

Ratlarda Sistaminin Neden Olduğu Katarakt Oluşumunda Melatoninin Anti-Kataraktojenik Etkisinin Araştırılması

THE INVESTIGATION OF ANTI-CATARACTOGENIC EFFICACY OF MELATONIN IN CYSTEAMINE-INDUCED CATARACT IN RATS

Hamdi ER*

* Yrd.Doç.Dr., İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Turgut Özal Tıp Merkezi, Göz Hastalıkları AD, MALATYA

Özet

Çalışmanın amacı antioksidan özellik taşıyan melatoninin sistaminin neden olduğu deneysel katarakta, anti-kataraktojenik etkisini araştırmaktır. Çalışmada Wistar cinsi 12 dişi rot kullanıldı. Rai/ar her bir grupta 6 rat içeren 2 gruba ayrıldı. Birinci gruptaki 6 rutin 12 gözüne sükhonjktival sistinin ve iutrapitoneal uelatoninin, 2. gruptaki 6 ratu 12 gözüne ise sükhonjktival sistinin ve intraperitoneal steril şalin uygulandı. Birinci gruptaki 4 ratu 8 gözünde 51 ile 62 gün arası (ortalama, 57.8 gün), 2. gruptaki 4 ratu 8 gözünde ise 47-57 gün arası (ortalama, 53.8 gün) değişen sürelerde malür katarakt gelişti. Ortalama katarakt gelişim süresi bakımından iki grup arasında istatistiki olarak atlandı farklılık tespit edilemedi ($U=14.5$, $p=0.063$). Sistinin kullanımının özellikle erişkin ratlarda deneysel katarakt oluşumuna yol uçmada çok uygun bir ilaç olmadığı, melatoninin ise erişkin ratlarda sistinine bağıli katarakt gelişimini engellemediği görüldü. Melatoninin, anti-kataraktojenik etkisini deneysel olarak değerlendirebilmek için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır

Anahtar Kelimeler: Katarakt, Melatonin, Sistinin

T Klin Oftalmoloji 1998, 7:100-103

Melatonin pineal bezin antioksidan etkiye sahip önemli bir hormondur. Bu özelliği sebebiyle bir çok çalışmada özellikle yaşa bağıli dejeneratif olayları engellemekte yararlı olabileceği tespit edilmiştir (1-3).

Oftalmoloji alanında ise bu ajan ile ilgili araştırmalar henüz sınırlı sayıdadır. Daha önceki in vitro çalışmalarda başta retina olmak üzere bazı göz içi dokularda melatonin varlığı gösterilmiştir (4-6). Ayrıca deneysel diabette melatoninin doza bağımlı bir anti-

Geliş Tarihi: 27.01.1997

Yazışma Adresi: Dr.Hamdi ER

Valikonığı Cad Zafer Malı 5. Sok.
Doğan Ap. No: 13 B/Blok
44020 MALATYA

Summary

The aim of the present study is to investigate anti-cataractogenic efficacy of melatonin that has antioxidant effect in cysteamine-induced experimental cataract. Twelve female Wistar rats were used in this study. Animals were divided into two groups, each consisting of 6 rats. Twelve eyes of six rats in group 1 received subconjunctival cysteamine and intraperitoneal melatonin. Twelve eyes of six rats in group 2 received subconjunctival cysteamine and intraperitoneal sterile saline. Mature cataract developed between 51 to 62 days (mean, 57.8 days) and between 47 to 57 days (mean, 53.8 days) in 8 eyes of 4 rats in group 1 and in group 2, respectively. No significant statistical difference, was detected between two groups in terms of mean development of cataract ($U=14.5$, $p=0.0633$). We conclude that cysteamine is not a very suitable drug to induce experimental cataract formation, melatonin, however, is not able to prevent the development of cataract, especially in adult rats. Further studies are required to evaluate the efficacy of melatonin in delaying the formation of experimental cataract.

Key Words: Cataract, Cysteamine, Melatonin

T Klin J Ophthalmol 1998, 7:100-103

diabetik etkisi olduğu bildirilmiştir (7). Katarakt oluşumunda önemli sebeplerden biri olarak başta hidrojen peroksit ve oksijen olmak üzere serbest radikallerin hücre zarında lipid peroksidasyonu ile membran permeabilitesini bozması ve yoğun protein agregasyonuna yol açması düşünülmektedir (8). Bu hipotez doğrultusunda katarakt oluşumunun geciktirilmesi veya önlenmesi için medikal araştırmalarda ilk sırayı antioksidanlar almaktadır. Günümüzde şu anda bu konuda üzerinde çalışılan 80 üzerinde antioksidan madde vardır. Melatonin de bu özelliği ile son yıllarda bir çok alanda üzerinde yoğun olarak çalışılan bir hormondur. Katarakt gelişimi ile ilgili olarak bugüne kadar ulaşabildiğimiz kaynaklar içerisinde sadece Abe ve ark. (9) deneysel çalışmalarında melatoninin kataraktı önleyici etkisi olabileceğini bildirmişlerdir.

Bu deneysel çalışmanın amacı, serbest radikal tutucu özelliği ile günümüzde değişik alanlarda üzerinde yoğun çalışmalar yapılan melatoninin anti-kataraktogenik etkisi olup olmadığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada ağırlıkları 100-150 gr arasında değişen VVistar emsi 12 dişi rat kullanıldı. Ratlar eşit olarak 2 çalışma grubuna ayrıldı. Birinci gruptaki 6 rata 0.1 ml 200 mg/kg subkonjonktival sistamin (2-Mercaptoethylamine HCl, Sigma, M-6500), ve 0.2 ml 4 mg/kg intraperitoneal melatonin (N-Acetyl-5-methoxytryptamine, Sigma, M-5250) uygulanırken, 2. gruptaki 6 rata yine aynı miktar ve doz subkonjonktival sistamin ile 0.2 ml intraperitoneal steril salın uygulandı. Sistamin steril şalinde dilüe edilerek hazırlanırken, melatonin önce etanolde çözdürüldü, daha sonra steril şalinde dilüe edilerek %1 etanol konsantrasyonuna ulaşıldı. Melatonin uygulamaları ve diğer enjeksiyonlar öğleden sonra saat 2 ile 5 arasında yapıldı. Çünkü daha önceki çalışmalarda da gözleendiği gibi öğleden sonra, akşama doğru gibi geç vakitlerde 0.01 ile 10 mg/kg arasında uygulanan dozlarda melatonin immunosüpresif cevap oluştururken, sabah uygulandığında 200 mg/kg dozda dahi immünosüpresyon meydana gelmemektedir (10). Ayrıca melatoninin ışık-karanlık farklılıklarına göre farklı bir ritim izlemelerinden ötürü hayvanlarda normalin dışında bir etkileşim olmaması ve bunun hariçen uygulanan melatonin seviyelerini etkilememesi için deney hayvanlarının mümkün olduğunca 12 saat gün ışığı, 12 saat karanlıkta kalmasına dikkat edildi. Enjeksiyonlar ilk 10 gün her gün, daha sonra hayvan gözlerinde hafif-orta derecede konjesyon meydana gelmesi nedeniyle gün aşırı olmak üzere katarakt gelişimine kadar devam ettirildi. Enjeksiyonlar intramuskuler ketamin HCl (10-20 mg/kg, Ketalar, Parke-Davis, Eczacıbaşı Warner Lambert) genel ve %0.4 oksibuprokain (Benoxinate, Thilo) topikal anestezisi altında yapıldı. Deney hayvanlarının kontrolü ise makroskopik olarak

hergün ve genel anestezi altında pupil dilatasyonu sağlanarak biyomikroskop altında ise haftada bir yapıldı.

Her iki grup arasında kataraktların oluşum süreleri arasındaki farklılıklar istatistiki olarak Mann-Whitney U testi kullanılarak değerlendirildi.

Sonuçlar

Çalışma sırasında farklı zamanlarda her iki gruptan olmak üzere toplam 4 rat çeşitli nedenler ile öldüğünden çalışma kapsamından çıkarıldı. Birinci grupta kalan 4 ratın 8 gözünde 51 ile 62 gün (ortalama, 57.8 gün) (Tablo 1), 2. grupta kalan 4 ratın 8 gözünde ise 47 ile 57 günde (ortalama, 53.8 gün) (Tablo 2) matir katarakt gelişti (Şekil 1 ve 2). Ortalama katarakt gelişim süreleri bakımından her iki grup arasında istatistiki olarak anlamlı farklılık bulunamadı (U=14.5, p=0.633).

Tartışma

Pineal bez ve onun en önemli nörohormonu olan melatonin antioksidan etkisiyle son yılların üzerinde en çok çalışılan konularından biridir. Melatonin pineal bezde triptofandan sentez edilir ve burada depolanır. Şahmını postsinaptik (i-adrenerjik reseptör aktivasyonu ile gerçekleşir ve seviyesi gece karanlıkta maksimal düzeye ulaşırken, ışıkta inhibe olur (11).

Melatoninin serbest radikal yakalayıcı fonksiyonundan kaynaklanan yaşlanmayı önleyici, immun sistem destekleyicisi ve nöroprotektif etkilerinin varlığı bilinmektedir. Bu özellikleri farklı bir çok araştırmada in vivo ve in vitro olarak gösterilmiştir (1,2,12). Melatoninin serbest radikal tutucu özelliği bilinen en potent endojen antioksidan olan glutatyondan 5 kez, en potent eksojen antioksidan olan mannitolden ise 14 kez daha fazladır (13).

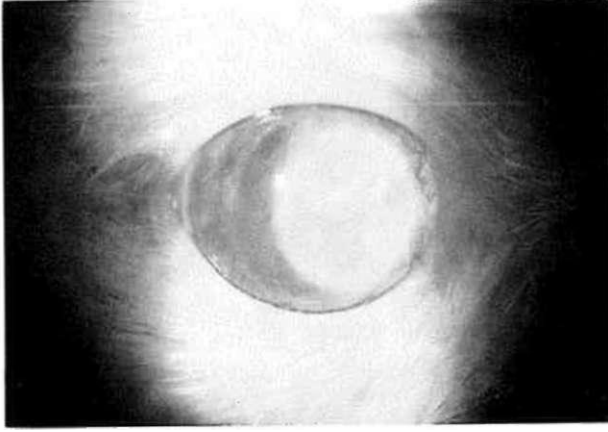
Melatonin bugüne kadar sınırlı sayıda oftalmolojik araştırmalara konu olmuştur. Voisin ve ark. (4), Mennenga ve ark. (5), Bebenik ve ark. (6) yaptıkları deneysel çalış-

Tablo 1:1. grup ratlarda tespit edilen katarakt oluşum zamanları

Göz No	Katarakt Oluşum Zamanı (gün)
1	57
2	52
3	59
4	51
5	58
6	61
7	62
8	60

Tablo 2. 2. grup ratlarda tespit edilen katarakt oluşum zamanları

Göz No	Katarakt Oluşum Zamanı (gün)
1	52
2	57
3	53
4	52
5	57
6	57
7	56
8	47



Şekil 1. I. grupta yer alan bir ratın sol gözünde matür kataraktın görünümü



Şekil 2. 2. grupta yer alan bir ratın sağ gözünde matür kataraktın görünümü

malarda immunohistolojik olarak rat retinalarında melatonin varlığını göstermişlerdir. Pierrficle ve ark. (7) gerçekleştirdikleri bir deneysel diabet çalışmasında melatoninin antioksidan etkisi ile diabette doza bağımlı olarak diabet oluşumunu engellediğini ortaya koymuşlardır. Diğer bazı deneysel çalışmalarda da melatoninin aköz hümede mevcut olup, göz içi basımdaki diüurnal ritme paralel bir ritim değişikliği gösterdiği ve göz içi basıncını azaltıcı etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (14,15).

Melatoninin katarakt gelişimi üzerine etkisine ilişkin bizim ulaştığımız tek çalışma Abe ve ark. (9)'larına aittir. Bu deneysel çalışmada yeni doğan ratlarda sadece intraperitoneal buthionine sulfoximine enjeksiyonu alan gruptaki tüm ratlarda katarakt ortaya çıkarken, buthionine ile beraber intraperitoneal 4 mg/kg melatonin alan grupta sadece %6.2 oranında katarakt geliştiği bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda ise melatoninin katarakt gelişimini engellemediği, ancak ortalama süre bakımından belli zaman geciktirebildiği görüldü. Bunun nedeni çalışmada bizim erişkin rat kullanmamız olabilir. Ayrıca çalışmamızda gerek sistamin+melatonin alan 1. grupta, gerekse sistamin+ steril şalin alan 2. gruptaki tüm hayvanlarda değişik sürelerde katarakt gelişti. Katarakt gelişim süresi olarak iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (11=14.5, p=0.063). Ancak 1. gruptaki ortalama süre (57.8 gün), 2. gruptaki ortalama süreden (53.8 gün) daha uzundur. Öte yandan genelde deneysel katarakt oluşum süreleri önceki diğer çalışmalara göre daha uzun bulundu (9,16,17). Bunun nedeni olarak sistamin uygulamasında sıbkonjonktival yol kullanılsa bile, deney hayvanı olarak erişkin ratların kullanılmış olması düşünüldü. Bundan sonraki çalışmalarda doz ayarlamalarının da bu süreler üzerinde etki-

li olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca önceki bu tür deneysel çalışmalarda deney hayvanı olarak genellikle neonatal ratlar kullanıldı (9,16,17). Ancak neonatal rat bakım ve manipülasyonu son derece zor olduğundan çalışmamızda erişkin ratlar tercih edildi. Öte yandan katarakt oluşum süreleri diğer çalışmalara göre daha uzun bulundu. Bunun nedeni olarak enjeksiyon uygulamasında sıbkonjonktival yol kullanılsa bile, deney hayvanı olarak erişkin ratların kullanılmış olması düşünüldü.

Deneysel çalışmalarda katarakt oluşumu için, başlıca tercih edilen ajanlar sistamin, seleni ve buthionine olup, send katarakt oluşumuna en yakın katarakt geliştiren ajanlardır (16). Bu nedenle bu çalışmada da bunlardan sistamin kullanılmıştır. Bu çalışmada ajanların uygulanım yollarının seçiminde ise melatonin uygulanımı daha kolay olması sebebi ile intraperitoneal tercih edilmiştir. Bu tür deneysel çalışmalarda sıbkutan yol da kullanılabilir. Fakat bizim deneysel gözlemlerimizde ratlarda sıbkutan uygulanmalarda özellikle yüksek volümlerde cilt nekrozu ortaya çıkmaktadır, intraperitoneal yolda ise bu komplikasyon oldukça az ve olduğunda ise daha hafif seyretmektedir.

Sonuç olarak, bu deneysel çalışmada melatoninin sistaminin neden olduğu kataraktı mutlak önleyici etkisi görülmedi, ancak gelişim sürecini kısmen uzattığı tespit edildi. Melatoninin antioksidan özelliği ile doz konusundaki çalışmaların geliştirilmesi ve bu alanda verilerin artması ile bu ajanın oluşumunda iminim sistemin rol aldığı düşünülen oküler patolojilerin gelişimini geciktirme ve hatta önleme konusunda önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. Öte yandan, bu bir ön çalışmadır ve yukarıda bahsedildiği gibi özellikle doz konusunda konunun aydınlatılması için yem araştırmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Tau DX, Poeggeler B, Reiter R.J, et al. The pineal hormone melatonin inhibits DNA-adduct formation induced by the chemical carcinogen role in vivo. *Cancer Letters* 1993; 70: 65-71.
2. Chen LI, Melchior D, Sewerynek H, et al. Retinal lipid peroxidation in vitro is inhibited by melatonin. *Neuro Res Lett* 1995;
3. Reiter R.J. The ageing pineal gland and its physiological consequences. *BioEssays* 1992; 14:169-75.
4. Voisin P, Guerlotic J, Bernard M, Grève P, Grzelicz-Cassiau A, Collin JP. Regulation of hydroxyindole-O-methyltransferase gene expression in the pineal gland and retina. *Acta Neurobiol Exp* 1994;54 (suppl):41-9.
5. Meuncuga K, Ueck M, Reiter R.J. Immunohistological localization of melatonin in the pineal gland and retina of the rat. *J Pineal Res* 1991;10:159-64.
6. Bubeuk GA, Ptirtill RA, Brown GM, Grotta L.I. Melatonin in the retina and the pineal gland. Ontogeny, diurnal variations and melatonin treatment. *Exp Eye Res* 1978;27:323-33.
7. Picrrefiche G, Topall (i. Courbois G. Antioxidant activity of melatonin in mice. *Res Commun Chem Path Pharm* 1993;80: 211-23.
8. Chylack L.T. Mechanism of senile cataract formation. *Ophthalmology* 1984;91:596-602.
9. Abe M, Reiter R.J, Orhii PB, Hani M, Poeggeler B. Inhibitory effect of melatonin on cataract formation in newborn rats: evidence for an antioxidative role for melatonin. *J Pineal Res* 1994;17:94-100.
10. Truong T, Sagar SM, Millard W, Shaw JL. Cyatemic induces cataracts in newborn rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1987; 28:1710-3.
11. Reiter R.J, Craft CM, Johnson Jti, et al. Age-associated reduction in nocturnal pineal melatonin levels in female rats. *Hudocriology* 1981;109:1295-7.
12. Koçak A. Pincalctomize ve non-pincalctomize ratararda oluşturulan deneysel kafa travmasında melatoninin antioksidan etkisinin incelenmesi. Hacettepe Üniv. Tıp fak. Nöroşirurji A.B.D., Uzmanlık tezi. 1996.
13. Tan DX, Chen LD, Poeggeler LC, et al. Melatonin : a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrine* 1993; 1 :57-60.
14. Hing-Sing Y, Richard WY, Kimberly A Russel RJ. Diurnal rhythms of immunoreactive melatonin in the aqueous humor and serum of male pigmented rabbits. *Neuroscience Letters* 1990;116:309-14,
15. Samples JR, Krause G, Lewy A.I. Effect of melatonin on intraocular pressure. *Curr Eye Res* 1988;7:649-53.
16. Vlacstroni GJM. The immunoneuroendocrine role of melatonin. *J Pineal Res* 1993; 14:1-10,
17. Kükner A, Kükner Ş, Ozan E ve ark. Selenyum kataraktının oluşması sırasında vitamin E ve C'nin etkilerinin elektron mikroskop düzeyinde incelenmesi. *Türk J Oft* 1995;4:36-41.