

# Hipertiroidili Ratların Böbrek Dokusu Üzerine Melatonin'in Etkisi

## THE EFFECT OF MELATONIN ON KIDNEY OF RATS WITH HYPERTHYROIDISM

Jale ÖNER\*, Enver OZAN\*\*\*, Aysel KÜKNER\*\*, Hakan ÖNER\*

\* Arş.Gör.Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD,

\*\* Doç.Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD,

\*\*\* Prof.Dr., Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD, ELAZIĞ

### Özet

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, deneysel olarak hipertiroidizm oluşturulan sıçanlarda, böbrek dokusunda ortaya çıkan değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine melatonin'in etkilerinin ışık mikroskopik olarak incelenmesidir.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmada sıçanlar 3 gruba ayrıldı. Grup I, kontrol olarak kullanıldı, Grup II'ye 3,3',5-Triiodo-L-Thyronine (T<sub>3</sub>) enjekte edildi. Grup III'e ise T<sub>3</sub>+Melatonin enjekte edildi. Deney sonunda sıçanlardan alınan böbrek doku örnekleri ışık mikroskopik olarak incelendi.

**Bulgular:** Işık mikroskopik incelemelerde, T<sub>3</sub> verilen grupta tübüllerin bazal membranında ve Bowman kapsülünde PAS (+)'liğin arttığı, proksimal tübül lumeni içinde granüler madde birikimi ile birlikte hücre döküntüsünün olduğu, kan damarlarının dolgunlaştığı, kortekste ve medulladaki bazı tübüllerde hiyalin madde biriktiği gözlemlendi. Melatonin verilen grupta ise, kan damarlarındaki dolgunluğun ve tübüller içindeki hiyalin birikiminin azaldığı gözlemlendi. T<sub>3</sub> verilen grupta gözlenen proksimal tübüllerdeki hücre döküntüleri bu grupta da mevcuttu.

**Sonuç:** Çalışmamızda, hipertiroidizmin böbrekte yapısal değişikliklere neden olduğu, melatoninin ise bu değişiklikler üzerine önemli bir iyileştirici etki yapmadığı gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Hipertiroidizm, Böbrek, Melatonin

T Klin Tıp Bilimleri 2002, 22:287-291

### Summary

**Purpose:** The aim of this study was to investigate light microscopically structural changes occurred in kidney of rats with hyperthyroidism and effect of Melatonin on this changes.

**Materials and Method:** In this study rats were divided into 3 equal groups; Group I was control, group II was injected with 3,3',5-Triiodo-L-Thyronine (T<sub>3</sub>), group III was injected with T<sub>3</sub>+Melatonin. In the end of study, kidneys were removed and examined with light microscopy.

**Results:** In the light microscopic examination, PAS (+) increasing in basal membran of tubules and in Bowman capsule, cell debris together with granular material accumulation in proximal tubule lumen, filling in blood vessels, hyaline material accumulation in some tubules in cortex and medulla were observed in group II. In group III, filling in blood vessels and hyaline accumulation in tubules decreased. Cell debris were also present in proximal tubules.

**Conclusion:** In our study, it was observed that hyperthyroidism caused structural changes in kidney and melatonin didn't make important effect on this changes.

**Key Words:** Hyperthyroidism, Kidney, Melatonin

T Klin J Med Sci 2002, 22:287-291

Hipertiroidizm, tiroid hormonu artışı ile uyarılan bir hipermetabolik durum değişikliğidir (1). Sağlıklı bir tiroid bezinden salgılanan hormonun %90'ı Tiroksin, %10'u ise Triiodotironin'dir. Bununla birlikte, Tiroksin'in önemli bir bölümü kanda ve periferik dokularda Triiodotironin'e çevrilir. Triiodotironin Tiroksin'den yaklaşık dört kat daha güçlüdür. Tiroid hormonlarının vücutta 2 önemli etkisi bulunmaktadır; 1) Tüm metabolizma hızını artırır, 2) Çocuklarda büyümeyi uyarır (2). Tiroid hormonları, hedef dokulardaki mitokondriyal enzimleri indükleyerek bazal metabolik hızı, daha özel olarak da oksidatif metabolizmayı hızlandırır. Ayrıca aşırı tiroid hormonunun doku yaralanmasını indüklediği bildirilmiştir (3, 4). Çok miktarda hormon salgılandığı zaman bazal metabolizma hızı yükselir ve protein sentezi artar. Tiroid hormonlarının

alınmasını izleyen 1 hafta içinde protein sentezinin artmasına bağlı olarak 100 kadar belki de daha çok intraselüler enzimin miktarı da artar. Deneysel olarak tiroid hormonu verildiği zaman hücrelerin çoğunda mitokondriler irileşir ve sayıları artar. Ayrıca mitokondrilerin total membran alanı, hayvanların tüm metabolizma hızındaki yükselmeye doğru orantılı olarak genişler. Bu yolla hücre fonksiyonları için enerji kaynağı olan ATP'nin yapımı da hızlanmaktadır. Aşırı yüksek konsantrasyonda tiroid hormonu verildiğinde mitokondriler düzensiz olarak şişer ve oksidatif fosforilasyonla eşleşmediği için çok miktarda ısı fakat çok az ATP üretilir. Tiroid hormonuna cevap olarak çoğalan enzimlerden biri Na-K ATP'az'dır. Tiroid hormonlarının vücut metabolizmasını yükselten mekanizmalardan birinin de bu olabileceği düşünülmüştür

(2). Hipertiroidizmin değişik dokularda meydana getirdiği değişikliklere ilişkin çalışmalar mevcuttur. Özellikle iskelet kası, kalp kası ve karaciğerde yapısal düzeyde değişiklikler bildirilmiştir (5- 8).

Tiroid bezi fonksiyonları üzerine endokrin etkisi olan Melatonin hormonunun genel bir inhibitör etkisi gösterilmiştir. Melatonin'in salgılandığı pineal bezin deneysel olarak çıkarılması T<sub>4</sub> hormonunun salgılanmasını arttırmaktadır ve tiroid bezinde hipertrofiye neden olmaktadır. Melatonin ise T<sub>4</sub> sekresyonunu azaltmakta ve plazma T<sub>4</sub>'ü baskılamaktadır. Melatonin aynı zamanda TSH'ı da arttırmaktadır (9).

Bu çalışmada, deneysel olarak hipertiroidizm oluşturulan sıçanlarda böbrek dokusunda ortaya çıkan değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine Melatonin'in etkisinin ışık mikroskopik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Araştırma, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal Araştırmalar Ünitesinden temin edilen ağırlıkları 250-300 g olan 30 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan sıçanlar 3 gruba ayrıldı. Bütün gruplardaki hayvanlar deneye başlamadan önce tartıldı.

**Grup 1: Kontrol (Sham) Grubu (n=10):** Deneklere 20 gün periton içi 2 ml Fizyolojik tuzlu su (SF) enjekte edildi. Sonraki 20 gün de SF'e ilaveten deri altı yolla 0,1 ml Etanol enjekte edildi.

**Grup 2: T<sub>3</sub> Enjekte Edilen Grup (n=10):** Deneklere hipertiroidizm oluşturmak amacıyla her gün 10 µg/100 g dozda 3,3',5-Triiodo-D<sub>3</sub>-Thyronine (Sigma) (T<sub>3</sub>) periton içi enjekte edildi. 21. günden itibaren bu enjeksiyona ilaveten deri altı yolla 0.1 ml etanol enjekte edildi.

**Grup 3: T<sub>3</sub>+Melatonin Enjekte Edilen Grup (n=10):** Deneklere hipertiroidizm oluşturmak amacıyla her gün 10 µg/100 gr dozda 2 ml SF içinde sulandırılmış T<sub>3</sub> periton içi olarak 20 gün boyunca enjekte edildi. 21. günden itibaren bu enjeksiyona ilaveten günlük 6 mg/kg dozda melatonin 0.1 ml Etanol içerisinde çözdürülerek 20 gün boyunca deri altı enjekte edildi.

Deney süresi sonunda üç gruba ait tüm hayvanlar tartıldıktan sonra genel anestezi altında biyokimyasal tetkikler için kan, mikroskopik incelemeler için de doku örnekleri alındı. Parafin bloklardan alınan kesitler PAS, Crossman'ın 3'lü boyası ile DDSA+Araldit karışımına gömülen doku örneklerinden alınan yarı ince kesitler de Toluidin mavisi ile boyandı.

### Bulgular

Deney sonunda tartılan sıçanların vücut ağırlıkları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında T<sub>3</sub> verilen grupta

**Tablo 1.** Grup I, II ve III'ün Canlı Ağırlıkları

Gruplar	n	Ortalama ± SS
Grup I	10	315,10 ± 9,49
Grup II	10	296,00 ± 7,75**
Grup III	10	300,00 ± 5,77*

\* p=0.001 Grup I ile karşılaştırıldığında

\*\* p<0.001 Grup I ile karşılaştırıldığında One-Way ANOVA.

**Tablo 2.** Grup I, II ve III'ün T<sub>3</sub> Hormon Seviyeleri

Groups	n	Ortalama ± SS
Grup I	10	0,4620 ± 0,0312
Grup II	10	2,1280 ± 0,6008**
Grup III	10	0,9830 ± 0,2299*

\* p<0.05 Grup I ile karşılaştırıldığında

\*\* p<0.001 Diğer gruplarla karşılaştırıldığında One-Way ANOVA.

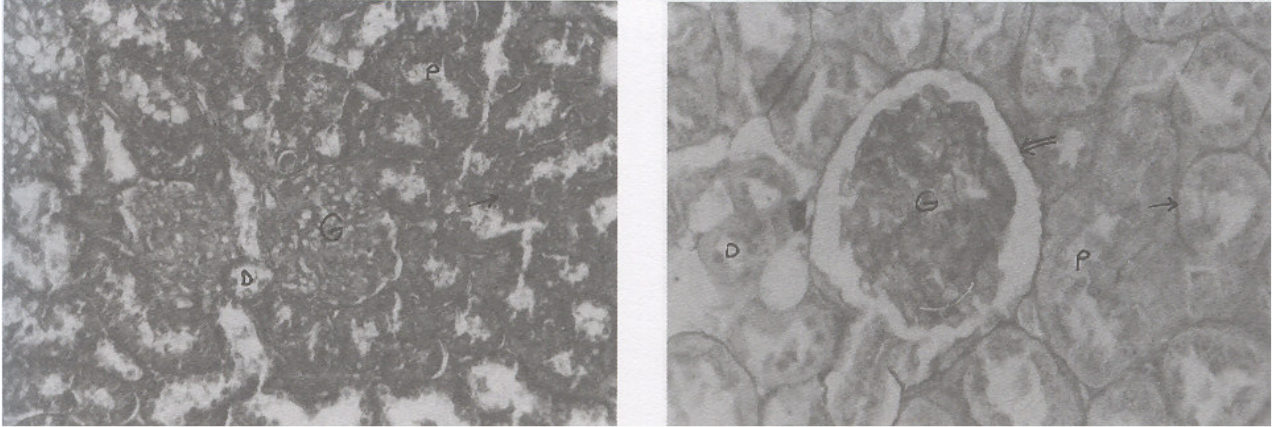
yiyecek alımının artmasına rağmen kilo artışının azaldığı, Melatonin verilen grupta ise az miktarda kilo artışı olduğu gözlemlendi (Tablo 1).

Sıçanlardan alınan kan örneklerinin hormon değerleri karşılaştırıldığında, Grup II'deki sıçanların serum T<sub>3</sub> değerlerinin kontrole göre oldukça yükselmiş olduğu, buna karşılık Melatonin verilen grupta T<sub>3</sub> değerinin kontrole yaklaştığı gözlemlendi. Bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı idi (Tablo 2).

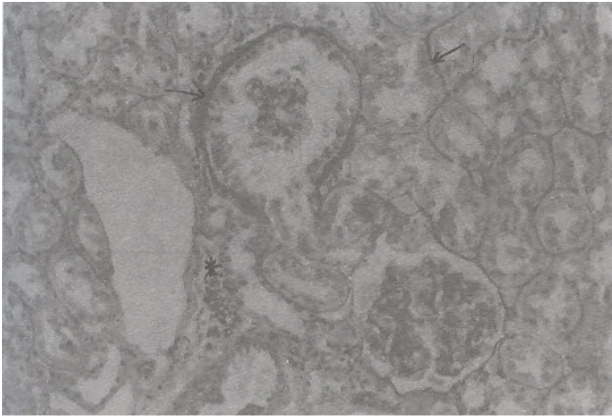
Işık mikroskopik incelemede kontrol grubuna ait sıçanların böbrek doku kesitleri nin normal görünümüne sahip olduğu görüldü (Şekil 1A, 1B). T<sub>3</sub> verilen grupta, PAS boyaması ile tübül bazal membranı ve glomerulu sınırlayan Bowman kapsülünde PAS (+)'liğin arttığı ve bazı kan damarları çevresinde hücre artışı olduğu (Şekil 2), kortekste ve medulladaki bazı tübüllerde hiyalin madde birikimi (Şekil 3) gözlemlendi. Yarı ince kesitlerde ise proksimal tübül lumeni içinde granüler madde birikimi ile birlikte hücre döküntüsünün olduğu, kan damarlarının dolgunlaştığı (Şekil 4), Crossman üçlü boyamasında ise tübüller arasındaki bağ doku miktarının kontrole göre arttığı (Şekil 5) gözlemlendi. Melatonin verilen grupta ise, kan damarlarındaki dolgunluğun ve tubuller içindeki hiyalin birikmesinin azaldığı gözlemlendi (Şekil 6). T<sub>3</sub> verilen grupta gözlemlenen hücre artışına bu grupta rastlanmazken, proksimal tübüllerde hücre döküntüleri mevcuttu. Üçlü boyama ile gözlenen bağ doku artışına bu grupta da rastlandı.

### Tartışma

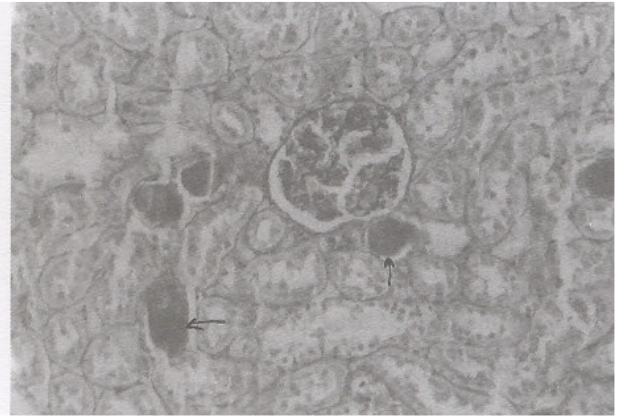
Tiroid hormonlarının böbrekte meydana getirdiği yapısal değişimlere ilişkin çalışmalar az sayıdadır. Çalışmalar daha çok fizyolojik düzeydedir.



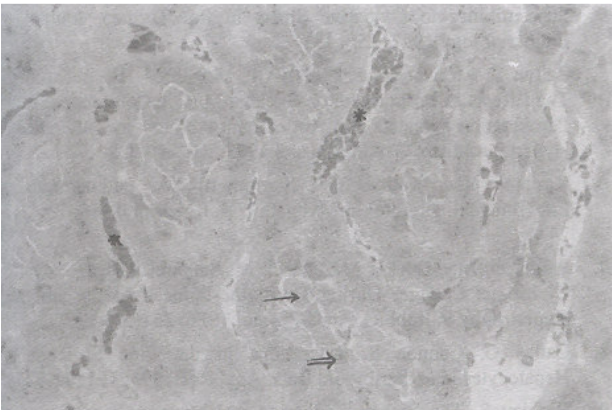
**Şekil 1A, B.** Kontrol grubuna ait sıçan böbrek dokusunun iki ayrı boyamada (A: Crossman üçlü boyası x 10, B: PAS x 20) normal histolojik görünümü. P: Proksimal tübül, D: Distal tübül, G : Glomerul, ⇒ : Bowman kapsülü →: Tübülleri saran bazal membran.



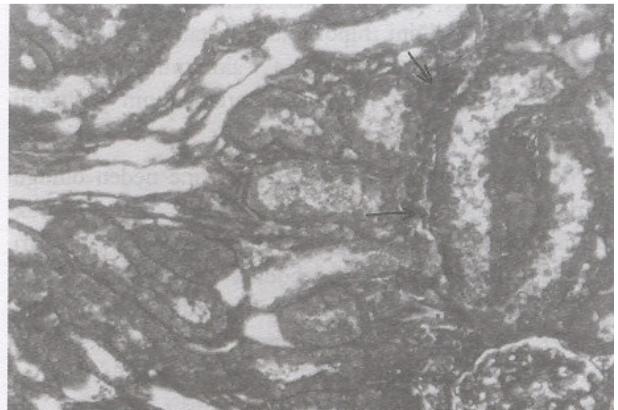
**Şekil 2.** T<sub>3</sub> uygulaması tübül bazal membranında (→) ve Bowman kapsülünde (⇒) PAS (+)'liği artırmıştır. Bazı kan damarları çevresinde hücre artışı (\*) görülmüştür (PAS x 10).



**Şekil 3.** T<sub>3</sub> uygulanmış gruba ait görünüm. Korteks ve medulladaki tübüllerdeki hiyalin madde birikimi (→) gözleniyor (PAS x 10).



**Şekil 4.** T<sub>3</sub> uygulanmış gruba ait görünüm. Proksimal tübül lumeninde granüler madde birikimi (→) ile beraber hücre döküntüsü (⇒), ayrıca kan damarlarında dolgunluk (\*) gözlenmektedir (Toluidin mavisi x 20).

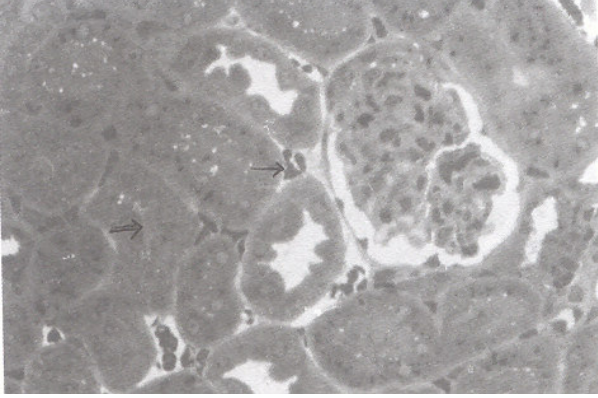


**Şekil 5.** T<sub>3</sub> uygulanmış gruba ait görünüm. Tübüller arasında bağ doku artışı (→) gözlenmektedir (Crossman üçlü boyası x 10).

Tiroksin hormonunun böbrekte, özellikle tübül fonksiyon üzerine etkili olduğu düşünülmektedir (10).

Becker ve arkadaşları hipertiroidili kedilerde yaptıkları

çalışmada, hipertiroidizmin glomerül filtrasyon oranını (GFR) yükselttiğini, tedavi amaçlı olarak kullanılan Methimazol'un bu oranı düşürdüğünü gözlemişlerdir (11).



**Şekil 6.** T<sub>3</sub>+Melatonin uygulanan gruba ait görünüm. Kan damarlarındaki dolgunluğun (→) ve tübüller içindeki granüler madde birikiminin (⇒) azaldığı gözlenmektedir (Toluidin mavisi x 20).

Yine tiroksin enjekte edilen kedilerde, GFR ve böbrek kan akımının arttığı, serum kreatinin ve kan üre nitrojen değerlerinin azaldığı görülmüştür. Kedilere dışardan tiroksin verilmesi böbrek fonksiyonunu önemli oranda uyarmıştır (12). Hipertiroidizmin methimazol ile tedavisi sonucunda ise bu değerler artmıştır (13).

Yapılan başka bir çalışmada hipertiroidizmde artmış yiyecek alımına rağmen daha az kilo artışı ile beraber kan glukoz seviyesinin düştüğü bildirilmiştir. T<sub>4</sub> muamelesi ile böbrek tübüllerinde glukoz üretiminin arttığı bildirilmiştir (14). Yaptığımız çalışmada hem T<sub>3</sub> hem de Melatonin verilen grupta vücut ağırlığının kontrole göre düşük olduğu görülmüştür.

Capasso ve arkadaşları ise tiroid hormonlarının proksimal tubuler sodyum transportunu ve Na-K-ATP'az aktivitesini etkilediğini, hipotiroidli hastalarda glomeruler filtrasyon ve böbrek plazma akımının azaldığını, hipertiroidizmde ise her iki parametrenin arttığını bildirmişlerdir (15).

Hipertiroidizmin böbrek hipertrofinin neden olduğu bildirilmesine rağmen mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Kobori ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hipertiroidizmde böbrek ağırlığının vücut ağırlığına göre artmış olduğu görülmüştür. Radyoimmün ölçümler ve transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu, hipertiroidili grupta hipertrofiyi işaret eden böbrek renin mRNA ekspresyonunun arttığını göstermiştir (16).

Yapılan çalışmalarda hipertiroidili olgularda antioksidan koruyucu sisteme ait çeşitli maddeler kullanılmıştır. Vitamin E'nin hipertiroidizmde T<sub>3</sub> ve T<sub>4</sub> değerlerini düşürdüğü bildirilmiştir (17,18). Antioksidan olan maddelerden birisi de Melatonin olup gentamisin ile oluşturulan böbrek tubuler nekrozu üzerine olan etkilerine bakılmıştır. Gentamisin, hiperproteinüri'ye, GSH-Px, Catalase ve SOD aktivitelerinde azalmaya neden olmuştur.

Melatonin uygulaması ise tübüller hasarda belirgin bir azalma meydana getirmiştir. Bu sonuçlar ışığında, melatonin'in gentamisin ile indüklenen tübüller nekrozu önlediğini, bunu da muhtemelen antioksidan enzimleri onarması yoluyla yaptığını düşünmüşlerdir (19).

Melatonin enjeksiyonunun hipofiz-tiroid sistemi üzerine inhibitör etki yaptığı bir çok çalışmada bildirilmiştir. Vriend ve arkadaşları'nın yaptığı çalışmada da hipotiroidli ratlara melatonin verilmesinin artmış olan TSH içeriğini azalttığı bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre melatonin'in TRH salınımını düzenleyen nöral sistemlerden biri olarak davrandığını düşünmüşlerdir (20).

Mevcut çalışmada, hipertiroidizmin serum T<sub>3</sub> seviyesinde yükselmeye ve dokuda yapısal düzeyde değişikliklere, Melatonin ilavesinin ise T<sub>3</sub> seviyesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda, hipertiroidizmin böbrekte yapısal değişikliklere neden olduğu, melatoninin ise bu doz ve sürede T<sub>3</sub> seviyesini azaltmasına rağmen, yapısal değişiklikler üzerine önemli bir etkiye sahip olmadığı gözlenmiştir.

#### KAYNAKLAR

1. Kumar, Cotran, Robbins. Temel Patoloji, 5nd ed. WB Saunders Company, 1992.
2. Guyton AC. Textbook of medical physiology, 7nd ed. WB Saunders Company, 1986.
3. Asayama K, Dobashi K, Hayashibe H, Megata Y, Kato K. Lipid Peroxidation and Free Radical Scavengers in Thyroid Dysfunction in the Rat: A Possible Mechanism of Injury to Heart and Skeletal Muscle in Hyperthyroidism. *Endocrinology* 1987; 121(6): 2112-8.
4. Venditti P, Balestrieri M, Meo SD, Leo TD. Effect of Thyroid State On Lipid Peroxidation, Antioxidant Defences, and Susceptibility to Oxidative Stress in Rat Tissues. *Journal of Endocrinology* 1997; 155: 151-7.
5. Zaiton Z, Merican Z, Khalid BAK, Mohamed JB, Baharom S. The Effects of Propranolol on Skeletal Muscle Contraction, Lipid Peroxidation Products and Antioxidant Activity in Experimental Hyperthyroidism. *Gen Pharmacol* 1993; 24: 195-9.
6. Kazakov VM, Katinas GS, Skorometz AA. Pathogenesis of Experimental Thyrotoxic Myopathy. *Eur Neurol* 1986; 25: 212-24.
7. Parmacek MS, Decker ML, Lesch M, Samarel AM, Decker RS. Lysosomal Changes During Thyroxine-Induced Left Ventricular Hypertrophy in Rabbits. *Am J Physiol* 1986; 251(5P+1): 737-47.
8. Callas G, Cannon S. Alterations in the Fine Structure of Hepatocytes in Hyperthyroid Rats. *Anat Rec* 1974; 181: 71-82.
9. Binkley S. The Pineal: Endocrine and Nonendocrine Function. *Prentice Hall Endocrinology Series*, New Jersey 1988; 146.
10. Oakley PW, Dawson AH, Whyte IM. Lithium: Thyroid Effects and Altered Renal Handling. *J Toxicol Clin Toxicol* 2000; 38(3): 333-7.
11. Becker TJ, Graves TK, Kruger JM, Braselton WE, Nachreiner RF. Effects of Methimazole on Renal Function in Cats with Hyperthyroidism. *J Am Anim Hosp Assoc* 2000; 36(3): 215-23.
12. Adams WH, Daniel GB, Legendre AM. Investigation of the Effects of Hyperthyroidism on Renal Function in the Cat. *Can J Vet Res* 1997; 6-1(1): 53-6.

13. Di Bartola SP, Broome MR, Stein BS, Nixon M. Effect of Treatment of Hyperthyroidism on Renal Function in Cats. *J Am Vet Med Assoc* 1996; 15, 208(6): 875-8.
  14. Piementa WP, Silva Veiga JA. Increased Glucose Synthesis in Renal Tubule Fragments from Hyperthyroid Rats. *Can. J Physiol Pharmacol* 1999; 77(2):143-6.
  15. Capasso G, De Tammasso G, Pica A, Anastasia P, Capasso J, Kinne R, De Santo NG. Effects of Thyroid Hormones on Heart and Kidney Functions. *Miner. Electrolyte. Metab* 1999; 25(1-2): 56-64.
  16. Kobori H, Ichihara A, Miyashita Y, Hayashi M, Saruta T. Mechanism of Hyperthyroidism-induced Renal Hypertrophy in Rats. *J Endocrinol* 1998; 159(1): 9-14.
  17. Adalı M, İnal-Erden M, Akalın A, Efe B. Effect of Prophylthiouracil, Propranolol, and Vitamin E on Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Hyperthyroid Patients. *Clin Biochem* 1999; 32(5): 363-7.
  18. Seven A, Seymen O, Hatemi S, Hatemi H, Yiğit G, Candan G. Antioxidant Status in Experimental Hyperthyroidism: Effect of Vitamin E Supplementation. *Clinica. Chemica. Acta* 1996; 256: 65-74.
  19. Ozbek E, Turkoz Y, Sahna E, Ozugurlu F, Mizrak B, Ozbek M. Melatonin Administration Prevents the Nephrotoxicity Induced by Gentamicin. *Bju Int* 2000; 85(6): 742-6.
  20. Viriend J, Wasserman RA. Effects of Afternoon Injektions of Melatonin in Hypothyroid Male Syrian Hamsters. *Neuroendocrinol* 1986; 42: 498-503.
- 
- Geliş Tarihi:** 11.10.2001
- Yazışma Adresi:** Dr.Jale ÖNER  
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Histoloji-Embriyoloji AD, ELAZIĞ
- §18-21 Eylül 2001 tarihleri arasında 15. Uluslararası Elektron Mikroskobu kongresinde poster olarak sunulmuştur.*