

Melatonin tirotoksikozlu sıçanlarda nitrik oksit yanıtını baskılar

Melatonin decreases the nitric oxide response in thyrotoxic rats

Zafer Önen*, Özer Makay*, Gökhan İcöz*, Gökhan Özgen**,
Çiğdem Yenisey***, Nilüfer Genç Şimşek***, Mahir Akyıldız*, Enis Yetkin*

Amaç:

Nitrik oksitin deneysel hipertiroidizmdeki rolünü ve melatoninin nitrik oksit yanıtına etkisini araştırmak.

Durum Değerlendirilmesi:

Hipertiroidizm, serbest oksijen radikalı üretimine, serbest oksijen radikalleri de hücrede hasara neden olmaktadır. Metabolizma düzenlenmesinde etkin rol oynayan bir hormon olan melatonin, direkt antioksidan etkisiyle nitrik oksit (NO) gibi oksidatif strese yol açan serbest radikallerin biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önler.

Gereç ve Yöntem:

Çalışmada 30 adet Wistar Albino dişi sıçan üç grup olarak randomize edildi. Grup A'ya (negatif kontrol grubu) intraperitoneal serum fizyolojik; Grup B'ye (pozitif kontrol grubu) intraperitoneal 0,2 mg/kg/gün L-tiroksin ve Grup C'ye (tedavi grubu) intraperitoneal 0,2 mg/kg/gün L-tiroksinin ile birlikte intraperitoneal 3 mg/kg/gün melatonin uygulandı. Üçüncü hafta sonunda, tüm sıçanlar dekapite edilerek serum, karaciğer ve kalp dokularından örneklemeler yapıldı. Biyokimyasal olarak kan ve dokuda serbest T3 (FT3), serbest T4 (FT4), tiroid stimulan hormon (TSH) ve NO düzeyleri araştırıldı.

Bulgular:

Kan FT3 düzeyi açısından, Grup A ve B ile Grup B ve C arasında, istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ($p < 0.001$ ve $p = 0.004$, sırasıyla). Grup A ve B ile Grup A ve C arasında, kan FT4 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ($p < 0.001$ ve $p = 0.02$, sırasıyla). Median değerleri sırasıyla 5,93 $\mu\text{M/L}$; 48,41 $\mu\text{M/L}$ ve 42,69 $\mu\text{M/L}$ olan kan NO düzeyleri de gruplar arasında anlamlı fark gösterdi ($p < 0.001$). Kalp NO median değerlerine bakıldığında, B grubunda A grubu ile aynı (1,74 $\mu\text{mol/g}$ a karşın 1,74 $\mu\text{mol/g}$) olduğu ve bu değerlerin C grubunda baskılandığı (1,25 $\mu\text{mol/g}$), ancak bu yanıtın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p = 0.05$). Karaciğer NO düzeyleri arasındaki fark ise, Grup A ve B arasında anlamlı bulunurken ($p < 0.001$) Grup B ve C arasında anlamlı değildi (0,30 $\mu\text{mol/g}$; 0,46 $\mu\text{mol/g}$ ve 0,41 $\mu\text{mol/g}$, sırasıyla).

Sonuç:

Bu çalışmanın, melatoninin değişik dozlarda ve/veya zaman aralıklarında uygulanmasıyla yapılacak çalışmalarla doğrulanması ve desteklenmesi halinde; birçok klinik alanda kullanıma girdiği bildirilen melatonin ile hipertiroidizm gibi tüm sistemleri etkileyen patolojilerle savaşmada, yeni açılımlar sağlanabileceği inancındayız.

Anahtar Kelimeler: Hipertiroidizm, nitrik oksit, melatonin, serbest oksijen radikalleri

Makalenin Geliş Tarihi : 07.05.2008

Makalenin Kabul Tarihi : 14.11.2008

* Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Genel Cerrahi AD, İZMİR

** Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, İç Hastalıkları AD, Endokrinoloji BD, İZMİR

*** Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Biyokimya AD, AYDIN

Dr. Özer MAKAY

Ege Üniversitesi Tıp Fak. Genel Cerrahi AD

35040 Bornova / İZMİR

e-posta: ozer.makay@ege.edu.tr

Hipertiroidizm, hücredeki oksijen metabolizmasını etkileyerek serbest oksijen radikalleri üretimine neden olmaktadır. Serbest oksijen radikalleri, hücrelerde DNA hasarına, lipid peroksidasyonuna, enzim inaktivasyonuna ve aktivasyonuna neden olur. Sonuçta, bu reaktif bileşikler hücrede oksidatif hasara neden olurlar (1). Nitrik oksit tanımlanan serbest oksijen radikallerinden biridir (2).

Aerobik canlılarda, serbest oksijen radikalleri oluşumuyla birlikte, bu radikallerin zararlı etkilerini önlemek amacıyla antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir (3,4). Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve katalaz gibi enzimler ve vitaminler ile tiyoller gibi enzim olmayanlar şeklinde yapılarına göre sınıflandırılabilen antioksidanlar, serbest radikallerin lipidler, proteinler, nükleik asitler gibi hedef biyomoleküllere vereceği hasarı önleyebilmektedir (3,5). Son yıllarda, endojen savunma sistemini güçlendirmek amacıyla, organizmada doğal olarak bulunan savunma sistemlerinin bir kısmı ya da antioksidan özellik gösteren bazı farmakolojik ajanlar da kullanılmakta ve bu bileşikler, ekzojen savunma sistemleri olarak adlandırılmaktadır.

Çeşitli antioksidanların gücünü belirlemek amacıyla yapılan karşılaştırmalı çalışmalar, melatoninin en güçlü antioksidanlardan biri olduğunu göstermektedir. Askorbat alfa-tokoferol ve glutatyon gibi zincir reaksiyonlarını kırabilen diğer antioksidanlardan farklı olarak, melatonin yayılmakta olan lipid peroksidasyonunu peroksil radikalini yakalayarak sonlandırmaktadır (6). Melatonin gibi güçlü bir antioksidanın, patogenezinde serbest radikal hasarı olduğuna inanılan Alzheimer hastalığı, sepsis, iskemi/reperfüzyon hasarı, tardiv diskinezi gibi patolojilerde, klinik kullanıma da girdiği bildirilmektedir (1,7-9). Hipertiroidizmde ise oksidatif stres ile ilgili çalışmalar yapılmış olsa da, bu çalışmalar yeterli sayıda değildir. Nitrik oksitin hipertiroidizm ile ilişkisi ise iyi bilinmemektedir. Tüm bunlar göz önünde bulundurulduğunda, bu çalışma ile hipertiroidili sıçanlarda melatonin uygulananın, nitrik oksit üzerindeki etkisini ortaya koymaya amaçladık.

Gereç ve Yöntem

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu tarafından onaylanan bu çalışma (Sayı: 2006-30), Ekim-Aralık 2006 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Cerrahi Laboratuvarında gerçekleştiril-

di. Çalışma, 24 ± 1 °C'lik oda ısı ve 12'şer saatlik gece-gündüz döngüleri olan standart laboratuvar koşulları altında uygulandı. Sıçanların bakımı, optimum koşullarda, dört hafta süreyle deneysel cerrahi laboratuvarında sağlandı. Deney öncesinde sıçanlar 10 gün ortama alıştırdı. Hipertiroidi oluşturulması ve melatonin uygulanması UFAW Laboratuvar Hayvanları Yönetimi ve Bakımı El Kitabı'ndaki (Blackwell Yayınevi, 7.Baskı, Iowa, 1999, Blackwell Science) ölçütlere uyularak gerçekleştirildi.

Ortalama ağırlıkları 200–240 gr olan 30 adet Wistar Albino dişi sıçan şu gruplara randomize edildi (randomizasyon için deneklerin ağırlıkları kaydedilerek bilgisayar eşliğinde gerçekleştirildi);

- Grup A (n=10) Herhangi bir işlem görmeyen grup (sham grubu)
- Grup B (n=10) Tedavi almayan hipertiroidi grubu (kontrol grubu)
- Grup C (n=10) Melatonin uygulanan hipertiroidi grubu (tedavi grubu)

Tirotoksikoz, intraperitoneal olarak, 0,2 mg/kg/gün pozolojisi ile 7 gün boyunca uygulanan L-tiroksin (Sigma) ile oluşturuldu. L-tiroksin; 0,01 N NaOH'de çözündürülüp, serum fizyolojik ile sulandırıldı.

Grup C'de yer alan sıçanlara L-tiroksin ile aynı anda melatonin verildi. İlaç, 3 mg/kg/gün dozda, intraperitoneal olarak toplam 7 gün uygulandı. Toz halindeki melatonin (Sigma), %99 etanol ile çözelti haline getirildi ve enjeksiyon öncesi salin solüsyonunda seyreltildi. Hazırlanan çözelti, son haliyle, etanol konsantrasyonu %1 ve oluşturulan solüsyonun her 1 ml'sinde 10 mg melatonin içerir hale getirildi.

Üçüncü hafta sonunda tüm sıçanlar dekapite edilerek kan örneklerinin yanı sıra karaciğer ve kalp dokularından örneklemeler yapıldı. Biyokimyasal olarak kan ve dokuda FT3, FT4, TSH ve nitrik oksit (NO) düzeyleri araştırıldı.

Biyokimyasal Değerlendirme ***Doku örneklerinin alınması ve saklanması:***

Doku örnekleri, sıçanlar kesildikten sonra soğuk zincir ile taşındı ve -85°C 'lik derin soğutucuya kondu. Doku NO (nitrit+nitrat) ölçümleri için, doku homojenize edildiği gün süpernatant alınıp, %30'luk ZnSO_4 ile deproteinize edildi, santrifüjlendi ve yine ileride çalışılmak üzere -85°C 'de donduruldu. Dokuların homojenizasyonu, doku homojenizasyon tamponu ile 1:10 (w/v) olacak şekilde yapıldı. Doku homojenizasyon tamponu (1mM, pH:7.4); fenilmetilsulfonilflorür ($\text{C}_7\text{H}_7\text{FO}_2$, Sigma, Kat. No. P-7626), di-sodyumhidrojenfosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck, Kat. No. K2-5979680), potasyumdihidrojenfosfat (H_2KPO_4 , Merck, Kat. No. A986373), etilendiamintetraasetik asit-disodyum (Na_2EDTA) ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Sigma, Kat. No. E-1644) kullanılarak hazırlandı.

Kan örneklerinin alınması ve çalışılması:

Kan örnekleri, intrakardiyak olarak alındı. Ölçüm birimleri olarak; kan nitrik oksit için $\mu\text{M/L}$, FT3 için pq/mL , FT4 için ng/dL ve TSH için $\mu\text{IU/mL}$ kullanıldı. Referans aralıkları; FT3 için 1,8-4,6 pq/mL , FT4 için 0,93-1,7 ng/dL ve TSH için 0,27-4,2 $\mu\text{IU/mL}$ 'dir. Örneklerin ölçümleri, BIODPC firmasının IMMULATE 2000 Hormon Analizör'ünde, kemilüminans immunoassay ile ticari kitler kullanılarak tamamlandı.

NO (nitrit+nitrat) ölçüm yöntemi:

Bioxytech (Kat. No. 22116) yöntemi modifiye edilerek manuel yöntemle saptandı. Kadmiyum (Fluka, Kat. No. 20890) granülleri kullanıldı. Glisin-NaOH tamponu; glisin ($\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$, Merck, Kat. No. K23214990) ve sodyum hidroksid (NaOH, Prolabo, Kat. No. EMB 45053) kullanılarak hazırlandı. Glisin NaOH tamponu içindeki CuSO_4 çözeltisi; glisin, NaOH ve bakır

sülfat (CuSO_4 , Merck, Kat. No. 4187-427) kullanılarak hazırlandı. Sülfanilamid çözeltisi; hidroklorid asit %37 (HCl, Merck, Kat. No. K24016914) ve sülfanilamid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$, Sigma, Kat. No. S-9251) ile hazırlandı. NED çözeltisi; N-(1-Naphtyl) Etil-Enediamin dihidroklorür ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl}$, Sigma, Kat. No. N-5889) kullanılarak hazırlandı. Standartlar; sodyum nitrit (NaNO_2 , Sigma, Kat. No. S-3421) kullanılarak, 10-100 μg konsantrasyonlarda hazırlandı. Örneklerdeki nitrit ve nitrat konsantrasyonları Griess reaksiyonu sonucunda ölçüldü. Örnekler ve standartlar, ELISA yöntemiyle 540 nm'de okutuldu. Konsantrasyon hesapları otomatik olarak cihaz tarafından hesaplanmış olup, doku hesaplamaları sonucunda, sonuçlar $\mu\text{mol/g}$ yaş doku olarak verildi.

İstatistiksel analiz

Çalışma verileri, Microsoft Excel programına kaydedilerek toplandı. Verilerin istatistiksel analizi SPSS (sürüm 15,0) istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin ortanca ve çeyreklikler arası dağılım genişliği (IQR: interquartile range) değerleri kullanıldı. Grup değerleri, tüm verilerde Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldı. Grupların ikili analizinde Mann-Whitney U testi uygulandı. Bütün testlerde bulunan $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

FT3 düzeyleri

Kan FT3 düzey ortalamalarının, B grubunda, A grubu ortalamasına göre artış gösterdiği ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.001$). C grubu ortalamasının, B grubu ortalamasının altında olduğu, bunun da istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p = 0.004$) (Tablo 1).

FT4 düzeyleri

Kan FT4 ortalamalarının, B ve C gruplarında A grubuna göre anlamlı artış gösterdiği ($p < 0.001$ ve $p = 0.02$,

Tablo 1: Grupların tiroid fonksiyon testleri ölçüm sonuçları.

GRUP	FT3 (pg/mL) [median (Q ₁ ;Q ₃)]	FT4 (ng/dL) [median (Q ₁ ;Q ₃)]	TSH (µIU/mL) [median (Q ₁ ;Q ₃)]
A (sham grubu)	1,48 (1,16;1,83)	1,38 (1,20;1,71)	0,02 (0,005;0,35)
B (hipertiroidi grubu)	8,13 (5,19;11,56) *	4,28 (2,46;7,15) *	0,12 (0,005;0,27)
C (tedavi grubu)	2,26 (0,96;5,14) **	2,32 (1,53;5,92) ***	0,19 (0,02;0,65)

* A grubu ile karşılaştırıldığında, gruplar arası p<0,001
** B grubu ile karşılaştırıldığında, gruplar arası p=0,004
*** A grubu ile karşılaştırıldığında, gruplar arası p=0,02

Tablo 2: Grupların kan ve doku nitrik oksit düzeyleri.

GRUP	Kan NO (µM/L) [median (Q ₁ ;Q ₃)]	Kalp NO (µmol/g) [median (Q ₁ ;Q ₃)]	Karaciğer NO (µmol/g) [median (Q ₁ ;Q ₃)]
A (sham grubu)	5,93 (5,01;8,08)	1,74 (1,08;2,30)	0,30 (0,21;0,33)
B (hipertiroidi grubu)	48,41 (37,40;55,55) *	1,74 (1,28;2,29)	0,46 (0,40;0,55) *
C (tedavi grubu)	42,69 (33,04;90,40) **	1,25 (0,97;1,6)	0,41 (0,33;0,45)

* A grubu ile karşılaştırıldığında, gruplar arası p<0,001
** B grubu ile karşılaştırıldığında, gruplar arası p<0,001

sırasıyla), B ve C grupları arasında anlamlı fark olmadığı görüldü (p=0.23) (Tablo 1).

TSH düzeyleri

Kan TSH düzeyleri, B ve C gruplarında, A grubu ile karşılaştırıldığında, baskılanmış olsa da bu durum gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.38) (Tablo 1).

Kan NO düzeyleri

B grubunun kan NO düzeyi, A grubu ile karşılaştırıldığında, meydana gelen artışın anlamlı olduğu (p<0.001), C grubu ile karşılaştırıldığında ise, C grubundaki azalmanın anlamlı olduğu tespit edildi (p<0.001) (Tablo 2).

Kalp ve karaciğer NO düzeyleri

Kalp NO düzeyleri, her ne kadar C grubunda B grubuna göre daha düşük saptanmış olsa da aradaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.07 ve p=0.05, sırasıyla) (Tablo 2). Karaciğer NO düzeyi ise B grubunda, A grubuna göre daha yüksekti (p<0.001). Ancak C grubunda elde

edilen yanıt istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,18) (Tablo 2).

Tartışma

Literatüre bakıldığında hipertiroidizmin oksidatif strese etkisi ve antioksidan mekanizmalarda oluşan değişiklikler ile ilgili araştırmaların birçoğu deneysel hayvan modellerinde çalışılmıştır (10–14). İnsanlarda hipertiroidizme bağlı olarak tedavi öncesi ve sonrasında serum, plazma ve eritrosit antioksidan sistemlerinde meydana gelen değişiklikler ile ilgili çalışmalar daha azdır (15–17). Literatürde hipertiroidizm kaynaklı oksidatif stresi önlemeye yönelik tedavilerin etkinliğini irdeleyen çalışma sayısı da oldukça azdır. Biz de bu çalışmada bir proantioksidan ve doğrudan serbest radikal avcısı olan melatoninin, NO düzeyleri üzerine etkisini araştırdık. Moğulkoç ve ark.(10) bu konudaki çalışması bizim çalışmanın şekillenmesinde etkili oldu. İlgili çalışmada de-

neysel hipertiroidinin oksidatif strese neden olduğu, MDA ve GSH düzeylerinin etkilendiği ve melatoninin farklı dokularda oksidatif hasarı engellediği ortaya konmaktadır.

Hipertiroidizm geliştirilmiş sıçanlarda tiroid hormonunun bazı dokularda oksidatif stresi indükleyebildiği, karaciğer, kalp ve kas dokusunda lipid peroksidasyonunu ve karaciğerde protein oksidasyonunu artırdığı gösterilmiştir (11,12). Bununla birlikte altta yatan temel mekanizma tam anlaşılabilmiş değildir. Ancak gelişmiş floresans tekniğiyle yapılan çalışmalarla, tiroid hormon seviyesindeki değişikliklerin, dokuya özgün değişikliklerle ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. Bununla birlikte, bu çalışmalarda, hipertiroidili sıçanlarda kalp ve karaciğer üzerinde antioksidan kapasitenin azaldığı gözlenmiştir (12).

Nitrik oksidin memeli hücrelerinde meydana gelen oksidatif stres yanıtı sonucu, NOS aracılığıyla L-arginin'den üretilen bir serbest radikal olduğu bilinmektedir. Fizyolojik konsantrasyonlarda reaktif olmayan ve normal koşullarda enzim aktivasyonu ile c-GMP üretiminde rol alan NO, oksidatif stres yaratan herhangi bir durumda reaktif bileşiklerine dönüşmektedir. Böylece biyolojik moleküllere hasar verebilen güçlü oksidan yapıya kavuşmaktadır. Bu çalışmada tirotoksik oluşturulan sıçanlarda kan ve doku NO düzeylerinin arttığı ve NO'in en güçlü antioksidanı olduğu iddia edilen melatoninin, artmış NO düzeylerine etki ettiği ortaya konuldu.

Doksanlı yılların başında, melatoninin hidroksil iyonu temizleyici özelliği keşfedilmiştir. Daha sonrasında, melatoninin çeşitli oksidatif stres modellerine karşı koruyucu etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir (13). Melatoninin reaktif oksijen-nitrojen ürünlerini, peroksinitrit ve onların metabolitlerini ve hidrojen peroksidi detoksifiye ettiği saptanmıştır. Bununla birlikte, melatoninin, klinik kul-

lanım açısından, birtakım ilgi çekici özellikleri belirlenmiştir: bütün yapısal bariyerleri (kan, beyin ve plasenta) kolayca geçebilmesi, mitokondriyal fonksiyonları koruması, klinik uygulamalarda emilmeye hazır halde olması ve düşük toksisiteye sahip olması nedeniyle klinikte kullanım alanı bulmaya çalışmıştır (13).

Bu çalışmada melatoninin hangi mekanizma ile kan NO düzeylerini baskıladığını belirlemek mümkün değildir. Melatonin, doğrudan antioksidatif özelliğini kullanarak bu etkiyi gösteriyor olabilir. Ancak öte yandan, bu çalışmanın hipotezinde ön görmediğimiz, melatonin kullanımı ile ortaya çıkan bir T3 inhibisyonu söz konusudur. Melatoninin T4 deiyodinizasyonunu engellediğini belirten bir çalışmaya literatürde rastlanmamaktadır. Bu konunun bu açıdan araştırılmaya değer olduğu düşüncesindeyiz. Bunun yanı sıra, deneysel hipertiroidi ile ortaya çıkan oksidatif stres yanıtında nitrik oksitin inflamatuvar sitokinler ile ilişkisi olabilir ve melatonin bu sitokin yanıtı üzerinden etki gösterebilir. Bu hipotezi doğrulamak üzere, tarafımızca aynı deneysel model üzerinde çalışılmış ve bu modelin ikinci ayağında irdelenen sonuçlar henüz değerlendirilme aşamasındadır.

Kan NO'nin yanı sıra, çalışmada kalp ve karaciğer NO düzeyleri de ölçüldü. Tüm sistemlere etkisi olduğu bilinen hipertiroidinin sıçanlarda karaciğer ve kalp dokularındaki antioksidan savunma sisteminin etkinliğini ciddi ölçüde azalttığı bir gerçektir (2). Fernandez ve ark.(14) yaptığı bir çalışmada, T3 uygulamasının, sıçan karaciğerinde NOS aktivitesine neden olduğu ortaya konulmuştur. Bu çalışmada, artmış NOS aktivitesinin T3 preparatı kesildikten sonra normale döndüğü gözlenmiştir. Nitrik oksidin karaciğerdeki sentezi, hem hepatositlerde hem de Kupffer hücrelerinde gerçekleşmektedir (18,19). Tiroid hormonu uygulananın, karaciğerde

Summary:

Melatonin decreases the nitric oxide response in thyrotoxic rats

Purpose: Hyperthyroidism results in free radical production and this free radical production results in cell damage. Melatonin, which is an effective hormone in the management of the metabolism, prevents the harmful effects of free radicals like nitric oxide via its direct antioxidant effect. This study was conducted to investigate the role of nitric oxide in experimental hyperthyroidism and the effect of melatonin on nitric oxide.

Materials and Methods: Thirty Wistar Albino female rats were randomized into three groups: Group A (negative control group) underwent saline injection; Group B (positive control group) underwent intraperitoneal L-Thyroxine 0.2 mg/kg/day and Group C (treatment group) underwent intraperitoneal L-Thyroxine 0.2 mg/kg/day + melatonin 3 mg/kg/day. After 3 weeks, all rats were decapitated and blood, liver and heart tissue samples were taken. Biochemically, FT3, FT4, TSH and NO levels were investigated.

Results: There was a significant change in FT3 levels between Groups A and B, and Groups B and C ($p<0.001$ and $p=0.004$, respectively). Concerning FT4 levels, there was a significant change between Groups A and B and Groups A and C ($p<0.001$ and $p=0.02$ respectively). Changes in median blood NO levels of Group A, B and C were significantly different (5,93 $\mu\text{M/L}$; 48,41 $\mu\text{M/L}$ and 42,69 $\mu\text{M/L}$, respectively) ($p<0.001$). Heart NO level of Group B is similar to Group A (1,74 $\mu\text{mol/g}$ vs. 1,74 $\mu\text{mol/g}$). There was also no statistically significant difference between Group B and C, although heart levels decreased in Group C (1,25 $\mu\text{mol/g}$), ($p=0,05$). Liver NO levels showed a significant difference between Group A and B, while there was no significant difference between Groups B and C (0,30 $\mu\text{mol/g}$; 0,46 $\mu\text{mol/g}$ ve 0,41 $\mu\text{mol/g}$, respectively).

Conclusion: Results of this study should be confirmed with future studies conducted with different doses and application time intervals of melatonin. We believe that these future studies will lead melatonin to a major role in the fight against pathologies like hyperthyroidism that affect many systems.

Key Words: Hyperthyroidism, nitric oxide, melatonin, free oxygen radicals

peroksinitrit (ONOO^-) formasyonuna ve böylece oksidan durumun artmasına neden olduğu bilinmektedir (20). Hipertiroidili karaciğerde gözlenen değişikliklerin, tiroid hormonlarının sistemik etkilerinden mi kaynaklandığı ya da tiroid hormonlarının karaciğer üzerindeki direkt toksik etkisinden mi kaynaklandığı açık değildir. Bununla birlikte, bu konuda yapılan çalışmalar tiroid hormonlarının karaciğerde oksidatif strese neden olup, hücresel düzeyde mitokondriyeler ve plazma membranlarını etkileyerek, lipid ve protein oksidasyonuna yol açtığı düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda, hipertiroidi oluşturulan grupta, karaciğer NO düzeyindeki artış istatistiksel olarak anlamlı iken, melatonin ile tedavi verilen grupta ortalama %20 oranında yanıt alınmasına rağmen, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Konu ile ilgili veri sayısı az olduğundan, benzer modellerde karaciğer NO düzeyinin melatoninine nasıl yanıt vereceği konusuna açıklık getirecek daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğu görülmektedir.

Deneysel olarak hipertiroidinin kalp dokusu üzerine etkisini inceleyen iyi tasarlanmış çalışmaları model olarak aldığımızda, bu çalışmada uygulanan tiroid hormon replasmanı

sonucunda kalp NO düzeylerindeki artışın, karaciğer NO düzeylerindeki artış kadar belirgin olmadığı görüldü. Karaciğer dokusu ile karşılaştırıldığında NO düzeyi her ne kadar kalp dokusunda daha yüksek konsantrasyonda mevcut olsa da, hipertiroidinin oluşturulması ile ortaya çıkan artış ve melatoninin bu artışa olan cevabı istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Yapılan çalışmalarda, hipertiroidide kalp dokusunda ortaya çıkan değişikliklerin, artmış oksidatif hasarın direkt etkisinden çok, kalp dokusunun oksidatif yanıtı olan azalmış savunma etkisinden dolayı meydana geldiği bildirilmektedir (11).

Sonuç olarak, yaptığımız bu çalışma ile, sıçanlarda geliştirilen deneysel hipertiroidizm modelinde; hipertiroidi ile kan, kalp ve karaciğer nitrik oksit düzeylerinin arttığı gösterilmiş ve hipertiroidi durumu ile ilişkilendirilen kan NO formasyonunun, melatonin tedavisine yanıt verdiği ortaya konulmuş oldu. Bu çalışmanın, melatoninin değişik dozlarda ve/veya zaman aralıklarında uygulanımıyla yapılacak diğer çalışmalarla doğrulanması ve desteklenmesi halinde, hipertiroidizmin tedavisinde yeni açılımlar sağlanabileceği inancındayız.

KAYNAKLAR

1. Asayama K, Kato K. Oxidative muscular injury and its relevance to hyperthyroidism. *Free Radic Biol Med* 1990;8:293-303.
2. Venditti P, Di Meo S. Thyroid hormone-induced oxidative stress. *Cell Mol Life Sci* 2006;63:414-434.
3. Yazıcı C, Köse K. Melatonin: karanlığın antioksidan gücü. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 2004;13:56-65.
4. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine* 2nd ed. Clarendon Press, Oxford 1996;10-19:86-130.
5. Valentine JS, Wertz DL, Lyons TJ. The dark side of dioxygen biochemistry. *Curr Opin Chem Biol* 1998;2:253-262.
6. Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B, et al. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: antioxidative protection and formation of bioactive substances. *Neurosci Biobehav Rev* 1993;17:347-357.
7. Brusco LJ, Marquez M, Cardinali DP. Monozygotic twins in Alzheimer's disease treated with melatonin: case report. *J Pineal Res* 1998;25:260-263.
8. Gitto E, Karbownik M, Reiter RJ. Effects of melatonin treatment in septic newborns. *Pediatr Res* 2001;50:756-760.
9. Fulia F, Gitto E, Cuzzocrea S. Increased levels of malondialdehyde and nitrite/nitrate in the blood of asphyxiated newborns. *J Pineal Res* 2001;31:343-349.
10. Mogulkoc R, Baltacı A, Öztekin E, et al. Melatonin prevents oxidant damage in various tissues of rats with hyperthyroidism. *Life Sci* 2006;79:311-315.
11. Venditti P, Balestrieri M, Di Meo S, et al. Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defences, and susceptibility to oxidative stress in rat tissues. *J Endocrinol* 1997; 155:151-157.
12. Venditti P, De Rosa R, Di Meo S. Effect of thyroid state on susceptibility to oxidants and swelling of mitochondria from rat tissues. *Free Radic Bio Med* 2003;35:485-494.
13. Baydas B, Meral I. Effects of melatonin on lipid peroxidation and anti-oxidant enzyme activity in rats with experimentally induced hyperthyroidism. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005;32:541-544.
14. Fernandez V, Cornejo P, Tapia G, et al. Influence of hyperthyroidism on the activity of liver nitric oxide synthase in the rat. *Nitric Oxide* 1997;6:463-468.
15. Bianchi G, Solaroli E, Zaccheroni V, et al. Oxidative stress and anti-oxidant metabolites in patients with hyperthyroidism: effect of treatment. *Horm Metab Res* 1999;31:620-624.
16. Abalovich M, Llesuy S, Gutierrez S, et al. Peripheral parameters of oxidative stress in Graves' disease: the effects of methimazole and 131 iodine treatments. *Clin Endocrinol.* 2003;59:321-327.
17. Resch U, Helsel G, Tatzber F, et al. Antioxidant status in thyroid dysfunction. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:1132-1134.
18. Curran RD, Billiard TR, Stuehr DJ, et al. Hepatocytes produce nitrogen oxides from L-arginine in response to inflammatory products of Kupffer cells. *J Exp Med* 1989;170:1769-1774.
19. Billiard TR, Curran RD, Stuehr DJ, et al. Evidence that activation of Kupffer cells results in the production of L-arginine metabolites that release cell-associated iron and inhibit hepatocyte protein synthesis. *Surgery* 1989;106:364-372.
20. Ignarro LJ. *Nitric oxide: biology and pathobiology*, Academic Press, San Diego 2000.

KATKIDA BULUNANLAR:

Çalışmanın düşünülmesi ve planlanması:

Enis Yetkin, Mahir Akyıldız, Gökhan İçöz, Gökhan Özgen, Özer Makay

Verilerin elde edilmesi:

Çiğdem Yenisey, Özer Makay, Nilüfer Genç Şimşek, Zafer Önen

Verilerin analizi ve yorumlanması:

Gökhan İçöz, Gökhan Özgen, Özer Makay

Yazının kaleme alınması:

Özer Makay, Zafer Önen

İstatistiksel değerlendirme:

Zafer Önen