aktivite gűstermiřtir (Even ve Pusztai 1999).

- Mause testis epididimis epitel dokularında Galaktoz ve N- Asetil Glikozamin'e spesifik SNA ve Sialik Asit'e spesifik MAA ile yapılan histokimyasal çalışma ile MAA'nın epitel hücrelerde pozitif boyanma gösterirken bağ dokusunda negatif sonuçlar verdiği belirlenmiştir. SNA ise epitel hücrelerde ve bağ dokusunda negatif boyanma göstermiştir (Lohr ve ark. 2008).
- Yapılan çalışmada, spesifik lektinler kullanılarak elde edilen histokimyasal sonuçlar sağlıklı ve diabetik diş eti dokusundaki monosakkaritlere ilişkin önemli ip uçları ortaya koymuştur. N-asetilglikozamine spesifik biotin işaretli ECL boyamalarında kontrol grubundaki hayvanların diş etinin bağ dokusunda yoğun olarak N-asetilglikozamin ünitelerinin bulunduğunu ortaya koymuştur.
- Deney grubundaki hayvanların bağ dokusunda da N-asetilglikozamin ünitelerinin bulunduğu ancak burada görülen reaksiyonun şiddeti sağlıklı dokulardakine oranla çok daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular diabetli bireylerde ortaya çıkan diş eti hastalıkları ile bağ dokudaki N-asetilglikozamin moleküllerinin miktarı arasında bir ilişkinin bulunabileceğini düşündürmektedir. N-asetilglikozamin üniteleri yönünden benzer bir tablonun WGA ile yapılan boyamalarda da görülmesi N-asetilglikozamin ünitelerinin miktarı ile sağlıklı bir diş eti dokusu arasında korelasyon bulunabileceği görüşünü güçlendirmektedir.

- Galaktoz ünitelerine spesifik EEL lektin ile yapılan boyamalarda hem kontrol grubundaki hem de deney grubundaki hayvanların bağı dokusunda bulunan bazı hücrelerin tek tük reaksiyon verdikleri gözlenmiştir. Reaksiyonların şiddetinin her iki grupta da çok hafif olduğu görülmüştür. Bu bulgular galaktoz ünitelerinin dış eti dokusundaki miktarı ve lokalizasyonu ile kan glikoz konsantrasyonu arasında bir ilişkinin bulunmadığını göstermektedir.
- N-asetil galaktozamine spesifik GSL-I ile yapılan boyamalarda diabetli ratların dış eti dokusundaki N-asetil galaktozamin ünitelerinin sağlıklı hayvanlarınkine göre bir farklılık göstermediği ortaya çıkmıştır. Bu bulgu galaktoz ünitelerinde olduğu gibi dış eti dokusunda bulunan N-asetil galaktozamin ünitelerinin de miktar ve lokalizasyon yönünden artan kan glikozundan etkilenmediğini göstermektedir. Ancak laktoza spesifik RCA kullanılarak yapılan boyamalarda deney ve kontrol gruplarında bağı dokuda pozitiflik olduğu görülmüştür. Kontrol grubundaki boyamaların reaksiyonları deney grubundakiler göre daha şiddetli olduğu görülmüştür. Sonuçlar N –asetil glikozamine spesifik lektinlerle elde edilen reaksiyon bulgularına yakındır.
- Fukoz ünitelerine spesifik PSA ile yapılan boyamaların yine bağı dokusunda olduğu ve sağlıklı hayvanların dokularındaki reaksiyonun şiddetinin daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu fukoz ünitelerinin de artan kan glikozundan etkilendiğini göstermektedir. Fukoz ünitelerinkine benzer bulgular mannoz ünitelerine spesifik GNL kullanılarak yapılan boyamaların bağı dokuda bulunduğu ve kontrol grubundaki reaksiyonun şiddeti deney grubundakilere oranla daha fazla olduğu görülmüştür.

- Sialik aside spesifik lektinler kullanılarak yapılan boyamalarda diğerkarbonhidrat ünitelerinde olduğu gibi yine bağ dokusunda bir reaksiyonun bulunduğu tespit edilmiştir. Sialik asite spesifik lektin MAA kullanıldığında deney grubundaki hayvanların bağ dokusunda kontrol grubundaki hayvanlara oranla daha şiddetli bir boyamanın bulunduğu tespit edilmiştir. Sialik asitin galaktoz ünitelerinin α -2,6 bağına spesifik lektin SNA ile yapılan boyamalarda ise deney grubundaki hayvanların bağ dokusunda diffuz ve daha hafif bir boyama tespit edilmiştir. Kontrol grubundaki hayvanların SNA ile boyamalarındaki reaksiyonların keskin sınırlar içinde kaldığı ve diffuz bir boyamanın bulunmadığı gözlenmiştir. Elde edilen bulgular sialik asitin kan glikoz konsantrasyonundan etkilendiğini göstermektedir. Bu bilgiler ışığı altında kan glikozu ile diş etindeki karbonhidrat ünitelerinin bazıları arasında bir ilişkinin bulunduğu ileri sürülebilir.
- Glikoz, Laktoz, Fukoz, MannoZ gibi karbonhidrat ünitelerinin bağ doku da yapılan histokimyasal boyamalarda diabetli diş eti bağ dokusunun kontrol grubuna göre daha az boyanması, hipergliseminin beklenen sonuçların aksine karbonhidrat ünitelerinin miktarını artırmadığı, azalttığını göstermektedir. Galaktoz ünitelerinin ise kan glikoz konsantrasyonundan etkilenmediği görölmektedir. Diabetli ratların diş eti dokusundaki bu değişimlerin hangi mekanizma ile meydana geldiği ve diş eti hastalıklarının patogeneZinde nasıl bir etkisinin bulunduğunu ortaya koymak için yeni çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu düşünölmektedir.

5. SONUÇLAR

- İnsulin hormonunun yetersizliği ya da insülin reseptörünün insüline karşı hassasiyetinin kaybolması sonucu kan şekerinin yükselmesi ile ortaya çıkan diyabetin, organizmada bir çok komplikasyonlara yol açtığı bilinmektedir. Bu komplikasyonlardan birinin de periodontis olduğu, diabetlilerde daha iddettli seyrettiği ve hızla ilerlediği araştırmalarda gösterilmiştir. Yapılan çalışmada deneysel diyabet oluşturulan ratların diyeti dokusunda hipergliseminin, glikokonjugatların yapılarında ve lokalizasyonunda bir değişime neden olup olmadığı araştırılmıştır.
- Diyeti kas dokusunda bulunan glikoproteinlerin glukoz, galaktoz, laktoz, fukoz, mannoz ve sialik asit ünitelerine spesifik lektinlerle yapılan histokimyasal boyamalar sonucunda diyabetli dokularda; kontrollere göre sialik asit ünitelerine bağlanmanın daha yüksek olduğu, diğer karbonhidrat ünitelerine bağlanmanın ise daha düşük olduğu görülmüştür.

- Karbonhidrat-protein etkileşimlerinin hücreler arası haberleşmede, sinyal transferinde, hücre farklılaşmasında, hücre adhezyonunda oynadıkları roller göz önüne alındığında takdirde, diabetli ratların diyetleri kaslarındaki karbonhidrat ünitelerinin kontrollerine göre daha düşük olmasının, hücrelerin bahsedilen fonksiyonları ile ilgili olarak diabetlilerde bu fonksiyonların bozulmuş olabileceğini düşündürmektedir.
- Sialik asit ünitelerine bağlanan lektin miktarının diabetli grupta fazla olması ise bu ratların diyetleri dokusu kas hücrelerinde membran yüzeyi negatif yükünün artması ile bu hücrelerde agregasyon ve membran gerginliğinin de i edileceğini kanısına varılabilir. Araştırma sonuçlarından hipergliseminin diyetleri dokusu glikokonjugatlarında bir değişime neden olduğu ancak bu değişimin oluşturma mekanizmasının anlaşılabilmesi için daha kapsamlı araştırmaların yapılmasına gerek olduğu sonucuna varılmıştır.

ÖZET

- Diabetes Mellitus yani şeker hastalığı, kronik hiperglisemi ile karakterize kronik bir hastalıktır. Karbonhidrat-protein etkileşimleri hücreler arası haberleşmede, sinyal transferinde, hücre içi protein transportunda, dölleme, hücre farklılaşmasında, hücre adezyonunda, büyümenin kontrolünde, interferon ve sitokin salgılanması gibi immunolojik olaylarda, makrofajların fagositoz için uyarılmasında, patolojik olaylarda hücrelerin transformasyonunda, metastazda, embriyogenezde, ekzostoz ve endostozda rol oynarlar. Enfeksiyonların şekillenmesinde bakteriyel karbonhidrat rezidüleri ile organlardaki karbonhidratlara spesifik proteinlerin (lektinler) etkileşimleri esansiyeldir. Dolayısıyla, diş çürüklerine neden olan bakterilerin diş eti dokusundaki migrasyonunda, damar içine girip gittikleri dokuya tutunmasında glikokonjugatların rolü çok önem taşımaktadır. Diabet periodontal sağlığı olumsuz yönde etkilerken, periodontal infeksiyonların da glisemik kontrolü olumsuz etkilediği bilinmektedir
- Bu çalışmada deneysel diabet oluşturulmuş ratların diş eti dokusundaki hücrelerin hücre yüzeyindeki ve ekstrasellüler matriksdeki galaktoz, laktoz, fukoza, mannoza, N-asetil galaktozamin, N-asetilglikozamin ve sialik asit ünitelerinin ekspresyon ve lokalizasyonlarındaki değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

- Çalışmada 10 adet sıçan kontrol grubu, 10 adet sıçan deney grubunu oluşturmuştur. Sıçanlarda diabet oluşturmak için; 0,01 M sodyum sitrat tamponu içinde streptozotosin 50mg/kg intraperitoneal olarak tek doz enjekte edildi. Kontrol grubu hayvanlara deney grubuna benzer şekilde aynı oranda 0.01 M sodyum sitrat tamponu intraperitoneal olarak uygulandı. Enjeksiyonu takiben 21 gün sonra kan glikoz düzeyi kontrol grubunda ort. 182.5±33.6 mg/dl, deneme grubunda 367,7±41 mg/dl olarak bulundu. Ötenazi uygulanan ratların diş etlerinden. 6 µm inceliğindeki kriostat kesitler alındı. Dokular, glikoz (ECL, ECA, WGA), Galaktoz (EEL, GSL I, BSL I), Laktoz (RCA I, RCA₁₂₀), Fukoz (PSA), Mannoz (GNL), Sialik asite spesifik (MAA, SNA, EBL) ile biotinlenmiş olan lektinler ile inkübe edildi, lektinlerin bağlantı yerleri DAB (3'-3'-Diaminobenzidin) renk substratı ile görünür hale getirildi. Reaksiyonların değerlendirilmesi ışık mikroskobunda gerçekleştirildi.
- Araştırma sonunda, diş eti kas dokusunda bulunan glukoz, laktoz, fukoz ve mannoz ünitelerine spesifik lektinlerle bağlanmanın kontrol grubunda, deneme grubuna göre daha şiddetli; sialik asit ünitelerinde ise deneme grubunda bağlanmanın daha yoğun olduğu görülmüştür. Diabetli ratların diş eti dokusundaki bu değişimlerin hangi mekanizma ile meydana geldiği ve diş eti hastalıklarının patogenezinde nasıl bir etkisinin bulunduğunu ortaya koymak için yeni çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Genuth S, Brownlee MA, Kuller LH, Samols E, Saudek CD, Sherwin R Consensus Development Conference on Insulin Resistance. Diabetes Care 1998, 21(2)310.
- İmamoğlu Ş. Diabetes Mellitus Multidisipliner Yaklaşımla Tanı, Tedavi ve izlenim. 3. Baskı İstanbul Deomed Medikal Yayıncılık. 2009.
- Yenigün M. Her yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi 2001; 51-61.
- Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report. of a WHO consultation. Diabet Med 1998; 15: 539-553.
- Gündoğdu S., Açıbay Ö.: Tip 2 diabetin evreleri ve takip kriterleri. Aktüel Tıp Dergisi 1996; 8: 557-559,
- Tuomilehto J., Zimmet P., Mackay IR. et al: Antibodies to glutamic acid decarboxylase as predictors of IDDM before clinical onset of disease. Lancet 1994; 343:133-135.
- Ekmetzoglou A, Zografos CG. A concomitant review of the effects of diabetes mellitus and hypothyroidism In wound healing. World Journal of Gastroenterology 2006; 12(17), 2721-2729.
- Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS. Molecular and cell biology of the gingiva. Periodontol 2000; 24: 28–55.
- Bartold PM, Narayanan AS. Biology of the periodontal tissues. Chicago: Quintessence Publishing Co. Inc. 1998; 73–121.
- Narayanan S. Sialic acid as a tumour marker, Annals of Clinical and Laboratory Science 1994, 24, 376-384.
- Sandallı P. Periodontoloji. İstanbul, Erişir Matbaa, 8-24; 1981.
- Ide M, McPartlin D, Coward PY, Crook M, Lumb P, Wilson RF. Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. J Clin Periodontol 2003; 30(4): 334 -340.
- Even SWB, Pusztai A. Effect of Diets Containing Genetically Modified Potatoes Expressing Galanthus Nivalis Lectin on Rat Small Intestine. Lancet 1999; 354, 9187, 1353-1354.
- Bergwer SP, Roos A, Mallat MJK, Fujita T. Association Between Mannose –Binding Lectin Levels and Graft Survival in Kidney Transplantation. American Journal of Transplantation 2005; 5:1361-1366.
- Takata T, Nikai H, Miyauchi M., Ito H. Kobayashi J. Ijuhin N. Lectin binding of rat gingival epithelia. Journal of Periodontal Research 1990; 25, 3, 152–155.

- Mealey BL, Oates TW. Diabetes Mellitus and periodontal diseases. J Periodontol 2006; 77:1289-303.
- Lalla E, Cheng B, Lal S, Tucker S, Greenberg E, Goland R, Lamster IB. Periodontal changes in children and adolescents with diabetes. Diabetes Care 2006; 29, 295-99.
- Löe H. Periodontal disease: the sixth complication of diabetes mellitus. Diabetes Care 1993; 16:329-34
- Oliver RC, Tervonen T. Diabetes--a risk factor for periodontitis in adults. J Periodontol 1994; 65, 530-538.
- Faria-Almeida R, Navarro A, Bascones A. Clinical and metabolic changes after conventional treatment of type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. J Periodontol 2006; 77:591-598.
- Aytakin Y. Temel Histoloji. 1998; Barış kitapevi, 88-117.
- Ross, M.H., Lynn, J.R.,Kaye, G.I.Histology a text and atlas (Thirdbs.).Baltimore: Encourage Creativity, 1995.
- Rao VSR, Qasaba PK, Balaji PV, Chandrasekeran R. Confirmation of Carbonhydrates. 1st Edition, Australia: Harwood Academic Publishers 1998.
- Yavuz Ö. Glikoproteinler ve biyomedikal önemi. T Klin Tıp Bilimleri Dergisi 2001; 21: 517-522.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper'ın Biyokimyası. Dikmen N, Özgünen T (Çevirenler). 24. Baskı, İstanbul: Barış Kitabevi 1998.
- Nelson DL, Michael MC. Carbonhydrates and Glycobiology. Lehninger Principles of Biochemistry, United states of America: Word Publishers 2000.
- Elbein A. Complex Carbonhydrates: Glycoproteins. 1st Edition, Medical Biochemistry, John Baynes, Marek H. Dominiczak. England: Mosby Publishing 1999.
- Opdenakker G, Rudd P, Ponting C, Dweek R. Concepts and principles of glycobiology. Faseb J 1993; 7, 1330- 1337.
- Gabius HJ, Gabius S. Glycosciences, 1st Edition, Weinheim: Chapman&Hall 1997.
- Allen HJ, Kisailus EC. Glycoconjugates: Composition, Structure and Function. 1st Edition, New York: Marcell Dekker Inc 1992.
- Lisowska E. The role of glycosylation in protein antigenic properties. Cell Mol Life Sci 2002; 59: 445-455.
- Kobata, A. Structures and functions of the sugar chains of glycoproteins. Eur J Biochem 1992; 209; 483-501.
- Franz H. Mistletoe lectins and their A and B chains. Oncology 1986; 43 : 23-34.
- Gabius HJ. Tümörlektinologie: Ein Gebiet im Schnittpunkt von Zuckerchemie, Biochemie, Zellbiologie und Onkologie. Angew. Chem 1988; 100: 1321-1330.
- Uhlenbruck GG. Die Biologie der Lektine: Eine biologische Lektion, Funk Biol Med 1983; 2: 40-48
- Schmidt RR. Neu Methoden zur Glycosid- und Oligosaccharidsynthese-gibt es Alternativen zur Koenigs-Knorr-Methode? Angew Chem 1986; 98: 213-236.

- Kayser K, Andre S, Bohm G, Donaldo S, Fritz P, Kaltner H, Kayser D, Kunze WP, Nehrlich A, Zeng FY, Gabius HJ. Developmental regulation of presence of binding sites for neoglycoproteins and endogenous lectins in various embryonic stages of human lung, liver and heart. *Roux's Arch Dev Biol.* 1995; 204: 344- 349.
- Aoki T, Kawano JJ, Oinuma T, Haraguchi Y, Eto T, Suganuma T. Human colorectal carcinoma-specific glycoconjugates detected by pokeweed mitogen lectin. *J Histochem Cytochem* 1993; 41: 1321-1330.
- Barondes SH. Bifunctional properties of lectins: lectins redefined. *Trends Biochem Sci* 1988; 13: 480-482.
- Lis H., Sharon N. Lectins: Their chemistry and application to immunology. *The Antigens.* 1977 , 4: 429-529. Academic Press, New York, London
- Rüdiger, H., Gabius, H. J. Lectinologie: Geschichte, Konzepte und pharmazeutische Bedeutung. *Deutsche Apotheker Zeitung* 1993; 26: 2371-2381
- Wieser, R. und Brunner, G. Interaktions- und Regulationsmechanismen der Zelle: Membranlektine- Membranglykomoleküle *Biologie in unserer Zeit* 1982; 12: 97-107.
- Fukuda M. Lysosomal membrane glycoproteins: structure, biosynthesis, and intracellular trafficking. *J Biol Chem* 1991; 266: 21327-30
- Bourrillon R, Aubery M. Cell surface glycoproteins in embryonic development. *Int Rev Cytol* 1989; 116: 257-338
- Rin J.M. Lectin structure. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 1995; 24: 551-577.
- Malykh YN, King TP, Logan E, Kelly D, Schauer R, Shaw L. Regulation of N-glycolylneuraminic acid biosynthesis in developing pig small intestine. *Biochem J* 2003; 370, 601-607.
- Reuter G, Gabius HJ, Sialic acids, *Biol Chem* 1996; 377, 325–342.
- Silver H, Rangel D, Mantor D. Serum sialic acid elevations in malignant melanoma patients. *Cancer* 1978; 41, 1497-1499.
- Deepa R, Rema M, Mohan V. Lack of association between serum sialic acid levels and retinopathy in type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 1998; 41,165–169.
- Murase N, Hosaka M, Takai Y. Histochemical demonstration of lectin-binding sites and keratin in inflamed human gingiva. *J Periodont Res* 1985; 20: 625. 14.
- Steffensen B, Lopatin DE, Caffesse RG, Hanks CT. Blood group substances as differentiation markers in human dento-gingival epithelium. *J Periodont Res* 1987; 22, 451–455,
- Lamey PJ, Darwazeh AMG, Fisher BM. Oral disorders associated with diabetes mellitus. *Diabet Med* 1992;9:410-416.
- Tervonen T, Oliver RC, Wolff LF, Bereuter J, Anderson L, Aeppli DM. Prevalence of periodontal pathogens with varying metabolic control of diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 1994; 21(6):375-379.
- Lohr M, Kaltner H., Lensch M, André S, Sinowatz F, Gabius HJ. Cell-type-specific expression of murine multifunctional galectin-3 and its association with follicular atresia/luteolysis in contrast to pro-apoptotic galectins-1 and -7. *Histochem Cell Biol* 2008; 130, 567–581.

TE EKKÜR

Doktora tez çalışmam boyunca ilgi yardım ve hoşgörsünü eksik etmeyen danışmanım ADÜ Veteriner Fakóltesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Aysegöl BİLDİK'e ve çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı Hocalarıma ve Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Kamil SEYREK'e, tez aşamasında desteğini aldığım Histoloji - Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi Özay GÜLEŐ'e sonsuz destek ve anlayışlarından dolayı teőekkür ederim.