

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

70823

**DİABETİK RATLARDA RETİNA LİPİT PEROKSİDASYONU
ÜZERİNE MELATONİNİN ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. MUSTAFA ATAŞ

ELAZIĞ-1998

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	3
A. Diabetes Mellitus (DM).....	3
A. 1. Tanım.....	3
A. 2. Sınıflandırma.....	3
A. 2. 1. Tip I Diabet (insüline bağımlı diabet: IDDM).....	4
A. 2. 2. Tip II Diabet (İnsüline bağımlı olmayan diabetes mellitus:NIDDM).....	4
A. 3. Diabetin Komplikasyonları	5
A. 4. Diabet ve Göz	5
A. 4. 1. Diabetik Retinopatinin sınıflaması	6
A. 4. 2. Diabetik Retinopati Gelişimindeki Risk Faktörleri	7
A. 4. 3. Sistemik Risk faktörleri	9
A. 4. 4. Okuler Faktörler	10
A. 4. 5. Diabetik Retinopati Gelişiminde Rol Oynayan Patolojik Mekanizmalar....	11
B. Serbest Radikaller	17
B. 1. Serbest Oksijen Radikalleri ve Reaktif Oksijen Türleri	17
B. 1. 1. Süperoksit Radikali (O_2^-).....	18
B. 1. 2. Hidrojen Peroksit	19
B. 1. 3. Hidroksil Radikali (OH.)	20
B. 1. 4. Singlet Oksijen (1O_2)	20
B. 2. Serbest Radikallerin Etkileri.....	20
B. 2. 1. Membran Lipidlerine Etkileri (Lipid Peroksidasyonu)	21
B. 2. 2. Proteinlere Etkileri	23
B. 2. 3. Nükleik Asitler Ve DNA'ya Etkileri	24
B. 2. 4. Karbonhidratlara Etkileri	24
B. 2. 5. Oksijen Serbest Radikallerinin Patolojik Etkileri	25
B. 3. İskemi/ Reperfüzyon	26
B. 4. Antioksidan Savunma Sistemleri	26
B. 4. 1. Endojen (Doğal) Antioksidanlar	27
B. 4. 2. Eksojen Antioksidanlar (İlaçlar)	27
B. 5. Antioksidanların Etki Mekanizması	28

C.Diabet Ve Serbest Radikaller.....	28
D. Göz Ve Serbest Radikaller	31
E. Melatonin	34
E. 1. Pineal Bez	34
E. 2. Melatonin Biyosentezi Ve Metabolizması	36
E. 3. Melatoninin Fizyolojik Fonksiyonları Ve Rol Oynadığı Durumlar	38
E. 4. Melatoninin Antioksidan Etkisi	42
III. GEREÇ VE YÖNTEM	44
A. Deney Guruplarının Tanımlanması	44
B. Deneyin Yapılışı	45
C. İstatistiksel Analizler	46
IV. BULGULAR	47
V. TARTIŞMA	48
VI. ÖZET	56
VII. KAYNAKLAR.....	57

I.GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes mellitus (DM) oldukça sık görülen ve ciddi komplikasyonlarla seyreden, multisistemik kronik bir hastalıktır. Dünya sağlık örgütüne göre DM sıklığı %2-5 arasında değişmektedir. Ülkemizde bu hastalığın insidansı, ortalama %2.97 olarak verilmektedir (1). Diabetik retinopati, ABD ve İngiltere'de körlük nedenlerinin başında gelir. Bu ülkelerdeki körlük nedenlerinin her yıl yaklaşık %10'nun sorumlusu diabetik retinopatidir (2). Diabetik retinopati prevalansı insüline bağlı diabette %40, buna karşılık insüline bağımlı olmayan diabette %20 olarak tespit edilmiştir (3). Değişik toplumlarda %2-5 sıklığında görülen diabetiklerin %50'sinde diabet retinopatisi görüldüğü bildirildiğine göre dünyada 15-16 milyon diabet retinopatili bulunmaktadır. Bu da konunun önemini açıklayan diğer bir önemli veridir (4).

DM, insülin yetmezliği veya insülinin fonksiyonunun bozulmasına sekonder hiperglisemi ile karakterize bir hastalıktır (5,6). Uzun dönemde retinopati, nefropati, nöropati gibi kronik komplikasyonlar ortaya çıkar (7). Diabetik retinopati, retinal prekapiller arterioller, kapillerler ve venülleri etkileyen bir mikroanjiyopatidir. Mikroanjiopatinin gelişiminde rol oynayan mekanizmalar; kapiller basal membran kalınlaşması, non-enzimatik glikozilasyon, artmış serbest radikal aktivitesi, poliöl yolundaki metabolik artış ve hemostatik anormalliklerdir. Hiperglisemi bütün bu olaylarda temel bir rol oynamaktadır (8-13).

Nonenzimatik glikolizasyon, otooksidatif glikolizasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yolu aktivitesi, inflamatuvar mediatörlerin düzeyleri ile antioksidan savunma sistemindeki değişiklikler, hipoksi ve iskemik reperfüzyon sonucu oluşan lokalize doku hasarı diabette oksidatif stresi artıran mekanizmalardır (6,11, 13,14).

Lipid peroksidasyonun poliansature yağların oksidatif hasarının bir sonucu olduğu iyi bilinmektedir. Retinanın özellikle fotoreseptör tabakası

yüksek konsantrasyonda doymamış yağ asitleri içerir. Retina aynı zamanda yüksek oksijen içeren bir dokudur. Literatürde aşırı oksijenin, ışığın, radyasyonun lipid peroksidasyonunu başlatarak retinada hücresel elemanların tahribine yol açtığını gösteren çalışmalar vardır. Diabette de katarakt formasyonu ve diabetik retinopati ile lipid peroksidasyonu arasında ilişki gösterilmiştir (15-19).

Pineal bezden sirkadiyan bir ritimde ve karanlıkta salgılanan melatonin hormonu vücudun diğer kısımlarına zaman sinyalleri göndererek, günün ve yılın farklı zamanlarına bağlı fizyolojik siklusun düzenlenmesinde görev alır. (20,21).

Son yıllarda melatoninin en etkili antioksidan olduğu ileri sürülmektedir. Melatoninin glutatyona ve E vitaminine göre daha etkili bir antioksidan olduğu bildirilmektedir. Melatonin güçlü antioksidan etkisinin yanısıra ayrıca nöral dokuda glutasyon peroksidaz aktivitesini de artırmaktadır. Beyin, glutasyon aktivitesinin gece yüksek olması yüksek melatonin düzeyi ile yakından ilgilidir. (22-24).

Bu çalışma, streptozosin ile diabet oluşturulmuş ratlarda retinada lipid peroksidasyon düzeyi üzerine melatoninin antioksidan etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

II.GENEL BİLGİLER

A.DİABETES MELLİTUS

A.1. Tanım

DM, pankreasın insülin salgısının yetersizliği veya insülinin etkisinin yetersizliği (insülin rezistansı) ile oluşan, kronik seyirli, hiperglisemi ile seyreden, en göze çarpıcı şekilde bozulan karbonhidrat metabolizması olmakla birlikte, yağ ve protein metabolizmasında da bozukluklar ile karakterize bir endokrin ve metabolizma hastalığıdır (25).

A.2.Sınıflandırma

Günümüzde yaygın kabul edilen sınıflama, National Diabetes Data Group'un önerisi esas alınarak yapılan sınıflamadır (26)(Tablo -1).

Tablo-1. Diabetin sınıflandırılması

-
- İnsüline bağımlı DM (IDDM veya tip I diabetes mellitus)
 - İnsüline bağımlı olmayan DM (NIDDM veya tip II DM)
 - Non-obez DM
 - Obez DM
 - Gestasyonel diabetes
 - Öteki tipler
 - Pankreatik hastalıklar
 - Hormonal anormallikler
 - İlaç yada kimyasal nedenlerle oluşan
 - İnsülin reseptör anormallikleri
 - Genetik sendromlar
 - Diğerleri
 - Glukoz toleransı bozukluğu
-

Bu sınıflama diabetin en sık görülen dört tipini içermektedir. İnsüline bağımlı, insülinden bağımsız, gestasyonel ve diğer tip diabetler, açlık hiperglisemisi veya glukoz tolerans testinde artmış plazma glukoz düzeyi ile karakterizedirler (26).

A.2.1. Tip I DM (İnsüline bağımlı diabet: IDDM)

Bu tip, DM'un çocuk ve genç adultlarda en sık rastlanan tipi olup, tüm diabetikler içinde %5-10'luk bir oran oluşturur. Genelde 40 yaşından önce başlar. 14 yaş civarında pik yapar. IDDM, semptomların ani başlaması, insülinopeni, yaşamı sürdürebilmek için insüline bağımlı olunması, ketozis gelişmeye eğilimle karakterizedir. Sıklıkla adult yaştan önce başlarsada, herhangi bir yaşta da ortaya çıkabilir. Yaş sınıflandırma için bir kriter olarak kabul edilmemektedir (26).

A.2.2. Tip II DM (İnsüline bağımlı olmayan diabetes mellitus: NIDDM).

Bu tip, DM'un en sık rastlanan tipi olup, diabet tanısı konmuş vakaların %80-90'ını oluşturur. IDDM'tan farklı olarak, NIDDM'ta semptomlar daha sinsi başlar ve yakın dönemde yaşamın idamesi için insüline bağımlılık göstermezler. Uzun süreli asemptomatik periodu dolayısı ile, hastalığın önemli bir bölümü geç teşhis edilir. Asemptomatik periodu takiben, NIDDM klasik diabet semptomatolojisi (polidipsi, poliüri, polifaji, pruritis, kilo kaybı) ile başlar. Ancak uzun asemptomatik period süresince gelişen komplikasyonlar (retinopati, nefropati, nöropati, aterosklerotik kalp hastalığı vs.) da hastalığın başlangıcı ile beraber gözlenebilir. Bazı hastalarda tesadüfen bulunan bir glukozüri veya hiperglisemi, NIDDM'u işaret eder. Genelde orta yaşlarda veya daha sonra başlar. Bazal durumda ketozis gelişmeye eğilimli olmayıp, şiddetli metabolik stres altında ketozis gelişebilir. NIDDM'lu hastaların %3'ünde IDDM tablosundaki gibi komplet insülin yetmezliği gelişebilir. İnsüline bağımlı olmama terimi, NIDDM'lu hastaların ketoasidoz gelişmeyeceği ve kısa dönemdeki sürede insüline bağımlı olmayacağı gerçeğine dayandırılır, fakat bazı hastalar glisemik kontrol için insülin alabilirler. NIDDM'lu hastalar yaşlı olmaya meyilli olsalarda, klinik olarak herhangi bir yaşta ortaya çıkabilir ve bu tipte de yaş bir kriter olarak kullanılmamaktadır (11, 25,26).

A.3.Diabetin komplikasyonları

İnsülinin keşfi ve tedavide kullanılmasıyla akut metabolik komplikasyonlardan dolayı ölüm çok azalmıştır. Yaşam süresinin uzamasıyla diabetin dejeneratif komplikasyonları birinci derecede önemli konuma gelmiştir. Retinopati, nefropati ve nöropati diabetin mikrovasküler komplikasyonları olarak tanımlanırken, hızlanmış ateroskleroz, serebrovasküler olaylar, miyokard enfarktüsü, periferik damar hastalıkları makrovasküler komplikasyonları olarak bilinir (7,27).

Diabette kronik dönemde oluşan değişiklikler, vasküler sistem, sinirler, deri, göz, böbrek olmak üzere birçok sistemi etkiler. Diabetin vasküler komplikasyonları, klasik olarak mikrovasküler ve makrovasküler olarak başlıca iki grupta incelenir (7).

Mikrovasküler komplikasyonları: En küçük damarları, kapillerleri, prekapiller arteriollerini etkiler. Kapiller basal membran kalınlaşması ile karakterizedir. Retinada diabetik retinopati, böbrekte diabetik nefropatiye yol açarlar (7).

Makrovasküler komplikasyonları: Diabette büyük damarların etkilenmesi, temel olarak aterosklerozu hızlandırır. Diabetiklerde, miyokard infarktüsü, inme, periferik gangrenler artmıştır. Aterosklerozun hızlanmasında etkisi olduğu düşünülen faktörler arasında, damar duvarındaki yapısal değişiklikler, trombositlerde, pıhtılaşma faktörlerinde, eritrositlerde ve lipid metabolizmasında diabetin yol açtığı değişikliklerin rol oynayabileceği düşünülmektedir (7).

A.4. Diabet ve göz

Diabet, sklera dışında gözün tüm dokularını etkileyen bir hastalıktır. Diabetin hem ekstraoküler hemde intraoküler bulguları mevcuttur (28-31) (Tablo-2).

Tablo-2. Diabetin oküler bulguları

Doku	Bulgu
Eksraoküler	
	Kapaklar Ksantelazma Konjonktiva mikrosirkülatuar değişiklikler
	Ekstraokuler kaslar III. ve VI. sinir paralizileri Orbita Mantar enfeksiyonları
İntraoküler	
	Kornea Desme tabakası kırışıklıkları, Endotel polimegatizmi İris Ektropion uvea Rubeozis iridis Pigment epitel vakualizasyonu
	Lens Refraktif değişiklikler Katarakt Silier cisim Bazal membran kalınlaşması
	Vitreus Asteroid hiyalozis Retina Retinopati Lipemia retinalis Optik sinir Optik atrofi, İskemik optik nöropati, Diabetik papillopati

A.4.1. Diabetik retinopatinin sınıflaması

Klasik bilgilere göre diabetik retinopati (DR) dört evrede incelenebilir (Tablo 3) (3).

Tablo -3 Diabetik retinopatinin sınıflandırılması

1. Background diabetik retinopati (başlangıç evresi)
2. Proliferatif diabetik retinopati (retinal neovaskülarizasyondan hemen önceki devre)
3. Proliferatif diabetik retinopati (retinal neovaskülarizasyon)
4. İleri diabetik göz hastalığı (son dönem bulguları; neovasküler glokom, rubeozis iridis, vitreus kanamaları, epiretinal membran ve traksiyonel retina dekolmanı)

A.4.2. Diabetik Retinopati Gelişmesindeki Risk Faktörleri

a- Diabetin süresi:

Diabetik retinopatinin en iyi belirleyicisi diabetin süresidir. 5 yıl veya daha az süreli IDDM'lu hastalarda diabetik retinopati tespit edilememiştir. Buna rağmen, hastalıklarının süresi 5-10 yıl arasında olan IDDM'lu hastalardan %27'si ve 10 yıldan daha uzun süreyle diabetik olanların %71'inde diabetik retinopati bulguları saptanmıştır. 30 yıldan sonra ise, insidans %90-95'lere ulaşmakta ve yaklaşık %30'unda proliferatif diabetik retinopati gelişmektedir (2).

NIDDM başlamasından 11-13 yıl sonra background retinopati insidansı %23 olarak, 16 yıl ve daha sonrası için ise insidans %60 olarak belirlenmiştir. Proliferatif diabetik retinopati ise diabetin başlamasından 11 yıl ve sonrasında, vakaların yaklaşık %3'ünde gelişmektedir (2).

Wisconsin Epidemiologic Study grubunun, diabetik retinopatinin 10 yıllık insidansını ve progresyonunu belirlemek için yaptığı bir çalışmada; insulin alan ve 30 yaşından önce diabet tanısı konmuş, insulin alan ve 30 yaş ve sonrasında tanı konmuş, insulin almayan ve 30 yaş ve sonrasında diabet tanısı konmuş 3 grubu 4. ve 10. yıllarda diabetik retinopati insidansı ve retinopatinin progresyonu yönünden incelemişlerdir. 10. yılda diabetik retinopati insidansı, sırasıyla %89, %79, ve %67 olarak tespit edilmiştir. Retinopatinin progresyonu ise, yine sırayla %76, %69, ve %53 olarak belirlenmiştir. Proliferatif retinopatiye progresyon ise, yine sırasıyla %30, %24, ve %10 olarak belirlenmiş. Diabetik retinopatinin şiddeti ve progresyon riski, daha erken yaşta başlayan diabette, daha uzun süreli diabette, glikolize hemoglobin değerleri daha yüksek bireylerde, proteinürisi olanlarda, yüksek diastolik kan basıncı olanlarda, insüline bağımlı DM'da ve erkeklerde artmıştır (32).

b- Hastanın yaşı

DM'un süresi retinopatinin en önemli belirleyicisidir, ancak hastanın puberte başlamadan önce geçirdiği diabetik süre bu süreye eklenmemektedir (2). Tip I diabetli hastalarda puberteden önce kan-retina bariyerinin sağlam olduğu ve retinopati bulgusu izlenmediği bildirilmektedir. Puberteden 4 yıl sonra ise retinopati insidansı %4 olarak belirlenmiştir (33).

c- Kan şekeri kontrolü

Kan şekerinin sıkı kontrolünün, mikrovasküler komplikasyonları engellediği veya en azından geciktirdiğine dair önemli oranda klinik ve deneysel çalışma vardır (2).

Kan glukoz konsantrasyonu yüksek olduğunda, glukoz proteinlerin amino gruplarına bağlanır ve bu olaya glikolizasyon denir. Hemoglobin de uzun süre yüksek konsantrasyonda glukozla maruz kaldığında glikolize olur ve bu hemoglobine glikozile hemoglobin (HgA_{1c}) denir. Glikolize hemoglobin değerlerine bakılarak glisemik kontrol hakkında fikir edinilebilir. yaklaşık 3 aylık bir metabolik kontrolü yansıtır. Normal HgA_{1c} düzeyi %5'tir. 30 yaşından önce tanı konan ve HgA_{1c} düzeyleri %13.5'den yüksek olan bireylerde proliferatif retinopati gelişme riski HgA_{1c} düzeyi daha düşük olanlara göre daha yüksek olarak verilmektedir.(2).

Ayrıca uzun dönemde HgA_{1c} değeri %7'nin altında olanlarda ciddi retinopati gelişmesi ve fotokoagülasyona duyulan ihtiyacın anlamlı şekilde düşük olduğu bildirilmektedir. Retinopatinin geciktirilmesinde normogliseminin gerekli olduğu belirtilmektedir (34).

Diabetik retinopatinin başlaması ve progresyonunda glikolize hemoglobin değerlerinin yüksek olması risk faktörüdür. Progresyonu hızlandırdığı gibi, regresyon şansını da azaltır (35).

The Diabetes Control And Complications Trial Research Group (DCCT), 10 yıllık çalışmasında yoğun insülin tedavisi ile;

-retinopati gelişme riski, klasik tedaviye göre %76 azalmakta, retinopatinin progresyonu ise %54 azalmaktadır

-proliferatif veya şiddetli nonproliferatif retinopati gelişme sıklığı %47 azaltmaktadır

Bunun yanında mikroalbuminüri oluşumunu %39, albuminüri oluşumunu %54 azaltmaktadır. Aynı zamanda klinik nöropati gelişme insidansı da %60 azalmaktadır.

Sıkı insülin tedavisinin başlıca önemli yan etkisi 2-3 kat artmış olan hipoglisemidir (36).

DCCT'in başka bir çalışmasında, diabetik retinopatinin progresyonunun sıkı insülin tedavisi alan grupta, klasik tedaviye göre 5 kat daha az olduğu saptanmıştır. Ancak 6-12 aylık erken periyotta retinopatide hafifçe kötüleşme izlenmesine rağmen, zamanla bu etki düzelmiştir. Progresyon olduğu zaman ise, yine sıkı insülin tedavisi ile bulguların düzelmesi en az iki kat daha fazla bulunmuştur (37).

Başka bir çalışmada, NIDDM'lu hasta gurubu rastgele, konvansiyonel insülin tedavisi ve multipl insülin enjeksiyonu alacak şekilde iki guruba ayrılmıştır. Altı yılın sonunda yoğun insülin tedavisi alan gurupta, diabetik retinopati, nefropati ve nöropatinin hem gelişmesi hemde progresyonunda azalma izlenmiştir. Bu çalışmada, DCCT'in çalışmasından farklı olarak hipoglisemi komplikasyonu önemli bir problem oluşturmamıştır (38).

NIDDM'da ve IDDM'un her ikisinde de mikrovasküler komplikasyonların gelişim mekanizması benzer olup, hiperglisemi her ikisinde de temel rol oynamaktadır (37).

Tüm bu yapılan çalışmaların ışığında ve DCCT'in çalışmasından sonra, hipergliseminin diabetik retinopatinin gelişiminde ve progresyonunda önemli bir rol oynadığı söylenebilir (13).

A.4.3. Sistemik risk faktörleri

a-Renal hastalıklar: Proteinüri, artmış kan üresi (BUN) ve artmış kreatinin ile karakterize olup, retinopati ile paralellik gösterir. Mikroalbuminüri hastada bile kısa sürede retinopati gelişme riski yüksektir. Benzer şekilde, semptomatik retinopatili hastaların %35'inde, proteinüri,

artmış BUN, ve artmış kreatinin tespit edilir. Mikroalbuminüri ve albuminüri olanlarda proliferatif diabetik retinopati insidansı artmıştır (2).

b-Sistemik hipertansiyon; Sistemik hipertansiyon ile retinopati arasında anlamlı bir korelasyon vardır. Sistolik kan basıncında artma diabetik retinopatinin insidansını artırmaktadır. Diastolik kan basıncının artması ise retinopatinin progresyonunda belirleyici bir faktördür (39).

c-Gebelik; Retinopatisi olmayan bir kadın hamile kaldıktan sonra, background diabetik retinopati (BDR) gelişme riski yaklaşık %10 'dur. Öte yandan, BDR'si olan bir gebe kadında ise progresyon gösterir. BDR'li gebe kadınların yaklaşık %4'ünde proliferatif retinopatiye (PDR) gidiş izlenir. BDR'li hastalar, PDR gelişimi yönünden en az her trimestirde kontrol edilmelidirler. PDR'li hastalar gebe kaldıklarında, proliferasyonun hızlı ilerlemesinden dolayı görme kaybı riski yüksektir. PDR'li gebeler aylık olarak takip edilmelidirler. Bu tür vakalarda yoğun panretinal fotokoagulasyon, sıklıkla retinal neovaskülarizasyonun regresyonuna etkili olur. Gebelikten önce PDR için panretinal fotokoagulasyonun yapılması en iyi yaklaşım olup, şayet gebelikten önce PDR'de regresyon sağlanırsa gebelikte PDR'de progresyon olmayacaktır (2,39).

d- Diğer faktörler; Retinopatiyi kötüleştirebilecek diğer olası sistemik risk faktörleri, anemi ve sigara kullanmaktır (39).

A.4.4. Oküler Faktörler

a-Posterior vitreus dekolmanı; Posterior hyaloidin durumu retina neovaskülarizasyonun gelişiminde önemli bir oküler belirleyicidir. Parsiyel arka vitreus dekolmanı sıklıkla proliferatif diabetik retinopatinin progresyonuna katkıda bulunur. Komplet arka vitreus dekolmanı ise, proliferatif diabetik retinopati gelişiminde koruyucu bir faktördür. Çünkü arka hyaloid, retinal neovaskülarizasyonların gelişiminde bir iskelet gibi destek görevi yaparak, olayın gelişmesine katkıda bulunur. Sağlam arka hyaloidde, maküler ödem riski artmaktadır (39).

b-Katarakt cerrahisi; Katarakt cerrahisi hem diabetik maküler ödemi hem de proliferatif hastalığı alevlendirir. Arka kapsül desteğinin bozulması, iris neovaskülarizasyonunu ve neovasküler glokom gelişimini hızlandırmaktadır. Preoperatif olarak yoğun şekilde laser uygulanması ile maküler ödem ve proliferatif hastalık kontrol edilirse görme kaybı ve retinopatinin kötüleşme olasılığı azalır (39,40).

c-Diğer koruyucu faktörler; Retinopatiyi kötüleştiren veya riskini artıran diğer oküler faktörler, düşük intraoküler basınç ve artmış oküler perfüzyon basıncıdır. Myopi, retinal neovaskülarizasyon gelişiminde koruyucu bir faktör olarak kabul edilir (35,39-41).

A.4.5. Diabetik retinopati gelişmesinde rol oynayan patolojik mekanizmalar

Diabetik retinopati gelişiminde gerçek mekanizma bilinmemekle birlikte birçok teori ileri sürülmektedir. Diabetik retinopatinin gelişmesinde hiperglisemi önemli bir rol oynamaktadır. Komplikasyonların gelişmesinde birçok biyokimyasal yol (glukoz otooksidasyonu, poliol yolu, prostanoid sentezi, protein glikozilasyonu) hiperglisemi ile yakından ilişkilidir. Tüm bunlar serbest radikal oluşumunu artıran olaylardır. Diabette, hiperglisemi ve artmış oksidatif stres ile diabetik retinopati gelişmesi arasındaki olası mekanizmalar şekilde görülmektedir (şekil-1) (8,13,42-44).

Diabetik retinopati, bir mikroanjiyopati olup, retinal prekapiller arterioller, kapillerler ve venülleri etkiler. Büyük damarları da tutabilir. Retinopatide hem mikrovasküler oklüzyon hemde sızıntı vardır. Kronik hiperglisemi zemininde kapiller kapanma ve vasküler geçirgenlik artışı sorumlu tutulmaktadır (8,13,30).

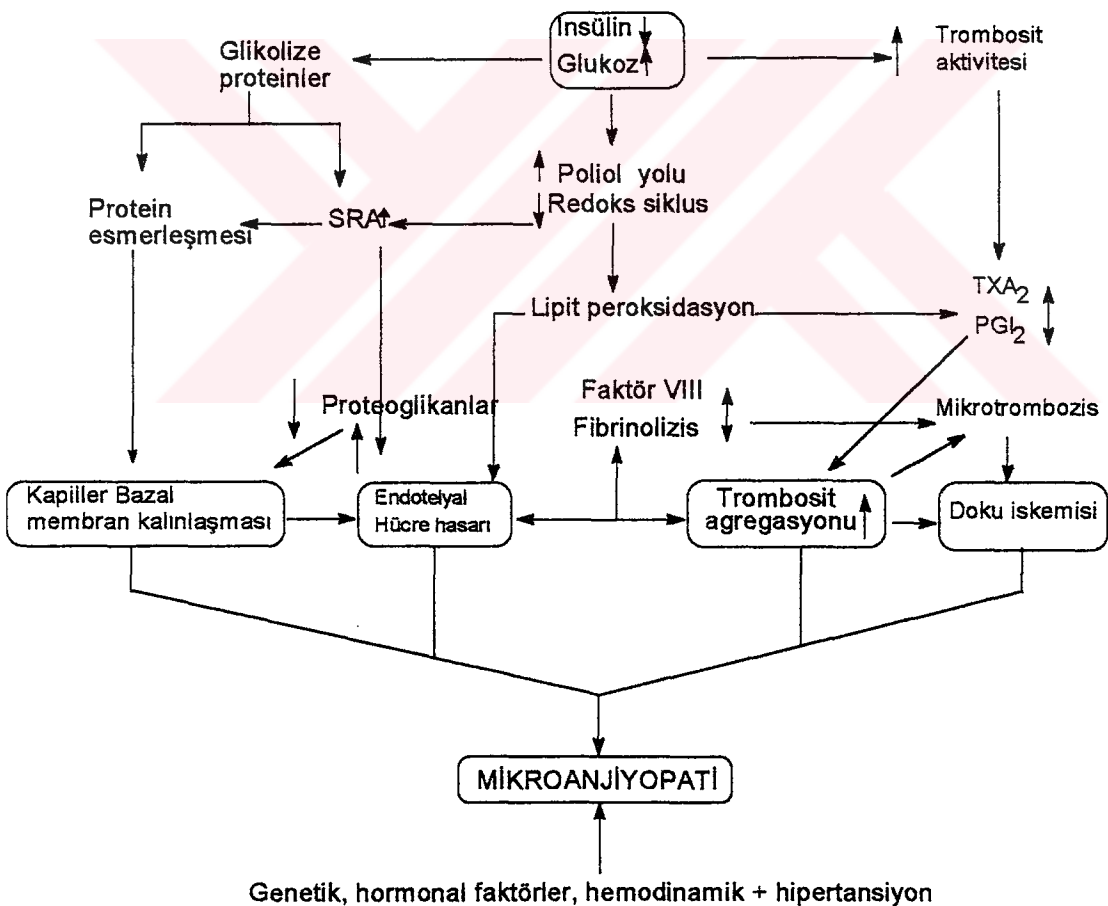
a-Kapiller kapanma: Basal membran kalınlaşması, kapiller endotelial hücre hasarı ve proliferasyonu, kırmızı kan hücrelerindeki değişiklikler ve sonuçta oksijen transportunda bozulma ve artmış trombosit agregasyon ve yapışkanlığının kapiller kapanma da etkili olduğu düşünülen faktörlerdir.

Bunlar retinal kapiller non-perfüzyon ve retinal iskemiyeye neden olarak sonunda retinal hipoksiye yol açarlar (30).

Retinal hipoksinin başlıca iki etkisi;

1- Arteriovenöz şantlar: Önemli oranda kapiller kapanma ile (drop-out) birlikte olup, sonuçta venül ve arteriollerde de kapanma gelişir. Bunların intraretinal yeni damarları temsil edip etmediği açık değildir. İntraretinal mikrovasküler anomaliler (İRMA) olarak adlandırılır (30).

2-Neovaskülarizasyon: Retinadaki hipoksik alanlardan salınan 'vasoformatif maddelerin' neovaskülarizasyona neden olduğu inanılmakta ve retina, optik sinir başı ve irisde neovaskülarizasyon oluşturduğu düşünülmektedir (30).



Şekil-1. Mikroanjyopati gelişmesindeki biyokimyasal süreçler. SRA; serbest radikal aktivitesi.

Hiperglisemi sonucu trombosit ve eritrositlerde agregasyon ve hücre rijiditesi artışı, eritrositlerde 2,3 difosfogliseratın azalmasına bağlı daha az oksijen salınımı ve retina kapiller duvar kalınlaşması meydana gelmektedir. Ayrıca hiperglisemi ile artan büyüme hormonu alfa 2 globulin, haptoglobulin, C-reaktif protein ve fibrinojen yükselmesine sebep olmakta ve bu yolla daha visköz hale gelen plazma, retina kan akımının azalmasına ve hipoksiye katkıda bulunmaktadır (8,10,45).

b-Vasküler geçirgenlik;

Retina kapillerleri; endotel hücreleri ve perisit (mural hücre) içermektedir. Endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar iç kan-retina bariyerini oluşturmaktadır. Perisitler kapillerlerin etrafını sarmış olup, damar duvarının yapısal bütünlüğünden sorumludurlar. Normal sağlıklı bireylerde, her perisite karşılık bir endotel hücresi bulunmaktadır. Perisitler direkt temas ve saldıkları büyüme faktörü (Transforming growth faktör β) ile en önemli vasküler endotel proliferasyon inhibitörüdürler. Perisit kaybı veya kalınlaşmış bazal membrana bağlı temas azalması ile diabetik retinopatinin en önemli vasküler değişikliklerinden mikroanevrizmalar ve proliferasyonlar ortaya çıkmaktadır. Diabetiklerde, perisit sayısında bir azalma mevcuttur. Perisitlerdeki bu azalma, kapiller duvarda distansiyona, iç kan-retina bariyerinin bozulmasına, plazma içeriğinin retinaya sızmasına yol açar. Mikroanevrizmalar sakküler boşluklar olup, lokal kapiller distansiyon sonucu oluşurlar. Bunlar sızıntıya neden oldukları gibi tromboze de olmaktadır. Vasküler permeabilitenin artması sonucu ise hemoraji ve retinal ödem oluşur (10, 30, 45).

Son yıllarda, hiperglisemide devreye giren sorbitol yolu, aldoz redüktaz enzimi ve metabolik sonuçları yakından incelenmeye başlanmıştır. Artan sorbitol, hücrelerde osmotik etki yanında, hücre membran sentezinde rolü olan myoinositolü azaltmakta, ayrıca hücre membranında yer alan protein

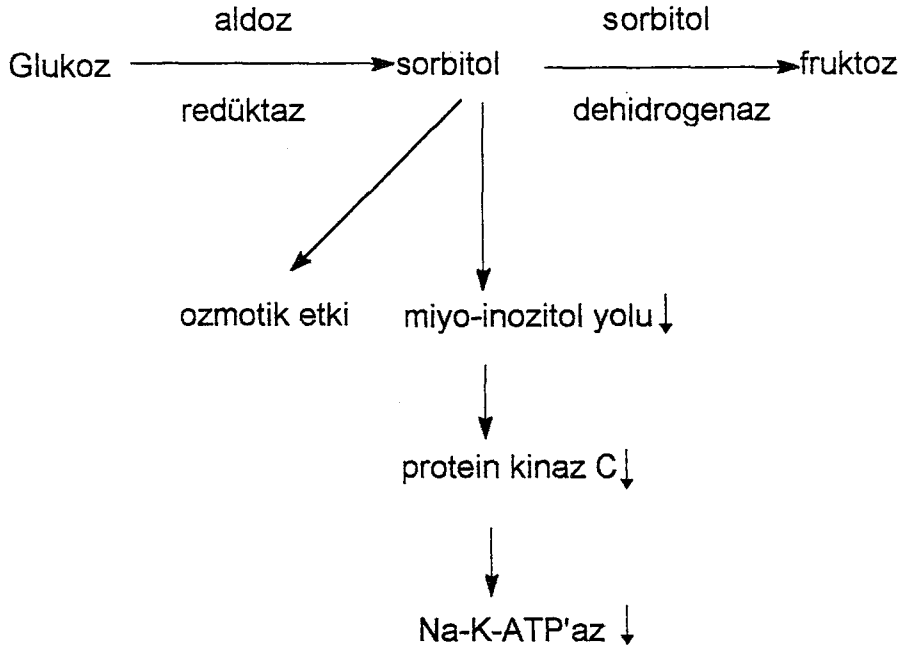
kinaz C ve Na-K-ATP'az gibi önemli enzimlerin aktivitelerini azaltmakta, bu ise retinada özellikle hassas olan perisitlerin kaybına yol açmaktadır (10,45).

Aldoz redüktaz enzimi, şekerleri alkollerine çevirir. Örneğin, glukozu sorbitole, daha sonra sorbitolü polyol dehidrogenase ile fruktoza çevirir. Galaktozu ise dulsitole çevirir. Sorbitol, dulsitol ve fruktoz kolayca hücre dışına diffüze olamaz ve intraselüler konsantrasyonları artar. Sonuçta osmotik etkiyle hücre içine su diffüze olur ve elektrolit dengesi bozulur. Aldoz redüktaz retinal perisitlerde yüksek konsantrasyonda bulunur ve bazı araştırmacılar diabetik retinopatinin aldoz redüktaz'ın aracılık ettiği mekanizma ile oluştuğunu ileri sürmektedirler. Bu teoriyi destekleyen güçlü bir kanıt, aldoz redüktaz inhibitörlerinin küçük moleküllerin permeabilitesini, kapiller basal membran kalınlığını ve perisit kaybını azalttığı gösterilmiştir (2).

Hayvan çalışmalarında aldoz redüktaz inhibitörlerinin (örneğin sorbinil) mikroanjiopatiyi engellediği gösterilmesine rağmen, insan çalışmalarında bu etkisi saptanamamıştır. Poliöl yolunun daha çok kullanılması NADPH'nin de kullanımına, sonuç olarak serbest radikal giderici antioksidanları redükte hale getiren NADPH'nin azalmasına yol açacaktır. Sorbitol yolundaki artış ve metabolik sonuçları şekilde görülmektedir (şekil-2) (10,45).

Protein kinaz; hiperglisemide kültür endotel hücrelerinde selüler protein kinaz C aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Protein kinaz C, hormonlar, büyüme faktörleri ve nörotransmitterlere sinyal transdüksiyonunda rol alır. Büyüme hızını, DNA sentezini, hormon reseptör turnoverını, vasküler düz kas hücre kontraksiyonunu modifiye edebilir. Hiperglisemiyle ilişkili olarak mikroanjiopati gelişmesinde rolü olabilir, fakat bu rolün açıklığa kavuşturulmasına ihtiyaç vardır (8).

Kapiller bazal membran (BM) kalınlaşması, DR'nin en önemli patolojik bulgularındandır. BM'da yer alan heparan sülfat pek çok protein yanında retinanın çeşitli hücrelerinden salınan ve endotel proliferasyonunu indükleyen bazik fibroblast büyüme faktörünü (bFGF) de bağlamaktadır. DR'de kalınlaşan BM'da heparan sülfat miktarının azaldığı ve bu yolla bFGF'ün etkisinin arttığı bildirilmektedir (8).



Şekil 2. Sorbitol yolu

DR gelişiminde diğer önemli bir faktör hücre içi ve dışı kritik proteinlerin enzimatik olmayan glikozilasyonudur. Glukoz proteinlerde yer alan lizinin epsilon amino grubuna bağlanmakta ve amadori etkisiyle proteinler çapraz bağlar yaparak ileri glikozilasyon ürünleri olan AGE (advanced glycation end products) proteinlerini oluşturmaktadır. Eğer bu proteinler enzimatik yada diğer önemli bir biyolojik göreve sahiplerse, glikozilasyon ve çapraz bağlanma bu aktiviteyi değiştirecektir, ancak proteinler ekstraselüler matriksin önemli komponentleri iseler bu kez matriksin yapısı büyük oranda değişecektir (8,10,43-45).

AGE reseptörleri başlıca makrofajlarda ve endotel hücrelerinde bulunmaktadır. AGE'nin reseptörlerine bağlanması, çeşitli sitokinler, vasküler adezyon molekülleri, endotelin-I ve doku faktörlerinin salınması veya sentezini uyarırlar. Endotelin-I ve doku faktörleri koagülasyonun başlamasında önemli bir yere sahiptirler. AGE aynı zamanda endotelial kökenli nitrik oksidi tahrip eder. Deneysel olarak, AGE formasyonu, halen

klirik çalışmalarda kullanılan bir ajan olan aminoguanid ile önlenebilmektedir. Hayvanlarda, retinopati, nefropati ve nöropatinin önlenmesinde etkili olduğu bildirilmektedir (11).

Diabette serbest radikal aktivitesi artışı lipit peroksidasyon incelemelerine dayanılarak ileri sürülmektedir. Diabetlilerde lipit peroksidasyonun arttığı ve özellikle mikroanjiopati ile ilişkili olduğu bildirilmektedir. Hem serbest radikaller hem de onların lipit hidroperoksit ürünleri vasküler endotel hücrelerine direkt olarak sitotoksik olabilir. Lipit hidroperoksitler siklooksijenaz ve prostoglandin sentezini uyarırken aynı zamanda prostosiklin sentezini inhibe derler (5).

Endotelial hücreler ve hemostaz ile ilgili anomaliler: Endotel hücrelerince üretilen faktör VIII erken diabetik retinopatili hastalarda artmıştır. Bu durum mikrotrombus oluşumunu kolaylaştırır. Yine endotel hücrelerince üretilen prostosiklin güçlü bir vazodilatator olup, vasküler duvara trombosit adezyon ve agregasyonunu antagonize eder. Çalışmalarda, hayvan modelinde vasküler duvardan ve diabetli hastaların sirkülasyonundan prostosiklinin azaldığı tespit edilmiştir. Plazminojen aktivatörü, plazminojeni plazmine çevirerek fibrinolizisi aktive eder. Plazminojen aktivatörleri diabetlilerde düşük olarak bildirilmiş (8).

Yukardaki anomaliler, diabetlilerde trombosit fonksiyonlarının bozulduğunu yansıtır. Trombaksan A2 salınımı, vasküler komplikasyonu olan hastaların trombositlerinde artmıştır. Bu ajan potent bir vazokonstrüktör olup, trombosit agregasyonuna neden olur. Trombositler, serotonin ve platelet derived growth factor (PDGF) gibi mikrosirklasyondaki güçlü mediatörlerinin de taşıyıcısıdırlar (8).

Endotelden üretilen prostosiklin üretiminde azalma, fibrinolizis aktivatörlerinin azalması, trombositreaktivitesinde artma ve faktör VIII retiminde artma, ve sonuçta tüm bunların kombinasyonu trombüs eğilimini artıran faktörlerdir. Bu mikrotrombus oluşumuna, küçük damarların oklüzyonuna ve küçük damarlarda kan akımındaki anomalilere katkıda bulunur (8).

B.Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir veya daha çok sayıda eşleşmemiş elektron içeren moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler. Ortaklanmamış elektron, genel olarak üst kısma yazılan bir nokta ile gösterilir. Eşleşmemiş iki elektronu nedeniyle kararsız yapıda olan moleküller, oksijenin redüklenmesi sonucu, süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidrosil radikali ($OH\cdot$) ve singlet oksijen (1O_2) gibi serbest oksijen radikallerini oluşturmaktadır (46-48).

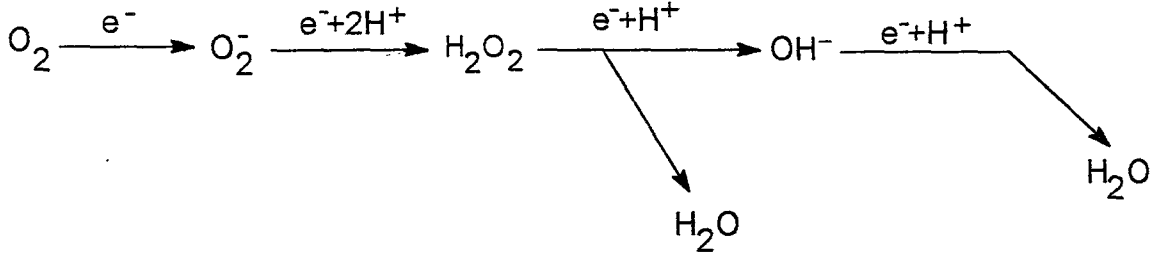
Oksijenle yaşayan tüm canlılarda, normal metabolik işlemler sırasında serbest oksijen radikalleri kaçınılmaz bir şekilde üretilmektedir. Bu nedenle normal metabolizma sırasında oksido-redüksiyon reaksiyonlarının ürünleri olan serbest oksijen radikallerinin oluşması biyolojik bir bozukluk olarak değerlendirilmemelidir. Serbest radikaller diğer moleküllerle birleşerek dış yörüngelerindeki elektron sayısını çiftleştirmeye ve böylece kararlı bileşiklere dönüşmeye çalışırlar. Ancak hiperoksi, inflamasyon, iskemi, radyasyon, antibiyotik tedavisi gibi bazı hücre metabolizmasını etkileyen durumlarda büyük oranda üretilen serbest oksijen radikalleri, membranlar, enzimler, nükleik asitler ve polisakkaritler üzerinde toksik etkiler yaparak çeşitli doku hasarlarına neden olmaktadır (49,50).

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu meydana gelirler. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler. Organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} ve Mo^{5+} gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Ancak, bu iyonlar reaksiyonları katalize ettiklerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar (48,50).

B.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü olan maddeler, oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin

iyonları ve hidroksil radikalidir. Bunlardan ilk dördünün çeşitli reaksiyonları ile sonuncusu meydana gelir (şekil-4) (46,48).

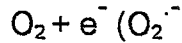


Şekil 3. Oksijen molekülünün suya indirgenmesi esnasında serbest radikallerin oluşması

Oksijenin elektronlarının iki tanesi eşleşmemiştir. Bu yüzden oksijen bazen bir 'diradikal' olarak da değerlendirilir. Oksijenin bu özelliği onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girer. Oksijen en son suya indirgenir. Bu arada, kısmi redüksiyonla çok sayıda yüksek derecede reaktif ürünler de oluşabilirler (48).

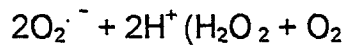
B.1.1 Süperoksit radikali

Hemen tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, serbest süperoksit radikal anyonu (O_2^-) meydana gelir.



Süperoksit, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak asıl zarardan sorumlu değildir. Asıl önemi, hidrojen peroksit kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır.

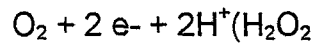
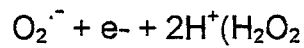
İki süperoksit radikali birbiri ile etkileşerek biri oksitlenirken diğeri ise indirgenir ve böylece H_2O_2 ve O_2 meydana gelir.



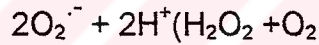
Süperoksit radikallerinin ortamdan temizlendiği bu tepkimeye dismutasyon tepkimesi denir. Bu spontan olabileceği gibi, süperoksit dismutaz enzim vasıtasıyla katalize edilebilir (48,51,52).

B.1.2 Hidrojen peroksit

Moleküller oksijenin çevresindeki moleküllerden 2 elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu peroksit oluşur. Peroksit molekülü 2 hidrojen molekülü ile birleşerek hidrojen peroksit (H_2O_2) meydana getirir. H_2O_2 membranlardan kolayca geçebilen, uzun ömürlü bir oksidandır.

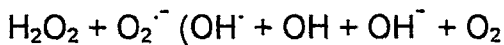


Ancak, biyolojik sistemlerde hidrojen peroksitin asıl üretimi süperoksitin dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonucu radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden bu bir dismutasyon reaksiyonu olarak bilinir.



Bu dismutasyon ya spontandır ya da süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalizlenir.

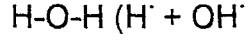
Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar. Çünkü süperoksit ile reaksiyona girerek, en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.



Bu reaksiyona Haber-Weiss reaksiyonu adı verilir. Haber-Weiss reaksiyonu ya katalizör varlığında ya da katalizörsüz cereyan edebilir. (48,50,51).

B.1.3 Hidroksil radikali

Hidroksil radikali (OH[·]), hidrojen peroksidin geçiş metallerrinin varlığında indirgenmesiyle (Fenton reaksiyonu ile) meydana gelir. Suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda da hidroksil radikali oluşur.



Oksijen radikalleri içinde en reaktif olanı, bu nedenle en toksik etkili olanı hidroksil radikalidir. OH[·] radikali üretildiği yerde hemen her molekülle tepkimeye girebilir ve radikal tepkimelerini başlatabilir. Yarılanma ömürleri çok kısadır (48).

B.1.4. Singlet Oksijen

Singlet Oksijen (¹O₂), ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Serbest radikal reaksiyonları sonucu meydana geldiği gibi serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına da sebep olur (48).

B.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikallerin organizmaya yararlı oldukları bazı durumlar da mevcuttur. Bunlar; fagositoz olayında aktive nötrofillerden salınarak bakterilerin etkisiz hale getirilmesi, hücre bütünlüğünün korunması, mitokondriyal oksidasyon, hemoglobinin oksijen taşıması, nonsiklooksijenaz yoluyla prostoglandinlerin oluşumu ve DNA replikasyonu şeklinde özetlenebilir (48).

Birçok fizyolojik reaksiyonda rol oynayan serbest radikaller, aşırı miktarda üretildiğinde veya antioksidan savunma sistemleri yetersiz kaldığında biyomoleküller ve doku componentlerine zarar verirler. Serbest radikaller, hücrenin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Mitokondrideki aerobik solunum ve kapiller

permeabiliteyi bozar, hücrenin potasyum kaybını ve trombosit agregasyonunu artırır (48).

B.2.1. Membran lipidlerine etkileri (Lipid peroksidasyonu)

Lipid peroksidasyonu; membranlarda bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağlarının, serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri olan peroksitler, alkoller, aldehitler, yağ asitleri, etan ve pentan gibi ürünlere yıkılmasıdır. Lipid peroksidasyonu, başlangıç, ilerleme ve bitiş reaksiyonlarını kapsamaktadır.

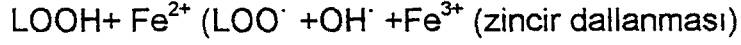
a-Başlaması; Peroksidasyon, serbest radikallerin, poliansatüre yağ asitlerinin yan zincirindeki alfa-metilen gruplarından hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlar. Demir ve bakır gibi eşleşmemiş elektronlara sahip olan geçiş metal iyonlarının varlığı, peroksidasyonun başlaması için gereklidir.

Serbest radikal etkisiyle yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, yağ asidi zincirinin radikal haline dönüşmesine neden olmaktadır. Oluşan bu lipit radikal (L[•]), dayanıksız bir bileşik olup, molekül içi çift bağ aktarılması sonucunda dien konjugatlarına dönüşmektedir. Daha sonra moleküller oksijenin katılması ile lipit peroksit (LOO[•]) radikali oluşmaktadır.

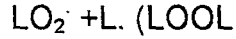


b-Yayılmaması: Bu peroksi radikali, diğer bir peroksi radikaliyle birleşebilir ya da membran proteinleriyle etkileşebilir, fakat en önemlisi, peroksi radikallerinin membrandaki komşu yan zincirlerden hidrojen atomlarını çıkarabilmeleri ve peroksidatif zincir reaksiyonunu yaymalarıdır. Böylece, yan zincirden hidrojen atomunun çıkarılması ile, her defasında lipit hidroperoksitleri (LOOH) ve yeni bir lipit radikali oluşmaktadır. Peroksidasyon, bir kere başladıktan sonra, otokatalitik olarak yayılabilmekte

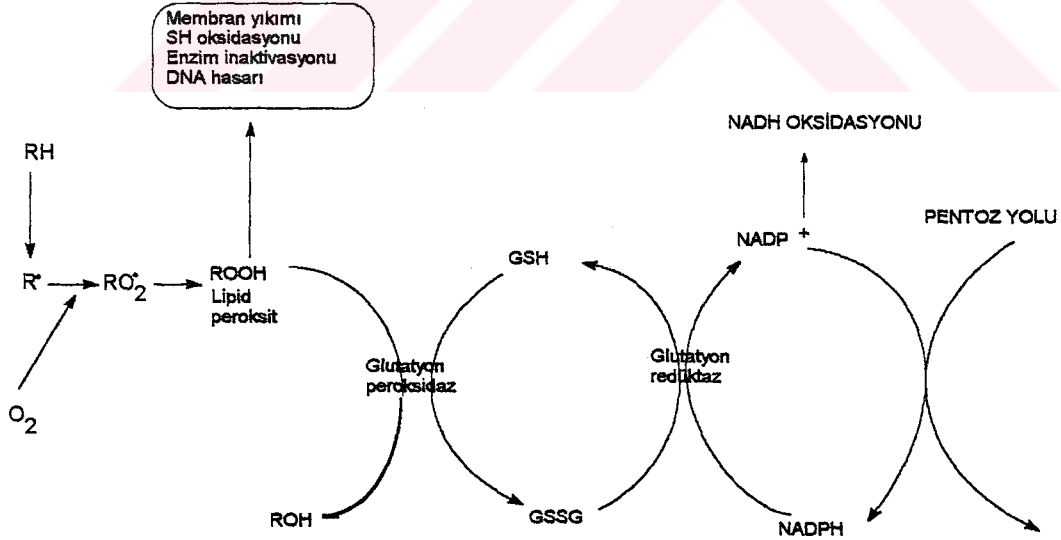
(Kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemesi) ve yüzlerce yağ asit zinciri, lipid hidroperoksitlerine çevrilebilmektedir.



c-Sonlanması: Lipit peroksidasyonu, lipid hidroperoksitlerin etan, pentan gibi hidrokarbon gazları ve ROH, ROOH, RCHO, ve RCOOH gruplarını içeren kısa zincirli yağ asitlerine dönüşmesi ile sona ermektedir (50,53-56)



Lipit peroksidasyonu ya toplayıcı reaksiyonlarla sonlandırılır ya da otokatalitik yayılma reaksiyonlarıyla devam eder. Lipit peroksidlerin detoksifikasyonu şekilde görülmektedir (Şekil-4) (55).



Şekil 4. Lipit peroksidlerin detoksifikasyonu.

Lipitlerden, araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine 'enzimatik lipit peroksidasyonu', diğler radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna ise 'nonenzimatik lipit peroksidasyonu' adı verilir. Lipit peroksitleri ve lipit peroksi radikalleri, serbest oksijen radikalleri gibi, hücrenin birçok komponentiyle reaksiyona girerek, membran permeabilitesini ve mikrovizkositesini etkilemekte, hücrenel ve metabolik fonksiyonlar üzerinde toksik etkiler göstermektedirler (55,56).

Peroksidasyon sonucu oluşan yağ asit hidroperoksidlerinin başka bir toksik etkiside arakidonik asit metabolizmasında görölmektedir. Lipooksijenaz ve siklooksijenaz gibi, mikrozomal ve plazma membranlarıyla ilişkili enzimlerin substratı olan arakidonik asit; prostoglandin, prostosiklin, tromboksan, lokotrien gibi biyolojik olarak aktif ürünlere çevrilmiştir. Prostoglandin ve lokotrienlerin biyosentezinde ara bileşikler olarak ortaya çıkan hidroperoksitler, prostosiklin ve tromboksan sentezinden sorumlu sentez enzimlerini, farklı feed-back mekanizmalarla inhibe etmektedirler. Yüksek lipit peroksit seviyeleri, prostosiklin sentezini güçlü şekilde inhibe edeceğinden arakidonik asit metabolizması tromboksan sentezine doğru yeniden düzenlenecektir. Böylece nötrofil stimölasyonu, süperoksit anyon üretimi ve trombositlerin agregasyonu düzenlenebilmektedir (56-60).

Peroksidasyonda oluşan malondialdehid, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değıştirir. Bu etkiler, malondialdehidin niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar (48).

B.2.2. Proteinlere etkileri

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme dereceleri amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür ihtiva eden moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Özellikle sülfür

radikalleri ve karbon merkezli radikaller meydana gelirler. Bu reaksiyonlar sonucu proteinlerin üç boyutlu yapıları bozular. Proteinlerde kırılmalar, çapraz bağlanmalar ve agregasyonlar oluşabilir. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Nitekim, serum proteinlerinde, kataraktlı lens proteinlerinde ve inflamatuvar eklem hastalığı olan kişilerin sinoviyal sıvılarındaki IgG'lerinde serbest radikal hasarı tespit edilmiştir.

Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olur (48,57).

B.2.3. Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksosite, büyük oranda, nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. Serbest radikal etkisiyle DNA zincirinde kopmalar, bazlarda ve deoksiribozlarda kırılmalar ve hasar oluşur. Sonuçta mutajenez, karsinojenaz, kromozomal değişimler, hücre büyümesi ve farklılaşmasında değişiklikler görülür (48).

B.2.4. Karbonhidratlara etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerine de önemli etkileri vardır. Monosakkaridlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksidler ve okzoaldehidler meydana gelirler.

Okzoaldehidler DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağlar oluşturma özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Böylece, kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar. Poliansatüre yağ asitleri ve karbonhidrat oksidasyonun bir ürünü olan glioksall'in hücre bölünmesini inhibe ettiği kaydedilmiştir (48).

Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkaridi olan hyalüronik asid, sinovyal sıvıda da bol bulunur. Enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovyal sıvıya çok sayıda polimorf hücreler geçerler ve muhtemelen immün

komplekslerle aktivasyonları sonucu ekstraselüler sıvıya H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ salgırlarlar. Bu radikallerin in vitro hyaluronik asidi parçaladıkları gösterilmiştir. Gözün vitreus'unda da bol miktarda hyalüronik asit bulunur. Bunun da oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunur (48).

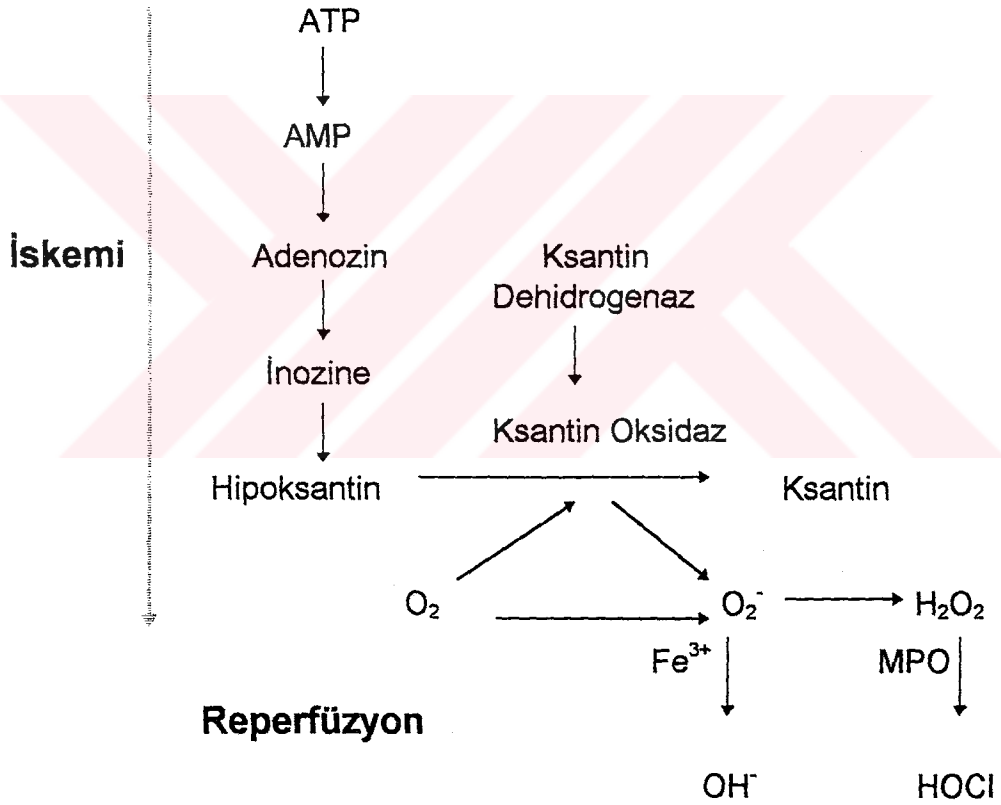
B.2.5. Oksijen serbest radikallerinin patolojik etkileri

Oksijen serbest radikalleri ekstraselüler matrishte hyaluronik asit ve kollajen yapısında değişiklik meydana getirerek dokularda hasara neden olabilirler. Membran yapısında yer alan fosfolipidlerdeki poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu ile doğrudan hücrelere zarar vermektedirler. Ayrıca lizozim ve mitokondrileri çeviren zarları yaralayarak, bunları parçaladığı bilinmektedir. Dokularda, özellikle mitokondrilerde işleyen sitokrom oksidaz sisteminde, intraselüler tetravalent oksijen indirgenmesinden kurtulan az miktardaki oksijen (%1-2) univalent redüksiyona uğrayarak süperoksid radikali, hidrojen peroksid ve hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Her şey düzenli çalışırken düşük düzeyde ortaya çıkan bu toksik maddeler hücrelerde üretilen temizleyici enzimlerle etkisiz kılınmaktadır. Bunların üretilmeleri organizmanın temizleme olanaklarını aştığında dokuda yıkım başlar. En sık karşılaşılan olay endotel hücrelerinde hasar sonucu ortaya çıkan kapiller permeabilite artışıdır (49).

Serbest radikaller, bu etkilerinden dolayı çok çeşitli hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynarlar. Diabet ve diabet komplikasyonlarının gelişmesinde, koroner kalp hastalığı, hipertansiyon, psoriasis, romatoid artrit, Behçet hastalığı, çeşitli deri, kas, göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz olduğu gösterilmiştir. Ancak, bu hastalıkların çoğunda serbest radikallerin hastalığın sebebi mi yoksa bir sonucu mu olarak meydana geldikleri tam olarak bilinmemektedir (48,49).

B.3. İskemi /Reperfüzyon

İskemi sırasında yüksek enerjili fosfat içeren ATP'nin (Adenozin trifosfat:ATP) yıkımı sonucu hipoksantin ve ksantin gibi pürin metabolitleri birikirken, bir ön enzim olan ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza çevrilir. Reperfüzyon sırasında sisteme aniden ve çok miktarda oksijen dahil olur. Sisteme giren O₂ pürinleri çok süratli bir şekilde okside ederek urat ve süperoksit anyonu oluşumuna neden olur. Oluşan süperoksit anyonu endotelde demir ile katalize edilen reaksiyonlar ile toksisitesi yüksek hidroksil radikali üretimine neden olur (şekil-5) (56).



Şekil 5. İskemik dokuda reperfüzyonu takiben süperoksit radikallerinin ortaya çıkması. MPO:Myeloperoksidaz.

B.4. Antioksidan savunma mekanizmaları

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için vücutta bir çok savunma mekanizması gelişmiştir. Bunlar

'antioksidan savunma sistemleri' veya kısaca 'antioksidanlar' olarak bilinir. Memeli hücrelerde oksidan ürünlere karşı korunma üç prensip içinde gerçekleşmektedir.

- 1-Oluşan radikallerin detoksifikasyonu
- 2-Radikal reaksiyonlarının sona erdirilmesi
- 3-Radikal oluşumunun sınırlandırılması

Antioksidanlar endojen (doğal) kaynaklı ve eksojen (ilaç) kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi serbest radikalin meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılabilirler. Hücrenin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (48,61).

B.4.1.Endojen (Doğal) antioksidanlar

I-Enzimler

- Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi
- Süperoksid dismutaz
- Katalaz
- Glutasyon peroksidaz
- Glutasyon-S-transferaz
- Hidroperoksidaz

II-Enzim olmayanlar

a-Lipid fazda bulunanlar

- α -tokoferol (E vitamini)
- β -karoten

b-Sıvı fazda bulunanlar (hücre sitozolünde veya kan plazmasında bulunanlar)

Askorbik asit, melatonin, urat, sistein, seruloplazmin, transferin, laktoferin, myoglobin, hemoglobin, ferritin, metionin, albumin, bilirubin, glutasyon

B.4.2. Eksojen antioksidanlar (ilaçlar)

- Ksantin oksidaz inhibitörleri:

Tungsten, allopürinol, oksipürinol, folik asit, pterin aldehid

-NADPH Oksidaz inhibitörleri:

Adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar, difenilin iyodinyum

-Rekombinant Süperoksid dismutaz

- Troluks-C: E vitamini analogu
- Endojen antioksidan aktiviteyi artıran maddeler: Glutasyon peroksidaz aktivitesini artırırlar; ebselen, asetilsistein
- Diğer nonenzimatik serbest radikal toplayıcıları: Mannitol, albumin
- Demir redoks döngüsünün inhibitörleri: Desferoksamin, serüloplazmin
- Nötrofil adezyon inhibitörleri
- Sitokinler: TNF(tümör nekrozis faktör) ve interlökin-l
- Barbitüratlar
- Demir şelatörleri

B.5.Antioksidanların Etki Mekanizmaları

Antioksidanlar 4 yol ile etkilerini gerçekleştirirler:

- 1-Toplayıcı etki (Scavenging)
- 2-Bastırıcı etki (Quencher)
- 3-Onarıcı etki (Repairing)
- 4-Zincir kırıcı etki (Chain breaking)

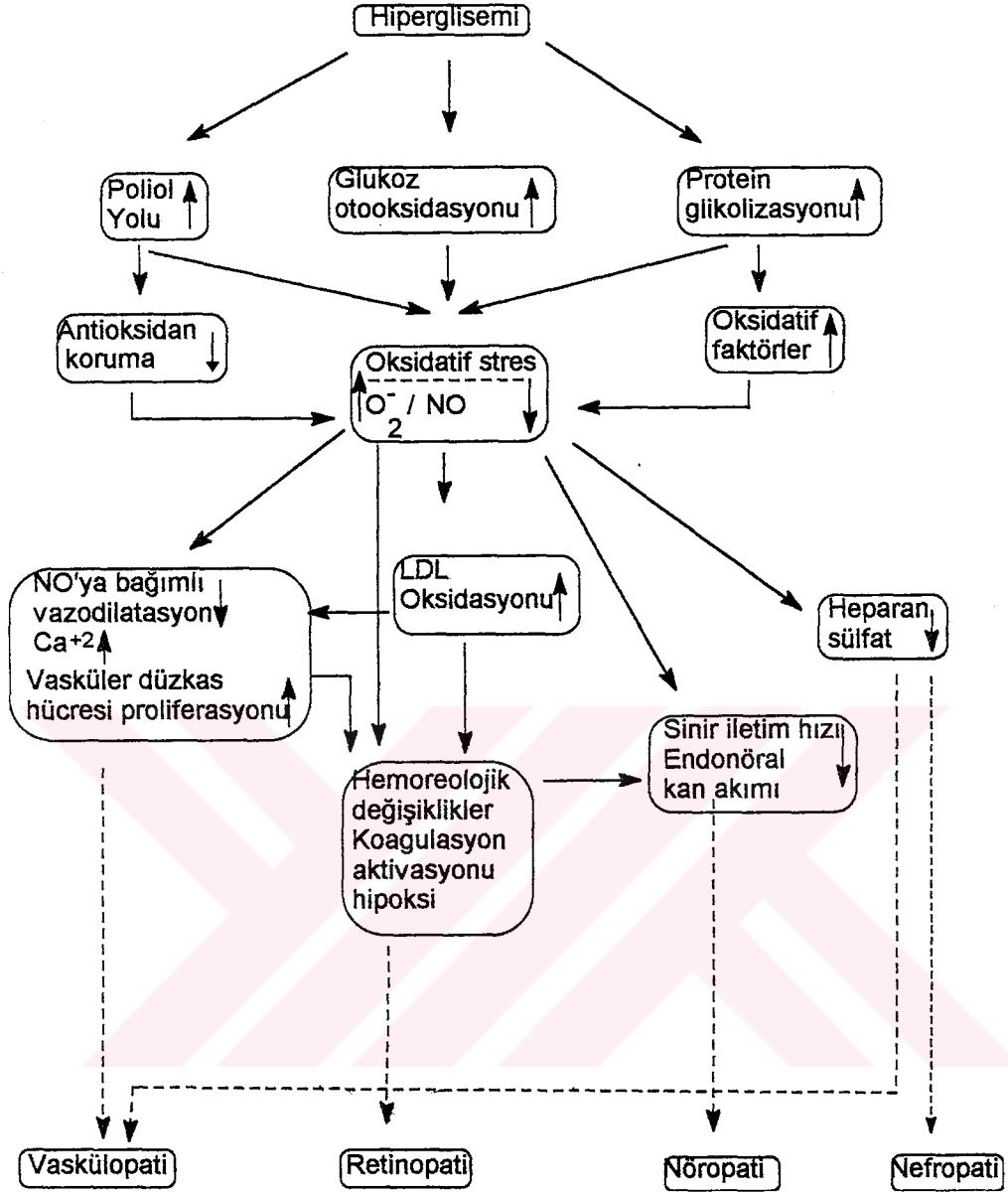
Serbest radikalleri etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denmektedir.

Serbest radikallerle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaya bastırıcı etki adı verilir.

Serbest radikalleri kendine bağlayarak (hemoglobin gibi) zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyecek etkiye zincir kırıcı etki denmektedir (48,61,62).

C. Diabet ve Serbest Radikaller

Oksidatif stres, diabet ve diabetin daha sonraki komplikasyonlarının patogeneğinde önemli bir rol oynar. Nonenzimatik glikolizasyon, otooksidatif glikolizasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yolu aktivitesi, inflamatuvar mediyatörlerin düzeyleri ile antioksidan savunma sistemindeki değişiklikler, hipoksi ve iskemik reperfüzyon hasarı sonucu oluşan lokalize doku hasarı, diabette oksidatif stresi artıran mekanizmalardır. Diabette hipergliseminin oluşturduğu oksidatif stres ve diabetik komplikasyonlar arasındaki ilişki şekilde görülmektedir (şekil-6) (6,44).



Şekil-6 Hipergliseminin oluşturduğu oksidatif stres ve diabetik komplikasyonlar arasındaki ilişkiler
(LDL: Düşük dansiteli lipoprotein, NO: Nitrik oksit)

Diabetli kişilerde plazma ve doku lipid peroksidasyon ürünlerinin aynı yaştaki sağlıklı kişilerden daha yüksek olduğu, retinopatili NIDDM'lü hastalarda da lipid peroksidasyon ürünlerinde artış olduğu saptanmıştır (5,6,13).

Diabette plazma geçiş metallerinin (bakır, demir) konsantrasyonları artmaktadır. Geçiş metallerinin diabetin oluşumuyla ilgili olduğu ileri

sürülmüştür. Bunun yanında diabetik bireylerde plazma glutatyon, askorbik asid, ürik asid ve vitamin E gibi birçok antioksidanın düzeyinde azalma olmaktadır (5).

Diabet kontrol ve komplikasyon çalışması (DCCT), kronik hipergliseminin diabetin geç dönemdeki vasküler komplikasyonlarda önemli bir etmen olduğunun belirlenmesinden sonra, bu konu üzerinde uzun dönemde devam eden tartışmalara bir açıklık getirmiştir, fakat hangi mekanizma ile bu komplikasyonların geliştiği hala açık değildir (13,36,37).

Diabette, kötü glisemik kontrolün vasküler hasarda rol oynamasında olası birçok mekanizma ileri sürülmektedir. Hiperglisemi aynı zamanda LDL (düşük dansiteli lipoprotein) oksidasyonunu artırır. Diabetik bireylerin LDL'lerinin nondiabetiklere göre daha fazla glikolizasyon ve oksidasyona eğilimli oldukları gösterilmiştir. Okside LDL'lerin, makrofaj transformasyonu ve düz kas hücrelerinin köpük hücrelerine dönüşmesine yolaçabilir. Hiperglisemi aynı zamanda koagülasyonun tüm aşamalarında olmak üzere, trombin oluşumu ve inhibisyonunda, fibrinolizis, trombosit ve endotel fonksiyonlarında değişikliklere yol açabilir. Trombozisin myokard infarktüsü ve aterogenezisin hızlanmasında katkısı vardır. Son olarak, AGE proteinlerinin mikro-makro vasküler komplikasyonların patogenezinde önemli rolü olduğu gösterilmiştir. Kollajenle birleşik AGE'nin, IDDM'lu hastalarda klinik diabetik mikroanjyopatiden önce tespit edilebileceği saptanmıştır (13).

Karboksimetillenmiş lizin (CML) düzeyi, diabetiklerin deri kollajeninde diabetik olmayanlardan iki kat daha yüksektir ve retinopati ve nefropati varlığı ile pozitif korelasyon gösterir. Kollajende CML ve pentozidin birikimi, hem okside olabilen bir substratın birikimini (diabette ve yaşlanmada amadori ürünün birikmesi gibi) hem de oksidasyonu katalizleyebilir formdaki geçiş metali düzeyindeki artışı gösterir (13,42).

Glukoz alımının insülininden bağımsız olduğu, retina, lens, böbrek ve periferik sinirlerde, artmış glukozu sekonder olarak aldoz redüktaz ve sorbitol dehidrogenaz aktivitelerinin artışından dolayı intraselüler sorbitol ve fruktoz düzeyleri artar. Bu iki enzim, polioli yolunu oluşturur. Polioli yolunda

artmış olan substrat, yalnızca selüler sorbitol ve fruktoz düzeyini artırmaz, aynı zamanda NADPH/NAD⁺ oranını azaltır ve sitozolik NADH/NAD⁺ oranını artırır. Aldoz redüktaz ile hücre depolarında NADPH'in azalması, diğer NADPH gerektiren enzimlerin aktivitelerini de inhibe eder (13).

Glukozun akut artışının, doğal antioksidan savunma mekanizmalarını da baskıladığını gösteren çalışmalar vardır. Glutasyon peroksidaz, askorbik asid ve sülfidril gruplarının aktivitelerinin azalması proteinlerin oksidatif hasarını 2-4 kat artırdığı, diabetiklerin lens ve vitreuslarında tespit edilmiştir (13).

Pentozidin, pentoz, arginin ve lizinden oluşan yüksek derecede floresans bir bileşiktir. Pentozidin yaşla arttığı gibi, diabette daha da artar. Ancak organizmada yine de çok düşük miktarlarda bulunur. Bu düşük miktarlarına rağmen, diabetik hastalarda deri kollajen pentozidini retinopati ve nefropatinin varlığı ile pozitif korelasyon gösterir ve lensdeki nontriptofan floresansın yaklaşık %40'nı oluşturur (5).

D. Göz Ve Serbest Radikaller

Göz, aşırı miktarda serbest radikal etkisine maruz kalan bir organdır. Çünkü, retina oksijenden zengindir ve büyük miktarlarda doymamış yağ asidi içerir. Retina pigment epitel (RPE) hücreleri sürekli olarak her gün birçok fotoreseptör dış segmentini degrade ve fagosite etmektedir. RPE, lokalizasyonu, fotik reaksiyonlar ve koriokapillarısten diffüze olan yüksek parsiyel oksijen (PO₂) seviyesi ve buradaki yüksek metabolik aktivite sonucu serbest radikal üretimi ve bunların etkisine maruz kalma riski artmaktadır. Yaşlanma ile birlikte artan oranda ultraviyole ışığının tesirinde de kalır (16-19).

Göz, bu radikallerin etkisine yatkın olduğu gibi yeterli miktarda antioksidan savunma sistemlerine de sahiptir. Gözde yüksek konsantrasyonlarda antioksidan enzimler, serbest radikal tutucuları ve süperoksid üretimi inhibitörleri bulunur. Süperoksid dismutaz, glutasyon peroksidaz, katalaz gibi enzimlerle, askorbat, karotenoidler, vitamin E gibi

antioksidanlar gözde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır. Lensde, katalaz, süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz, vitamin E ve askorbik asid mevcut olup oksidatif hasardan koruyucudurlar (16,19,62-65).

Omurgalıların retinaları diğer canlılarınkinden miligram başına 5-10 kat daha fazla oksijen tüketirler. Bu yüzden, retina gibi ışığa duyarlı maddelerin oksijenle etkileşimi sonucu singlet oksijen meydana gelir. Yine redükleyici maddelerin retinada fotosensitizasyonu sonucu gözde serbest radikal üretimi artar. Retina, ışığın hem fotoreseptörler ve retina pigment epitelyumu üzerine olan direkt etkileri hemde bunun sonucu oluşan termal hasar ve buna eşlik eden inflamasyondan dolayı, ışığın zararlı etkilerine maruz kalır. Çünkü, retinada H₂O₂ üreten fotosensitize edici ajanlar ile serbest radikallerden oldukça etkilenen poliansatüre yağ asidleri fazla miktarda bulunurlar (16,48,63).

Çeşitli oküler hastalıklarda ve patolojilerde, reperfüzyon hasarı, katarakt, fotik hasar, retinal dejenerasyon, üveit, retrolental fibroplazide serbest radikallerin rolü olduğu gösterilmiştir (17,18,64-70).

Yüksek oranda oksijene maruz kalan tavşanların retinalarında lipid peroksidasyonun arttığı ve elektoretinogramlarının da subnormal olduğu tespit edilmiştir (22). Prematürlerde de hiperbarik oksijene maruz kalma retinopati gelişimi için büyük risk taşır. Retinal lipidlerin oksidasyonu ile retinal dejenerasyon meydana gelir. Canlı hücreler bu oksidatif ataklara karşı bir çok savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Ancak prematürlerde bu savunma mekanizmaları yetersiz kalmaktadır (69).

Başka bir çalışmada, ışığa maruz bırakılmış kurbağa retinasında serbest radikallerin arttığı ve bunun ışığın değişik değişik dalga boylarında da geliştiği saptanmıştır. Lipid peroksidasyondan başlıca fotoreseptör hücre membranlarının sorumlu olduğu, fakat rodopsinin de sensitize edici bir rolünün olabileceği kanaatine varmışlar (17).

Ratlarda iskemi ve reperfüzyon bağımlı retinal hasarı araştıran bir çalışmada ise iskeminin süresi ile orantılı histolojik değişiklikler izlenmiştir. 90 dakikalık bir iskemiden sonra reperfüzyon sonucu retinada ileri derecede

ödem ve nötrofil ve lökosit infiltrasyonu görülmüştür. Bu çalışmada ratlara süperoksit dismutaz ve ginkgo biloba ekstresi tedavi amaçlı verilmiş ve her iki antioksidanın da belirgin şekilde retinal ödemi ve lökosit infiltrasyonunu azalttığı görülmüştür (70).

Yaşa bağlı maküla dejenerasyonunda da serbest radikallerin rol oynayabileceği düşünülmektedir. İnsan RPE hücrelerinde katalaz aktivitesinin yaşla birlikte ve maküla dejenerasyonu olan olgularda istatistiksel olarak önemli oranda azaldığı gösterilmiştir. Bu azalış, katalaz geni ekspresyonunda azalma ile, inaktif katalaz komplekslerinin azalması ile veya demir, çinko, bakır gibi gerekli katyonların eksikliği ile açıklanmaktadır. Vitamin E, C, karotenid, selenyum, çinko ve oksidatif streste rol oynayan birçok antioksidan vitamin, mineral ve enzimin faydalı etkisi olabilir. Birçok hayvan çalışmasında, yüksek antioksidan diet ile beslenen hayvanların, antioksidan diyetten yoksun olan hayvanlara göre daha az retinal dejenerasyon geliştirdiği gösterilmiştir. Başka bir çalışmada da, yaşla birlikte oküler dokularda bazı antioksidanların azaldığı ve bazı nütrisyonların ilavesi ile bunların aktivitelerinin tekrar stimule olduğu gösterilmiştir. Bunlara rağmen vitaminlerin yaşa bağlı maküla dejenerasyonundan koruduğuna dair henüz bir görüş birliği yoktur. Ancak, alfa tokoferol, plazma askorbik asid ve beta karotenoidlerin koruyucu olduğunu bildiren çalışmalar vardır (16,71,72).

Gözde serbest radikallerin etkili olduğu diğer bir durum ise kataraktır. Serbest radikal üreten ajanlar ki ultraviyole, X ışını, hiperbarik oksijen ve fotosensitif kimyasallar kataraktojenik olarak tanımlanmaktadır. Yine yapılan çalışmalar sonucunda senil katarakt oluşumunda lipid peroksidasyon sorumlu tutulmuş ve vitreusa lipid peroksidasyon ürünleri verilerek katarakt oluşturulmuştur. (65,65).

H₂O₂ düzeyleri kataraktlı lenslerde artmıştır. Organ kültüründe, H₂O₂ düzeyi artırıldığında katarakt geliştiği bilinmektedir. Oluşan kataraktaki protein hasarı, senil katarakttaki protein değişikliklerine benzerdir (64,73,74).

Organ kültüründe, H₂O₂'in Na/K pompasını bozduğu ve ATP hidrolizine ve iyon translokasyonuna neden olduğu gözlenmiştir (64).

H₂O₂'nin eliminasyonunda en etkili yol enzimatik yoldur. Son zamanlarda, düşük moleküller ağırlıklı glutatyon peroksidaz'a benzer maddeler geliştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, H₂O₂ ortamına bırakılan lenslerin ortamına bu sentetik glutatyon peroksidaz verilmesinin kataraktı engellediği tespit edilmiştir (64,65).

Antioksidanlar deneysel katarakt oluşumunu engelledikleri gibi lipid peroksidasyonu ve okside protein miktarını da azaltırlar. Kataraktın tüm tiplerinin en çarpıcı ortak özellikleri, redükte glutatyon konsantrasyonunun düşük olmasıdır (48).

Yine bir serbest radikal giderici olan Ginkgo biloba ekstresinin üveitte artmış retina lipid peroksidasyonu azalttığı ve üveitte düşmüş glutatyon peroksidaz değerlerini artırdığı saptanmıştır (67).

E. Melatonin

İlk defa Aaron Lerner tarafından 1958'de pineal bezden salgılanan melatoninin yapısının ortaya konulmasıyla, bu bezin fonksiyonlarının anlaşılmasında önemli bir adım atılmıştır. Pineal bezin, son 50 yıldaki çalışmalar sonucunda yapı ve fonksiyonları daha iyi anlaşılmaya başlanmıştır (75).

E.1. Pineal bez

İnsan pineal bezi diensefalondan 3. ventriküle doğru uzanır ve mezensefalunun süperior kollikulusları arasındaki çukurluğa yerleşmiş durumdadır. Genellikle beynin orta hattı üzerinde ve 1-2 mm iç kısmında yer almaktadır. Bu merkezi konumundan dolayı, pineal bez beynin orta sagittal düzleminin radyolojik bir belirleyicisi olarak da kullanılır. Yaklaşık 50-200 mg ağırlığında olup, birbirlerinden bağ dokusu septumu ile ayrılan hücre lobullerinden ibarettir. Pinealosit ve nöroglia olmak üzere iki tip hücre içerir. Yaşa bağlı olarak değişen derecelerde kalsifikasyon gösterir. Radyolojik olarak, kalsifikasyonun belirlenmesi pinealin postpubertel dönemde

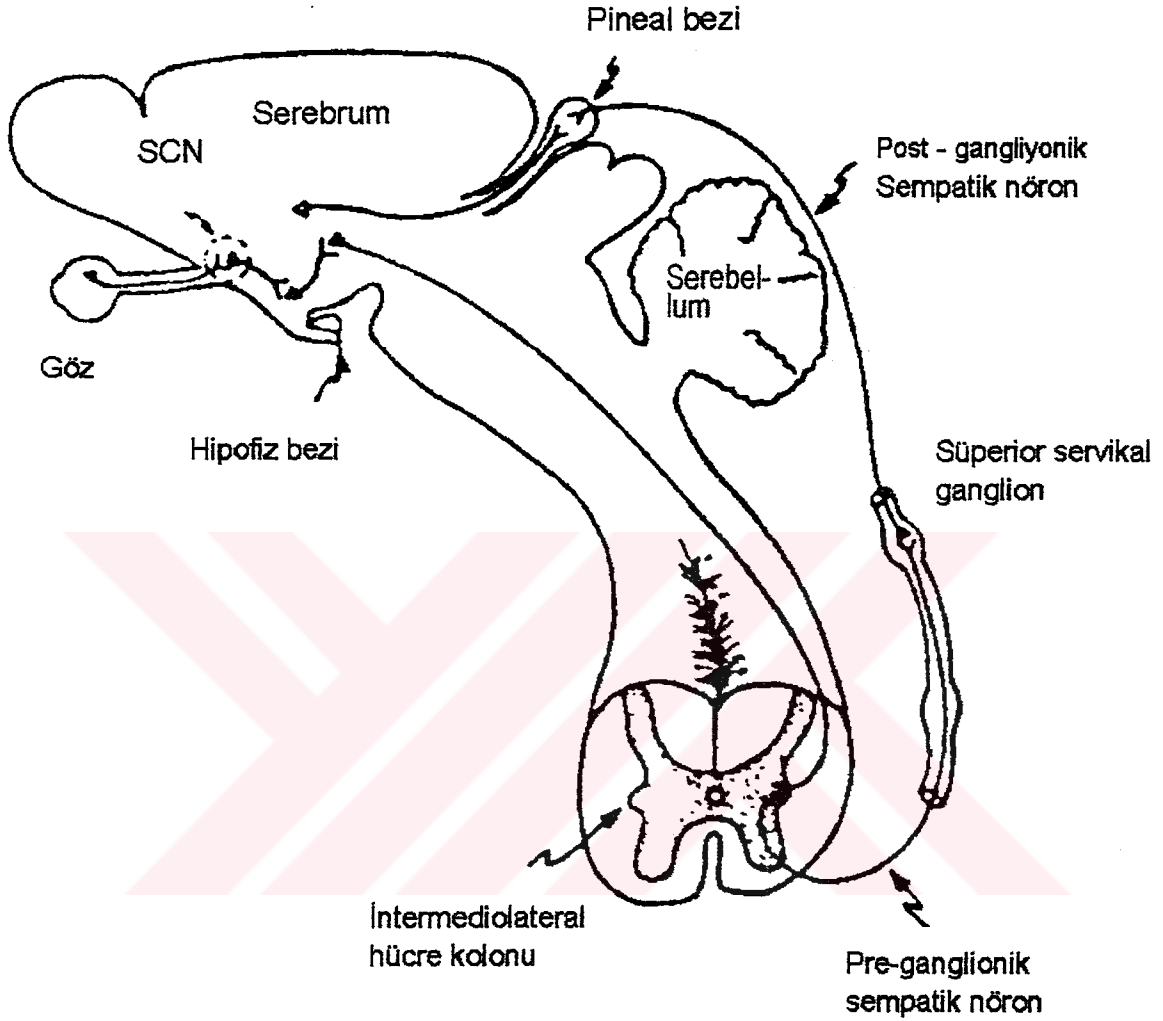
olduğunun işareti olarak kabul edilmektedir. Pineal bez kalsifikasyona rağmen hayat boyu aktivasyonunu sürdürür (21,75,76).

Pineal bez önemli derecede kanlanma gösteren bir dokudur. Kan akımı, 4 ml/dak/gr'lık değeri ile böbreklerden sonra ikinci sırada gelmektedir (21).

Pineal bezin endokrin fonksiyonunu devam ettirebilmesi, büyük ölçüde sinirsel inervasyona bağlıdır. Bundan dolayıdır ki, bir nöroendokrin organ olarak kabul edilmektedir. Gözler aracılığı ile aydınlık ve karanlıkla ilgili uyarı alan pineal bez melatonin salgılanmasını düzenlemektedir. Genel olarak ışık, melatonin yapımını azaltır, karanlık ise artırır. Bu sebeple, melatonin karanlık hormonu olarak da isimlendirilmektedir. Işık uyaranları, retinanın fotoreseptörlerinde sinirsel bir mesaja dönüştürülür ve daha sonra retinohipotalamik traktusu oluşturan gangliyon hücre aksonları ile hipotalamusa nakledilir. Optik kiazma düzeyinde bu lifler, klasik optik sistemden ayrılır ve anterior hipotalamusun suprakiazmatik çekirdeklerinde sonlanır. Burada sinaps oluşturduktan sonra lifler, hipotalamusun paraventriküler çekirdeklerine giderler. Sinir implusları daha sonra, üst torakal omurilik bölgesinde intermediolateral kordon içinde taşınır. Bu pregangliyonik nöronların aksonları, omurilikten ayrılır ve sempatik zincirde yukarı doğru ilerleyerek süperior servikal gangliyondaki postsinaptik nöronlar ile sinaps yaparlar. Postgangliyonik adrenerjik lifler, nevraksa girerek pineal bezde sonlanırlar. Pineal bez, süperior servikal gangliyonların yaklaşık %4'ü tarafından innerve edilir ve sinir lifleri beze internal karotid sinir ile ulaşırlar. İnsanda, servikal omurilik kesilmesi durumunda kanda melatonin ritmi ortadan kalkmaktadır (Şekil-7) (20,21,75,76).

Pineal bezin sekresyonları: Pineal bez biyolojik aminleri (Norepinefrin, serotonin, histamin, melatonin ve diğer ilgili indolaminler; dopamin ve oktopamin) ve peptidleri (LHRH (lüteinizan hormonu serbestleştirici hormon), TRH (Thyrotropin-releasing hormone), somatostatin, oksitosin analogu vazotosin) sekrete eder. Pineal bez ayrıca inhibitör bir nörotransmitter olan GABA, epifizin isimli bir protein ile nörofizine benzer bir protein içerir. Ayrıca,

henüz karakterize edilmemiş peptidlerin pinealin gonodotropin inhibitör etkilerine aracılık ettiği düşünülmektedir (20,75,77).



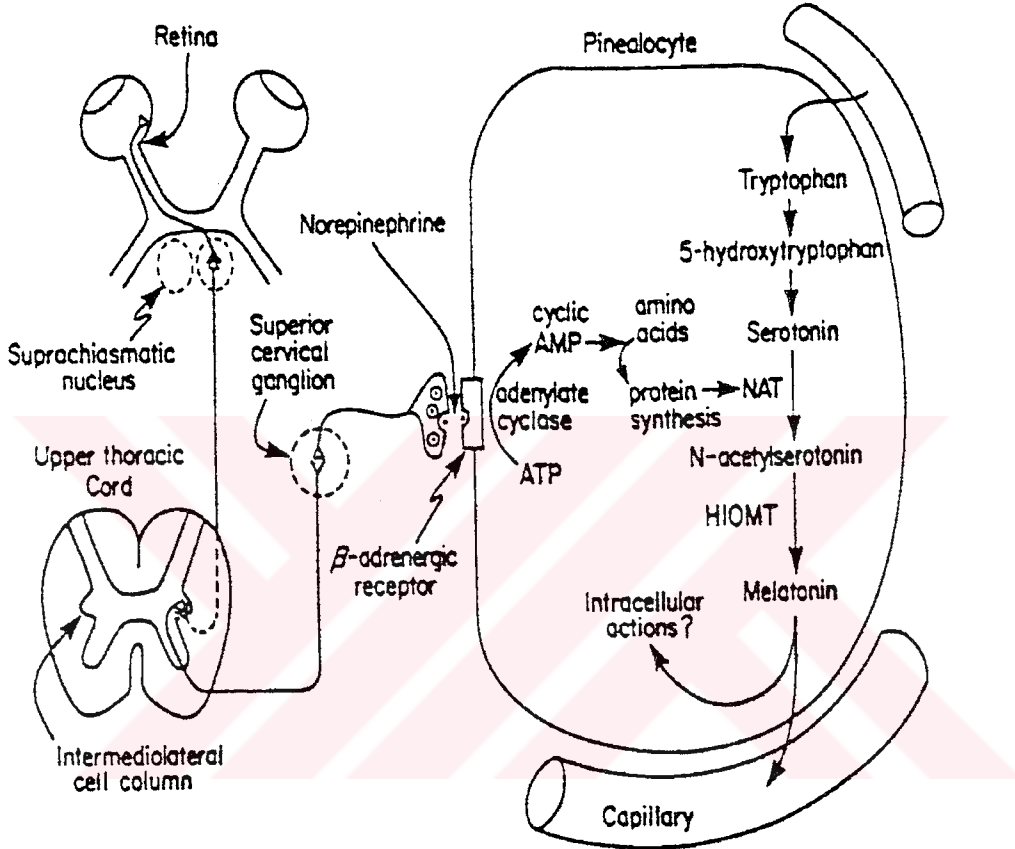
Şekil 7 Göz ve pineal bez arasındaki sinirsel bağlantılar. SCN:

Suprakiazmatik nükleus

E.2. Melatonin biyosentezi ve metabolizması

Pineal bezden salgılanan başlıca hormon olan melatonin bir indol türevidir. İndolamin sentezi pinealositlerde meydana gelmektedir. Melatonin sentezi için öncelikle triptofan aminoasidinin dolaşımdan hücre içine alınması gerekmektedir. Triptofan, triptofan 5-hidroksilaz enzimi tarafından 5-hidroksitriptofana (5HTP), 5HTP ise aromatik amino asid dekarboksilaz (Dopa dekarboksilaz) aracılığıyla serotonine (5-hidroksitriptamin, 5HT)

dönüştürülür. Serotonin, serotonin N-asetiltransferaz (NAT) ile N-asetilserotonine ve son olarak N-asetilserotonin hidroksiindol-O-metiltransferaz (HIOMT) enzimi tarafından melatonine dönüştürülür (Şekil-8) (21,75,76).



Şekil 8 Melatonin sentezinin düzenlenmesi (Arendt J. Melatonin and the mammalian pineal gland. London. Chapman Hall, 1995'den alınmıştır).

Melatonin yapımı, adrenerjik kontrol altındadır. Karanlıkta, pineal bezde melatonin sentezinin artması bez içindedeki postgangliyonik sinir uçlarından norepinefrin (NE) salgılanması ile mümkün olmaktadır. NE, pinealosit membranında başlıca β_1 reseptörleri üzerine etki ederek cAMP yapımını artırmak suretiyle NAT ve dolayısıyla melatonin sentezini hızlandırmaktadır.

Pinealositlerde α -1 reseptörleri mevcut olup, pineal fonksiyonun düzenlenmesinde β -uyarımı artırıcı bir rol üstlenir. Serotoninin melatonine dönüştürülmesinde rol oynayan NAT ve HIOMT enzim aktivitelerinin insan pineal bezinde gece daha yüksek olduğu belirlenmiştir. NAT'ın ritmik aktivitesini düzenleyen ritmik transkripsiyon mekanizmasının da varlığı ortaya konulmuştur (21,75).

Son bir kaç yıl içinde, pinealin melatoninin yapımından sorumlu başlıca organ olduğu görüşü tartışılmaya başlanmıştır. Bunun başlıca nedeni, diffüz nöroendokrin sistemin bir kısmı olarak kabul edilen APUD (amine precursor uptake and decarboxilation) hücrelerinde melatoninin önemli miktarda bulunduğu belirlenmesidir. Gastrointestinal kanalda bulunan enterokromofin (EC) hücrelerinin, vücutta melatoninin başlıca yapım yeri olduğu görüşü ileri sürülmektedir. Melatonin ayrıca, retina, hava yolları, karaciğer, böbrek, adrenal bezler, timus, tiroid, plasenta, ve endometriyumda diffüz nöroendokrin sistemin hücrelerinde, mast hücreleri gibi nöroendokrin karakterde olmayan hücrelerde ve doğal öldürücü hücreler (natural killer) ile eozinofilik lökositlerde de belirlenmiştir (75,78).

Melatonin başlıca karaciğerde ve ikinci derecede de böbreklerde metabolize olur. İdrardaki başlıca metaboliti 6-sülfatoksimeatonin'dir. Melatonin prekürsörü olan N-asetilserotonin de aynı zamanda bir melatonin metabolitidir (21,75).

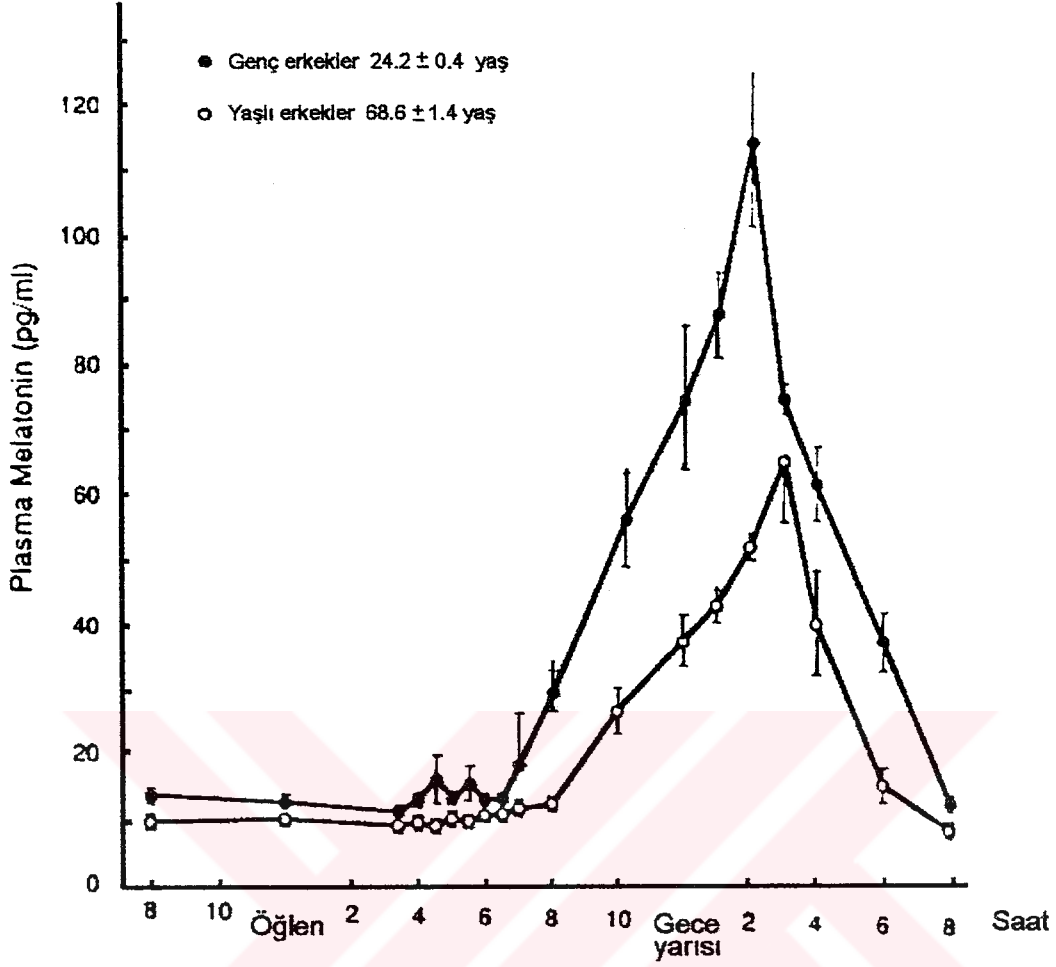
E.3.Melatoninin fizyolojik fonksiyonları ve rol oynadığı durumlar

- 1-Sirkadiyen periyosite ve organizasyonun sağlanması
- 2-Amfibalarda, sürüngenlerde ve memelilerde üreme siklusunun fotoperiyodik regülasyonu
- 3-Uyku-uyanıklık siklusunun sağlanması
- 4- Uyku siklusunun kayması (Jet-Lag)
- 5-Kış uykusu ve senkronizasyon
- 6-Mevsimsel affektif bozukluklar
- 7-Hipotalamik-pituiter aksın modülasyonu
- 8-Pituiter-adrenal aksın modülasyon

- 9-Pituiter-tiroid aksın modülasyonu
- 10-Puberte-antigonadal aktivite, fertilité, hamilelik
- 11-Menapoz
- 12-Yaşlanma-antiaging hormon, juvenil hormon
- 13-Hipereksitabilite durumu ve epilepsiler
- 14- Platelet agregasyonu
- 15-Strese cevap ve genel adaptasyon-antistres hormonu
- 16-Analjezik etki
- 17-Otonom fonksiyonların düzenlenmesi
- 18-Şizofreni
- 19-Susama ve elektrolit dengesi
- 20-Vücut ağırlığının regülasyonu
- 21-Normal kan basıncının sağlanması-antihipertansif ?
- 22-Termoregülasyon-hipertermik
- 23-İmmün mekanizmaların modülasyonu
- 24-Antimitotik aktivite ve maligniteye etkisi
- 25-Hücre çoğalması
- 26-Antioksidan etkisi (75,79).

Melatoninin salgılanması karanlık ile başlar, aydınlık ile sona erer. Salgılanması genellikle 21.00-22.00 saatleri arasında başlar, maksimum konsantrasyonu 02.00-04.00 arasında gözlenir ve saat 07.00-09.00 arasında ise giderek azalır. Melatoninin gün içi sirkadiyan şekildeki salınımı şekilde görülmektedir (Şekil-9). Yetişkinlerde plazmadaki ortalama maksimum düzeyleri 50-70 pg/ml'dir. İnsanda 1000-2500 lüks'lük ışık melatoninin salgılanmasında azalmaya yol açmaktadır.

Melatoninin kandaki konsantrasyonu yaşa bağlı olarak da değişmektedir. Sekiz yaş civarında kanda maksimum düzeye ulaşır ve puberte döneminde belirgin bir azalma gösterir. Kan melatonin düzeyi puberteden sonra sürekli bir azalma gösterir. (21,75,76). Melatonin en iyi bilinen etkisi üreme fizyolojisi ile ilgili olanlarıdır. Hipotalamus -hipofiz-gonadlar sistemi üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olduğu ileri sürülmektedir.



Şekil 9. Melatoninin sirkadiyan salınımı.

Ovulasyon esnasında LH (luteinizan hormon) artışı ile birlikte plazma melatonin düzeyinde azalma meydana gelmesi ve pubertal gelişim süreci içinde gece melatonin salgılanmasının giderek azalması, pineal bezin insanda hipotalamus-hipofiz-gonadlar sistemi üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir (21,75,76).

Oral ve intranasal melatonin uygulanmasıyla sıklıkla somnolans ve sedasyon görülür. Bazı yazarlar melatoninin uyku oluşturan faktör olduğuna dair bir teori ileri sürmüşlerdir. Melatonin uyku uyanıklık siklusunu düzenler ve uykunun kalitesini artırır (20,75-77).

Diğer bir önemli konu, pineal sekretuar ürünler ve tümör büyümesi arasında ileri sürülen ilişkidir. Hemen hemen bütün deneysel hayvan

çalışmalarında pinealin alınması kanserin başlamasını ve büyümesini sağlarken, pineal ekstrelerin veya melatoninin zıt etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. İnsanlarda da melatonin salgısının azalmasının meme kanserinin gelişmesi için eğilim yaratan bir faktör olabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca göğüs ve prostat kanserine de koruyucu ve tedavi amaçlı kullanılabileceğini bildiren çalışmalar vardır. Melatonin, kanserin hem başlamsını hem de gelişmesini önleyen güçlü bir onkostatik ajandır (20,75,81).

Melatonin ile immün sistem arasında da önemli etkileşimler olduğu bilinmektedir. İmmün sistem aktivitesinin büyük bölümü gece meydana gelir. Melatonin bir anti-stres faktör olabilir ve immün sistem üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldıracaktır. Melatonin immün fonksiyonu üzerindeki etkilerini anti-oksidan etki ve timus vasıtasıyla da gösterebilir. Farelerde timusun büyüklüğünde artışa yol açmıştır. Ayrıca antikor cevabını artırır, strese karşı aşırı kortikostreoid yapımını kontrol altında tutar. Genç farelerden alınan pineal bezlerin yaşlı farelere transplantasyonu immün fonksiyon için gerekli olan çinko düzeylerini de düzenler (75,82).

Melatoninin yaşlanmayı geciktirici bir hormon olduğu ileri sürülmektedir. Melatoninin yaşla üretimi azalmaktadır. Diyet kısıtlaması yapılan ratlarda yaşam süreleri uzamış (çünkü reaktif oksijen üretimi azalmakta ve antioksidan savunma cevabı korunmaktadır), aynı zamanda bunlarda melatonin salınımında buna paralel olarak artmıştır. İçme sularına melatonin katılan farelerin yaşam süreleri %20 uzamıştır fakat, pinealektomi yapılan ratlarda yaşam sürelerinde kısalma izlenmemiştir. Melatoninin yaşlanmayı geciktirici etkisinin immün sistem üzerindeki olumlu etkilerine bağlanabilir (75,83,84).

Melatoninin postmenopozal kadınlarda, östrojen replasman tedavisi esnasında östrojen ile birlikte kullanılması östrojenin etkinliğini artırmakta ve östrojen dozajında ihtiyaç duyulanın %25'ine kadar bir azalma sağlamaktadır. Menopozun erken döneminde melatonin yapımında izlenen azalma, postmenopozal osteoporozis gelişmesine katkıda bulunabilir.

Hayvan çalışmaları, melatoninin kalsiyum metabolizması ile ilişkisini göstermiştir (75).

Melatonin, kardiyovasküler sistem üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olup, aterosklerozis ve hipertansiyon riskini azaltmaktadır. Ayrıca kanda kolesterol seviyesini de düşürmektedir (75).

E.4. Melatoninin antioksidan etkisi

Melatoninin yukarıda belirtilen etkilerine ek olarak son yıllarda antioksidan özelliği ile ilgili yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Melatonin, en zararlı serbest oksijen radikali olan OH[•] radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Bu yüzden, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir. Melatoninin glutatyona göre beş, E vitaminine göre ise en az iki kat daha etkili bir antioksidan olduğu bildirilmiştir (22-24,85).

Melatonin, OH[•] radikali ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşürki bunun da ortamdaki O₂^{•-} radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterdiği kaydedilmiştir (22,24,48).

Melatonin antioksidan olarak diğer önemli bir özelliği de lipofilik olmasıdır. Dolayısı ile hücrenin hemen hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin bariyeri gibi bariyerleri de kolayca geçmektedir. Böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Melatonin hücre çekirdeğine girebilmesi onun DNA'yı oksidatif hasardan koruması bakımından diğer antioksidanlara göre çok daha üstün bir özelliğini teşkil eder. Melatonin diğer antioksidanlardan ayıran önemli bir yanı da mitokondrileri oksidasyon hasarından korumasıdır (22-24).

Serbest oksijen radikalleri oluşturmak suretiyle kansere sebep olan safrol'ün DNA üzerindeki hasarının melatonin tarafından çok etkili bir şekilde inhibe edildiği gösterilmiştir (24).

Vücutta yaşlanmaya sebep olan hasarların büyük ölçüde serbest radikallere bağlı olarak meydana geldiği kabul edilmektedir. Yaşlanma ile

birlikte melatonin üretimi de azalır ki bununda yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogeneğinde önemli rolü olabileceği kaydedilmiştir. Ayrıca yaşlılığa bağlı olarak gelişen zihinsel kapasitedeki azalmayı önlemesinin yanısıra saç renginin değişmesi ve kas tonusunda azalma gibi diğer yaşlılığa bağlı değişikliklerin önlenmesinde de yararlı olabilir (22,86).

Melatoninin bir başka avantajı, diğer antioksidanların aksine çok yüksek dozlarda (300mg/gün) ve uzun süre kullanımda (5 yıla kadar) bile toksik bir etkisinin olmamasıdır. Ayrıca bazı antioksidanlar belli oranda prooksidan (serbest radikal oluşturması) aktiviteye sahip oldukları halde melatoninin böyle bir etkisi de yoktur (24).

Melatonin bizzat kendisinin güçlü bir antioksidan olmasının yanısıra nöral dokuda glutatyon peroksidaz aktivitesini de artırır. Beyin, glutatyon aktivitesinin gece boyunca daha yüksek olması yüksek melatonin düzeyi ile de yakından ilgilidir. Glutatyon peroksidaz, beyinde peroksitleri ortadan kaldıran başlıca enzim olarak bilinmektedir (23,24).

İyonizan radyasyona karşı insan lenfosit DNA'sını hasardan koruduğu, yenidoğan ratlarda glutatyon eksikliğine bağlı katarakt gelişimini engellediği saptanmıştır. İskemi reperfüzyon hasarı, lipopolisakkarid uygulanması ile oluşan oksidatif hasar, hepatotoksisitede, DNA hasarı gibi oksidatif hasarın arttığı diğer durumlarda da melatonin enjeksiyonu ile oksidatif hasar engellenmiş veya büyük oranda azaltılmıştır. Melatonin tedavisi aynı zamanda, farelere siyanid ve L-sistein uygulanması ile oluşturulan nöbetleri kısaltmıştır (23).

III. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada ağırlıkları 150-250 gram arasında değişen erkek, Wistar-albino cinsi, genç erişkin (ortalama 5-6 aylık) 21 adet rat kullanıldı. (Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı'ndan temin edildi). Tüm denekler, aynı şartlara tabii tutulup, Elazığ Yem Fabrikasından temin edilen standart sıçan yemi ve çeşme suyu ile beslendi. Ratlar 12 saat gün ışığı alan ve penceresinde havalandırma tertibatı olan bir odada bulunan özel olarak hazırlanmış kafeslerde bakıma alındı. Etik açıdan, Türkiye'nin de dahil olduğu, Avrupa konseyi ülkeleri tarafından Strasburg'da imzalanan, 20 Eylül 1985 tarihli 'Deneysel ve diğer bilimsel amaçlar için kullanılan vertebralı hayvanların korunması için Avrupa antlaşması' hükümlerine uyuldu. Bu amaçla istatistiki yönden anlamlı olabilecek en az sayıda sıçan kullanılmaya dikkat edildi.

A. Deney gruplarının tanımlanması

Deney hayvanları (n=21), 'basit rastgele örnekleme metodu' kullanılarak toplam 3 gruba ayrıldı ve gruplar ağırlık ortalamaları 150-250 gram olacak şekilde düzenlendi.

Grup 1: Streptozosin ile diabet oluşturulmuş grup (n=7): Bu gruptaki sıçanlara 60 mg/kg dozunda intraperitoneal streptozosin uygulandıktan sonra 4. gündeki kan şekeri değerleri 250 mg/dl 'nin üzerinde olanlar diabetik olarak kabul edildiler. 4. günde, tek doz streptozosin uygulanması ile tüm grubun diabetik olduğu gözlemlendi ve kuyruk kanından alınan kandaki kan şekeri kontrolüne göre her gün saat 10.00'da NPH insülin, (İnsülatard^R Nova Nordisk) uygulandı.

Grup 2: Streptozosin ile diabet oluşturulmuş ve melatonin uygulanmış grup (n=7): Bu grupta yukarıda anlatıldığı şekilde diabet oluşturulduktan sonra, insülin'eek olarak, her gün saat 16.00'da 10 mg/kg dozunda etanolik serum fizyolojikde çözdürülmüş melatonin (Merck, Schuchardt, D-85662 Ilohenbrunn Germany) subkutan uygulandı.

Grup 3: Kontrol grubu (n=7): Aynı ortamda yaşayan ve aynı şartlara tabii tutulan bu grupta, streptozosin ve insülin yerine subkutan serum fizyolojik uygulandı.

Diabet oluşturulduktan ve melatonin uygulanmasından 30 gün sonra hayvanlar dekapite edildi. Enükleasyondan sonra tüm gözlerin retina tabakaları ayrıldı. Bir hayvanın iki retinası birleştirilerek tek örnek oluşturuldu. Örnekler deney yapılıncaya kadar derin dondurucuda -70 °C'de saklandı.

B.Deneyin yapılışı

Melatonin, Merck firmasından (Merck, Schuchardt, D-85662 Ilohenbrunn Germany); streptozotocin ve tiyobarbitürik asid (TBA) Sigma (SIGMA Chemical Co. P.O. Box 14508 St. Louis, MO63178 USA) firmasından temin edildi.

Lipit peroksidasyon tayini:

Prensip; pH'ın 3.4 olduğu aerobik bir ortamda TBA ile plazmanın 95 °C'de inkübasyonu, lipit peroksidasyonun sekonder bir ürünü olan malondialdehidi (MDA) oluşturmaktadır. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks yapar. Pembe rengin 532 nm'de spektrofotometrik olarak okunması ile lipit peroksidasyon değeri ölçülür.

Dokular, 1 gram yaş ağırlığa 9 ml %1.15'lik KCL ilavesinden sonra ultrasonik homojenizatörde homojenize edildi. Deneyde, 0.1 ml doku, 0.2 ml %8.1'lik sodyum dodesil sulfat, 1.5 ml %0.8'lik TBA karıştırıldı. pH 1-3 arasında olması sağlandı ve 4 ml distile su ilavesi yapıldı. Karışım, 60 dakika kaynar su banyosuna (95 °C) tabii tutulduktan sonra, tüpler 3500 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alınan örnek spektrofotometrede (Jasco, V-530, UV/VIS Spectrophometer) 532 nm dalga boyunda okundu. Standart olarak 0.5 ve 1 mmol tetraetoksipropan numune gibi çalışıldı. Çıkan lipit peroksidasyon değeri nmol/gr doku olarak ifade edildi (87).

C.İstatistiksel analizler

SPSS istatistik proğramı kullanılarak, sonuçlar, Mann Whitney U testi ile grupların lipit peroksid düzeyleri arasındaki farklılıkları istatistiksel olarak değerlendirildi. Veriler aritmetik ortalama \pm standart sapma ($\bar{X} \pm SD$) şeklinde bildirilmiştir (88).



IV. BULGULAR

Retina lipit peroksid düzeyi kontrol grubunda (grup I) $23,04 \pm 4.03$ nmol/gr doku olarak saptandı. Bu değer Streptozosin ile diabet oluşturulmuş grupta (grup II) ise $55,68 \pm 6.04$ nmol/gr doku idi. Diabet oluşturulduktan sonra melatonin verilen grupta (grup III) ise $36,13 \pm 7.48$ nmol/gr doku olarak saptandı (Tablo-3).

Ratların deney süresince ortalama kan şekerleri düzeyi grup I'de $112,30 \pm 21.2$ mg/dl, grup II'de $378,25 \pm 59.01$ mg/dl, grup III'de ise $363,08 \pm 69.13$ mg/dl olarak saptandı.

Grup I ile grup II'nin retina lipit peroksid düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

Grup II ile grup III ve grup I ile grup III retina lipit peroksid düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p < 0.01$).

Tablo 3. Çalışma ve kontrol gruplarında retina lipit peroksid düzeyleri (LPO). (Grup I: Kontrol grubu, Grup II: streptozosin ile diabet oluşturulmuş grup, Grup III: Diabet oluşturulmuş ve melatonin verilmiş grup).

GRUP	RETİNA LPO DÜZEYLERİ (nmol/ gr doku)
I	$23,04 \pm 4.03$
II	55.68 ± 6.04
III	$36,13 \pm 7,48$

Sonuç olarak, ratlarda diabet oluşturulmasının retina LPO düzeyini anlamlı şekilde artırdığı ($p < 0.001$), diabet oluşturulduktan sonra melatonin verilmesinin ise retina lipit peroksidasyonunu diabetik guruba göre anlamlı şekilde düşürdüğü saptandı ($p < 0.001$). Ancak bu düşüş normal retina LPO düzeyine ulaşmaktan uzaktı.

V. TARTIŞMA

Son halkalarında eşleşmemiş bir elektron bulunduran serbest radikaller, vücutta normal metabolik süreçler sırasında oluşabilecekleri gibi birçok patolojik olay sırasında da meydana gelebilirler. Serbest radikaller biomolekülleri okside edip hücre ölümü ve doku yaralanmasına yol açarlar. Serbest radikallerin hücresel kaynakları, rol oynadıkları reaksiyonlar ve serbest radikallere karşı antioksidan savunma mekanizmalarının açıklığa kavuşmasıyla bugün bilinmeyen birçok olayın patogenezi aydınlatılabilmektedir (50,66,89).

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin doymamış yağ asidi içeren lipid biyolojik membranlarla etkileşimi sonucu bunların oksidatif yıkımı olarak bilinir. Bunlar direkt olarak membran yapılarını ve indirekt olarak reaktif aldehidler yolu ile diğer hücre membran yapılarına zarar verirler. Lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan ürünler, membran permeabilitesini ve mikroviskozitesini önemli ölçüde etkilemektedir. Peroksidasyonda oluşan malondialdehid, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, malondialdehidin niçin mutajenik, genotoksik ve karsinogenik olduğunu açıklar (48,50,55).

Serbest radikaller son derece reaktif bileşikler olup, çok kısa ömürlüdürler. Bunları direkt olarak ölçmek çok zordur. Genellikle bunların indirekt göstergesi olan yıkım ürünlerinin ölçülmesi sık başvurulan bir yöntemdir. Serbest radikallerin en önemli etkisinin poliinsatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu olduğu kabul edilmektedir. Bu şekilde oluşan lipid peroksiditleri kolaylıkla yıkılarak, en önemlisi MDA olan reaktif karbon bileşiklerini meydana getirirler. Bu nedenle, TBA reaksiyonu ile MDA miktarının ölçümü dokulardaki lipid peroksidasyonunun derecesini yansıtmaktadır. Bu yöntem çok hassas olmamakla birlikte, pratik ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle birçok araştırmacı tarafından kullanılmaktadır (5,48,50,58). Bizde çalışmamızda streptozosin ile diabet oluşturulmuş

ratlarda, TBA yöntemi ile lipid peroksidasyon ürünü olan MDA değerlerine bakarak, retina lipid peroksidasyonunu tespit ettik.

DM'da oluşan kronik komplikasyonların (retinopati, nefropati, nöropati) etyopatogenezinde hipergliseminin rol oynadığı bir çok kontrollü çalışma ile aydınlanmıştır, fakat hipergliseminin hangi mekanizma ile bu etkileri oluşturduğu açıklık kazanmamıştır (35-38). Bu konuda temel olarak suçlanan mekanizmalar, proteinlerin non-enzimatik glikolizasyonu, poliol yolundaki metabolik artış ve hemodinamik değişikliklerdir (8,10,11,42). Hipergliseminin sonuçları olan glukoz otooksidasyonu, poliol yolundaki artış, prostanooid sentezi, protein glikasyonu serbest radikal üretimini artıran mekanizmalardır. Ayrıca, endotel hücrelerinin artmış düzeylerdeki glukozla maruz kalması süperoksid anyon üretimini artırmakta ve sonuçta potent bir endotel kökenli vazodilatatör ajan olan ve vasküler genel hemostazise katılan nitrik oksidi baskılamaktadır (13,42). Glukoz düzeylerinde akut artış, doğal antioksidan savunma mekanizmalarını baskılamaktadır. Örneğin, sığır Cu, Zn-SOD enzimi farklı glukoz konsantrasyonlarına maruz bırakıldığında, enzim aktivitesinin yaklaşık %60 azaldığı bildirilmektedir (90). Bu durum süperoksid radikale karşı korunmanın azaldığını göstermektedir. Genelde, SOD, katalaz ve glutatyon peroksid gibi antioksidan enzimlerin diabetik hayvanların nonvasküler yatakta, azalmış, artmış yada değişmediğini bildiren çalışmalar vardır. Bu farklılıklar, enzim aktivitelerinin zamanla değişimlerine bağlı olabilir (örneğin, oksidatif stresin artışına karşın kompensatuar olarak enzim aktivitesinin artması gibi) (13).

Lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehidin diabetik hastaların eritrosit membranlarında arttığı ve eritrosit redükte glutatyonunun deprese olduğu bir çok çalışma da saptanmıştır. Yine aynı şekilde lipid peroksidasyonundaki artışın derecesi, glikolize hemoglobin değeri ile korele olarak bulunmuştur (90-95).

Armstrong, NIDDM'lu hastaların plazma lipid peroksidasyonunun normallere göre en az iki kat artış gösterdiğini ve retinopatinin varlığı ile lipid

peroksidasyonunun düzeyi arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu saptamışlardır (96).

Aynı şekilde, dolaşımdaki MDA düzeylerinin, kontrollere göre diabetik bireylerin plazmalarında daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Retinopatili NIDDM'li hastalarda da lipid peroksidasyonunda artış görülmüştür (5,96,98). Abdella, NIDDM'li hastaların plazma lipid peroksidasyonunu kontrole göre yüksek bulmuştur. Mikro ve makrovasküler komplikasyonları olanlarda bu değerler daha da yüksek bulunmuştur (99).

Diabetik hayvanlarda da benzer sonuçlar bulunmuştur. Streptozosin ile diabet oluşturulmuş ratların retina ve böbrek lipid peroksidasyonunda iki kat artış saptanmıştır. Retina lipid peroksidasyonunda ki artış diabetik süre ve retinopatinin şiddeti ile ilişkili bulunmuştur (5,100-102).

Lipid peroksidasyonun poliansatüre yağların oksidatif hasarının bir sonucu olduğu iyi bilinmektedir. Retinanın özellikle fotoreseptör tabakası yüksek konsantrasyonda doymamış yağ asitleri içerir. Dokozahexanoik asit fotoreseptör membranının başlıca fosfolipididir ve peroksidasyona oldukça yatkındır. Retina oksijenden oldukça da zengin olan bir dokudur. Işığa karşı da duyarlı olan bu dokunun lipid peroksidasyona maruz kalma riski yüksektir (15,16). Literatürde aşırı oksijenin (18), ışığın (17), radyasyonun (103), lipid peroksidasyonu başlatarak retinada hücresel elemanların hasarına yol açtığını gösteren çalışmalar vardır. Diabette katarakt oluşumu, retinopati ile lipid peroksidasyonu arasındaki ilişki gösterilmiştir (96,100,101,104).

Uzel, retinopatisi olan diabetik bireylerde retinopatisi olmayan diabetiklere göre eritrosit lipid peroksid düzeylerinin daha yüksek olduğunu rapor etmiştir. Yağcı, streptozosin ile diabet oluşturulmuş ratlarda plazma, lens ve retina lipid peroksid düzeylerinde kontrol gurubuna göre artış saptamışlardır (100,105).

Bizim çalışmamızda da streptozosin ile diabet oluşturulmuş ratlarda, TBA yöntemi ile lipid peroksidasyon ürünü olan MDA değerlerine bakılarak, retina lipid peroksidasyonunda çok anlamlı şekilde artış olduğu saptanmıştır.

Papachristodoulou, sukroz ile beslenmiş ratlar (yüksek oranda karbonhidrat içeren diet) ve diabetik ratlarda ışık mikroskopi ile yaptıkları ultrastrüktürel çalışmalarda iki grubun bulgularının benzer olduğu, her iki grupta da basal membranda kollajen benzeri nodül ve depozitlerin olduğu, fakat basal membran kalınlaşmasının olmadığını saptamışlardır. Retinopatinin bu birikintilere bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Diabetik ratlar ve sukroz ile beslenen ratlarda retinada gelişen benzer lezyonların ortak paydası hiperglisemidir (106).

Direkt intravitreal lipid peroksid enjeksiyonunun elektoretinogramın amplitüdlerinde progresif ve irreversibl değişikliklere yol açtığı saptanmış, bu sonucun retinanın fonksiyonel yapısında oluşan anormallikleri göstermesi açısından önemli olduğu bildirilmiştir (107).

Diabetiklerde lipid peroksidasyonun artmasının yanısıra, antioksidan savunma mekanizmalarında (glutasyon, glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksid dismutaz, redükte glutasyon, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz aktivitelerinde) da azalma izlenmiştir. İnsülin ve insülinomimetik bir ajan olan vanadate, alloksan ile diabet oluşturulmuş ratlarda hiperglisemiyi normalleştirmiş, fakat insülin gibi endojen savunma mekanizmalarını tamamen düzeltmemiştir. Alloksana maruz bırakılmış pankreatik adacık hücre ortamına süperoksid dismutaz, katalaz, ve metal şelatörlerin varlığında, alloksanın (düşük dozdaki) toksik etkilerinin engellendiği saptanmıştır. Bu da vücutta yeterli antioksidan savunma mekanizmalarının varlığında diabetin kronik komplikasyonlarının önlenmesinde önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir (98,108).

Diabette iki mekanizma nedeniyle oksidatif stres artmıştır. Bunlardan biri, artmış glukoz otooksidasyonu sırasında serbest radikallerin üretilmesi, diğeri ise E ve C vitamini ile glutasyon gibi doğal koruyucu antioksidanların rejenerasyonlarının bozulmasıdır. Bu doğal radikal toplayıcılarının indirgenmiş şekillerinin rejenerasyonu için yeterli miktarlarda NADPH olmalıdır. Diabette NADPH glukozun yüksek olduğu durumlarda insüline

bağımlı olmayan dokularda (lens, retina, böbrek, sinirler) glukozun sorbitole dönüşümü sırasında tüketildiğinden yeterli miktarda değildir (13).

Hipergliseminin indüklediği NADH/NAD oranındaki artış hiperglisemik pseudo hipoksi olarak isimlendirilmektedir ve diabet komplikasyonlarında rol oynadığı düşünülmektedir. Hem gerçek hem de pseudo hipokside serbest radikal oluşur ve pseudo hipokside prostoglandin G₂'den prostoglandin H₂ sentezi artar. Bu reaksiyonun enzimi olan hidroksiperoksidaz kofaktör olarak NADH'ı kullanır. Kısır bir döngü olan, serbest radikallerin oluşumu, iskemide hem neden hem de sonuçtur (13).

Serbest radikaller bir çok metabolik olayda devamlı olarak üretilirlerken, redükte glutatyon, C ve E gibi vitaminler gibi antioksidanlarca da hızla elimine edilirler. Diabetik hastalarda aynı zamanda, redükte glutatyon, askorbat, vitamin E konsantrasyonları da düşüktür. Diabetli hastalarda antioksidan rezervinin düşük olması, okside serbest radikal gidericileri tekrar redükte formuna dönüştürmek için ko-faktör olarak gerekli olan NADPH'ın (redoks siklüsünde) aşırı kullanımından dolayı azalmasından olabilir (5).

Gözde, lipid peroksidasyona karşı birçok savunma mekanizmalarının olduğu gösterilmiştir. Süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi enzimler ile askorbat, karotenoidler, vitamin E gibi antioksidanlar gözde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadır (15,16,63,107).

Diabette antioksidan savunma mekanizmalarında azalma tespit edildiğinden, diabet oluşturulmuş ratlarda antioksidan birçok ajan denenmiştir. α -Tokoferolün, rod dış segmentlerini oksidatif hasardan koruduğu, fakat bunun endojen seviyesinin membran lipid peroksidasyonunu tamamen elimine etmeye yeterli olmadığı gösterilmiştir (101). Platelet vitamin E düzeyinin kimyasal olarak diabet oluşturulmuş ratlarda ve IDDM'luların plateletlerinde ve NIDDM'lu, özellikle retinopatili olan bireylerde kontrollere göre deprese olduğu gözlenmiştir. Benzer olarak, plazma askorbik asid düzeylerinin hem hayvan hem de insanlarda azaldığı ve onun primer oksidan ürünü olan dehidroaskorbatın arttığı saptanmıştır. Askorbik asidin

diabetiklerin beyaz kan hücrelerinde de azaldığı bildirilmektedir. Fakat tüm çalışmalarda diabetteki antioksidanlarda ki bu düşüş saptanmamıştır (5,13).

Nishimura, streptozosin ile diabet oluşturulmuş ratlarda retina lipid peroksidasyonunda belirgin artış, yağda eriyen antioksidanlarda ise azalma izlemiştir. Vitamin A verilmesinin retina lipid peroksidasyonu supresyonu üzerine etkisi olmadığını saptamışlardır (101).

Tüm bu bulgulara karşın diabetin kronik komplikasyonlarının gelişmesinde serbet radikal hipotezinin tek başına yeterli olup olmadığı sorusuna hala yeterince cevap verilebilmiş değildir. Birçok diabetik hastada komplikasyon olmaması veya çok hafif vasküler belirtiler olmasını izah edebilmiş değiliz. Muhtemelen genetik, çevresel ve biyolojik birçok faktör karşılıklı etkileşim içinde rol oynamaktadır (13).

Hiperglisemi ve genetik olarak belirlenmiş antioksidan hücresel savunma mekanizması arasındaki denge, hipergliseminin oluşturduğu serbest radikal etkisinin farklı olmasıyla diabetin komplikasyonlarının gelişiminde dikkate alınması gerektiğini göstermektedir. Hiperglisemiye daha duyarlı olan bireylerde, eritrosit aldoz redüktaz (AR) aktivitesinin komplikasyonlu IDDM'li bireylerde belirgin şekilde daha yüksek olduğu saptanmıştır. (13,109).

Melatoninin son zamanlarda birçok invivo ve invitro çalışmada çok güçlü doğal bir antioksidan molekül olduğu belirlenmiştir. Melatonin, en zararlı radikal olan OH[·] radikalini ortadan kaldırdığı, mannitol ve glutatyondan beş kat, E vitaminine göre ise en az iki kat daha etkili olduğu bildirilmiştir (22,24,85). Bu direkt antioksidan aktivitesinin yanısıra, melatonin invivo antioksidan enzimleri, glutasyon peroksidazı stimüle ederek antioksidan etkisini böylece daha da artırır (23,24).

Melatoninin antioksidan etkinliğini belirlemek için yapılan diğer bir çalışmada; ultraviyole ışık (254 nm) etkisi ile H₂O₂'den OH[·] radikal sentezi sağlanmış ve daha sonra melatonin, glutasyon ve mannitolün OH[·] radikali oluşumunu engellemedeki etkinlikleri karşılaştırılmıştır. Sonuçta, OH[·] radikali sentezini %50 (IC₅₀) inhibe etmek için gerekli olan melatonin, glutasyon ve

mannitol miktarları sırasıyla 21, 123, 283 μ M olarak bulunmuştur. Bu bulgu melatoninin diğeri iki önemli antioksidana göre çok daha güçlü olduğunu göstermektedir (24).

Birçok hayvan çalışmasında, farmakolojik konsantrasyonlarda oksidatif hasarı engellediği bildirilmiştir. Bunlardan, kimyasal bir karsinojen olan safrol enjeksiyonunun neden olacağı nükleer DNA hasarı, iyonize radyasyonun insan lenfositlerindeki DNA hasarını, yeni doğan ratlarda glutatyon yokluğuna bağlı katarakt gelişimi ve diğeri oksidatif hasar türleri olan iskemik reperfüzyonda melatonin verilmesi bu hasarları ya büyük oranda engellemiş ya da hasarı azaltmıştır. Yukardaki çalışmaların ışığında melatoninin DNA'yı oksidatif hasardan koruduğu kanıtlanmaktadır. Bu bulgular, aynı zamanda melatoninin kanser başlamasına karşı koruyucu etkisinin olduğunu göstermektedir (23).

L-sisteinin intraserebroventriküler uygulanması ile nöbetler izlenmiş, bu uygulamadan 15 dakika önce verilen melatonin nöbetlerin insidansı azalmıştır. Sistemik verilen L-sisteinin beyinde lipid peroksidasyonu artırdığı, fakat önceden melatonin verilmesinin lipid peroksidasyonu engellediği belirlenmiştir (110). δ -aminolevülinik asid (ALA), akut intermitant porfiriada biriken metabolik ara ürün olup, serbest radikal oluşumunu kolaylaştırır ve bu yolla hücre yapılarına zararlı etkilerini gösterebilir. Bu amaçla rat serebellumu inkübasyonuna ALA eklenmesinin lipid peroksidasyonu artırdığı, ortama melatonin ilavesinin lipid peroksidasyonunu anlamlı derecede azalttığı saptanmıştır (111).

Melatoninin deneysel hayvan iskemi reperfüzyonunda, frontal serebral korteks ve cerebellum da, nitrik oksidin (bunun iskemi reperfüzyonda glutamat eksitotoksitesinden sorumlu olduğu düşünülüyor) ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) üretimini engellediği saptanmıştır. Bu etkisinin serbest radikal giderici etkisinden dolayı olduğu varsayılmaktadır (23).

Melatoninin lipofilik olması, hücrenin tüm organellerine ve hücre çekirdeğine rahatça ulaşabilmesini sağlar. Kan-beyin bariyeri gibi engelleri de kolayca geçer. Böylece çok geniş bir dağılımla, subseleler yapılarına

ulaşabilir ve serbest radikallerin oluştuğu yerlerde antioksidan aktivite gösterir (21).

Literatürde melatoninin antioksidan etkisini gösteren birçok çalışma olmasına rağmen diabetteki lipid peroksidasyonu üzerindeki etkisini gösteren tek alışma Pierrefiche ve arkadaşlarının alloksan ile farelerde diabet oluşturduktan sonra melatonin ve onun metabolitlerinin antioksidan etkisini saptamayı amaçlayan çalışmada, melatonin ve karaciğerdeki ana metaboliti olan 6-hidroksimelatonin verilmesinin lipid peroksidasyonu engellediği ve bunun doza bağlı olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak melatoninin antioksidan özelliğinin olduğu, bununda molekülün indol yapısına bağlı olduğu varsayılmaktadır (112).

Bizim alışmamızda da, çok güçlü bir antioksidan olan melatoninin diabetik ratlara uygulanarak retina lipid peroksidasyonu üzerine olan etkisini saptamayı amaçladık. Literatürde melatoninin çok değişik dozlarda uygulandığı grlmektedir (22-24,85,110,111). Bizim alışmamızda uygulanan doz fizyolojik dozun üzerinde olup, böylece teröpatik etki beklemeyi amaçladık. Ayrıca melatonin salınımı akşam saatlerinden sonra giderek artan şekilde pik yaptığından, bizde melatoninini akşam saatlerinde verdik. Çalışmamızda melatonin verilmesinin retina lipid peroksidasyonunda önemli derecede azalma yaptığı gösterilmiştir. Literatürde melatoninin antioksidan etkisinin bilinmesine rağmen, diabette retina lipid peroksidasyonu üzerine olan etkisi ilk defa bizim çalışmamızda gösterilmiştir.

Sonuç olarak, streptozosin ile diabet oluşturulmuş ratlarda retina lipid peroksidasyon düzeylerinin çok anlamlı şekilde arttığı saptanmıştır. Antioksidan etkisi bilinen melatonin uygulanması, diabetteki retina lipid peroksidasyonunu anlamlı şekilde düşürmüştür. Çok güçlü bir antioksidan olan melatoninin, fizyopatolojisinde serbest radikallerin önemli rol oynadığı diabetik retinopatinin background (erken) evresinde, kullanılabileceğini fakat, melatoninin diabetik retinopatideki etkisini belirleyebilmek için daha geniş kontrollü klinik çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

VI.ÖZET

Bu çalışmada streptozosin ile diabet oluşturulmuş ratlarda retina lipid peroksidasyonu düzeylerinin belirlenmesi ve son zamanlarda çok güçlü bir antioksidan olduğu bildirilen melatoninin retina lipid peroksidasyonu üzerine olan etkisini belirlemek amacıyla yapıldı.

Bu amaçla ağırlıkları 150-250 gram arasında değişen erkek, Wistar-albino cinsi 21 adet rat kullanıldı. Bunlar 7'şerlik 3 gruba ayrıldı. I. gruba, 60 mg/kg dozunda streptozosin intraperitoneal uygulanarak diabet oluşturuldu. II. gruba, streptozosin ile diabet oluşturulduktan sonra 10 mg/kg dozunda subkutan melatonin uygulandı. III. grup kontrol grubuydu. Diabet oluşturulduktan sonra 30. günde ratlar dekapite edilerek retina lipid peroksidasyonu, tiyobarbitürik asit yöntemi ile malondialdehid düzeyi, spektrofotometrik olarak tayin edildi.

Sonuçlar; Streptozosin ile diabet oluşturulmuş grupta retina lipid peroksidasyonu, 55.68 ± 6.04 nmol/gr doku; diabet oluşturulduktan sonra melatonin verilen grupta ise, 36.13 ± 7.48 nmol/gr doku; kontrol grubunda ise, 23.04 ± 4.03 nmol/gr doku olarak tespit edilmiştir (Tablo 3).

Kontrol grubu ile streptozosin ile diabet oluşturulmuş grup arasındaki retina lipid peroksid düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak çok anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Streptozosin ile diabet oluşturulduktan sonra melatonin verilen grup ile, diabetik grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.01$).

Sonuç olarak, streptozosin ile diabet oluşturulmuş ratlarda retina lipid peroksidasyonunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde artış saptandığı ($p < 0.001$), diabet oluşturulduktan sonra melatonin uygulanması, retina lipid peroksidasyonunu istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı saptandı ($p < 0.01$).

VII.KAYNAKLAR

1. İpbüker A. DM'un epidemiyolojisi. Sendrom. 1996; Nisan: 26-8.
2. Benson WE, Tasman W, Duane TD. Diabetes mellitus and the eye. In: Tasman W. Jeager EA(eds): Duane's Clinical Ophtalmology, CD-ROM ed, Clinical vol 3 Chap 30, JB. Lippincott, Philadelphia, 1996.
3. Orhan M. Diabetik retinopati. Diabetes mellitus mezuniyet sonrası eğitim kursu. Hacettepe, Ankara. 1997.
4. Hattat N. Diabet retinopatisinin etyopatogenezi. Oftalmoloji Retina-1 özel sayısı. 1993; 1: 13-5.
5. Wolff SP. Diabetes mellitus and free radicals. Br. Med.Bull. 1993; 49 (3): 642-52.
6. Kalak S, Akkuş İ, Çağlayan O, Can G, Zeren EM. Diabetes mellitus ve serbest radikaller. T Klin Tıp Bilimleri 1996; 16: 206-11.
7. Karam JH, Salber PR, Forsham PH. Pancreatic hormones- Diabetes mellitus. In: Greenspan FS. ed. Basic and Clinical Endocrinology. Third Edition Appleton -Lange, 1991: 592-650.
8. Barnet AH. Origin of the microangiopathic changes in diabetes. Eye. 1993; 7: 218-22.
9. Leslie RDG. Metabolic changes in diabetes. Eye.1993; 7: 205-8.
10. Frank RN. On the patogenesis of diabetic retinopathy. Ophtalmology. 1991; 98: 586-93.
11. Foster DW. Diabetes mellitus. In: Jean D. Wilson et al eds. Harrison's Principles of internal medicine-13th ed. McGraw-Hill, Newyork Inc. 1998: 2060-80.
12. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Cruickshanks KJ. Relationship of Hyperglcemia to the long term incidence and progression of diabetic retinopathy. Arch Intern Med. 1994; 154: 2169-78.
13. Giugliano D, Paolisso G, Ceriello A. Oxidative stress and diabetic Vascular complications. Diabetes Care, 1996; 19 (3): 257-67.
14. Gedik O. Diabetin kronik komplikasyonları: Ed. Koloğlu S. Temel ve Klinik Endokrinoloji. Medikal Network, Ankara 1996; 418-32.

15. Baybek T. Serbest oksijen radikalleri ve doku hasarı. MN Oftalmoloji. 1997; 4 (4): 271-4.
16. Braquet P, Doly M. Lipid peroxidation effects on isolated rat retina. Antioxidants in Therapy and Preventive Medicine. Edited by I. Emerit et al. Plenum Press, New York, 1986; 847-52.
17. Kagan VE, Shvedova AA, Novikov KN, Kozlov Yu P. Light-induced free radical oxidation of membrane lipids in photoreceptors of frog retina. Biochimica et Biophysica Acta, 1973; 330: 76-9.
18. Hiramitsu T, Hasegawa Y, Hirata K, Nishigaki I, Yagi K. Formation of lipoperoxide in the retina of rabbit exposed to high concentration of oxygen. Experienta, 1975; 32 (5): 622-3.
19. Yeh L, Ashton A. The increase in lipid peroxidation in diabetic rat lens can be reversed by oral sorninil. Metabolism, 1990; 39 (6): 619-22.
20. Karel N. Pineal bez ve ventrikül çevresindeki organlar. Editör; Koloğlu S. Temel ve Klinik Endokrinoloji. Ankara, Medical Network, 1996; 40-1.
21. Keleştimur H. İnsanda pineal bezin fonksiyonları. F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi 1996; 10; 1: 141-7.
22. Poeggeler B, Reiter RJ, Tan DX, Chen L, Manchester LC. Melatonin, hydroxyl radical mediated oxidative damage, and aging: A hypothesis. J. Pineal Res, 1993; 14: 151-68.
23. Cardinali DP, Golombek DA, Rosenstein RE, Cutrera RA, Esquifino AI. Melatonin site and mechanism of action: single or multiple? J. Pineal Res. 1991; 23: 32-9.
24. Reiter RJ, Tan DX, Poeggler B, Menendez A, Chen LD, Saarela S. Melatonin as a free radical scavenger: implications for aging and age-related diseases. Ann-N-Y-Acad-Sci. 1994; 31 (719): 1-12.
25. Koloğlu S. Diabetes mellitus. Editör: Koloğlu S. Temel ve Klinik Endokrinoloji. Ankara; Medical Network, 1996: 367-85.
26. Niffenegger JH, Fong D, Cavallerano J, Aiello LM. Diabetes mellitus. İn: Albert DM, Jakobiec FA. eds. Principles and practice of ophthalmology. Philadelphia. Saunders, 1994: 2925-36.

27. Kutlu M. Diabet komplikasyonlarında nonenzimatik glikolizasyon ve serbest radikaller. Diabetes mellitus mezuniyet sonrası eğitim kursu. Hacettepe, Ankara. 1997;19-43.
28. Bloch RS, Henkind R. Ocular manifestations of endocrine and metabolic disease. In: Tasman W, Jaeger EA(eds): Duane's Clinical Ophthalmology, CD-ROM ed, Clin vol 5 Chapt 21, J.B. Lippincott, Philadelphia, 1996.
29. Bron AJ, Sparrow J, Brown NAP, Harding JJ, Blakytyn R. The lens in diabetes. Eye. 1993; 7: 260-75.
30. Kanski JJ. Clinical Ophthalmology. 3rd ed., Oxford: Butterworth-Heinemann Ltd, 1994; 286-309.
31. Ghoul KJ, Costello MJ. Morphological changes in human nuclear cataracts of late-onset diabetics. Exp. Eye Res. 1993; 57: 469-86.
32. Klein R, Klein BEK, Moss SC, Cruickshanks KJ. The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. Arch. Ophthalmol. 1994; 112: 1217-28.
33. Abreu JRF, Silva R, Cunha-vaz JG. The blood-retinal barrier in diabetes during puberty. Arch. Ophthalmol. 1994;112: 1334-8.
34. Reichard P. Are there any glycemic threshold for the serious microvascular diabetic complications? J. Diabetes Complications 1995; 9: 25-30.
35. Marshall G, Garg SK, Jackson WE, Holmes DL, Chase P. Factors influencing the onset and progression of diabetic retinopathy in subjects with insulin-dependent diabetes mellitus. Ophthalmology. 1993; 100: 1133-9.
36. DCCT Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on progression of diabetic retinopathy in insulin-dependent diabetes mellitus: the Diabetes control and complications trial. Arch. Ophthalmol. 1995; 113: 36-51.

37. DCCT Resarch Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long -term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1993; 329: 977-86.
38. Ohkubo Y, Kishikawa H, Araki E, Miyata T, Isami S, Motoyoshi S, Kojima Y, Furuyoshi N, Shichiri M. Intensive insulin therapy prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with noninsulin dependent diabetes mellitus: a randomized prospective 6-year study. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1995; 28: 103-17.
39. Bloom SM, Brucker AJ. *Laser surgery of the posterior segment.* 2nd ed., Philadelphia, Lippincott-Raven Publlishers, 1997; 40-68.
40. Barrie T. Oculer complications of diabets after cataract extraction. *British Journal of Ophtalmology* 1993; 77: 198.
41. Moss SC, Klein R, Klein BEK. Oculer factors in the incidence and progression of diabetic retinopathy. *Ophtalmology.* 1994; 101: 77-83.
42. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in dabetes. *Diabetes.* 1991; 40: 405-12.
43. Brownlee M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Annu. Rev. Med.* 1995; 46: 223-34.
44. John WG, Lamb EJ. The maillard or browning reaction in diabetes. *Eye.* 1993; 7: 230-7.
45. Kıratlı H, Eldem B. Diyabetik retinopati ve tedavisi. *İlaç ve tedavi dergisi.* 1993; 6 (2): 95-8.
46. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science.* 1978; 201: 875-80.
47. McCord JM. The superoxide free radical: its biochemistry and pathophysiology. *Surgery.* 1983; 94 (3): 412-4.
48. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Konya. Mimoza yayınları.* 1995: 3-95.
49. Bulkley GB. The role of oxygen free radicals in human disease processes. *Surgery.* 1983; 94 (3): 407-11.

50. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 1993; 49 (3): 481-93.
51. Deby C, Pincemail J. Oxygen toxicity, free radicals, and defense mechanisms. In Fünfgeld EW. *Rökan (Ginkgo Biloba). Recent result in pharmacology and clinic.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1988; 56-70.
52. Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Ann. Rev. Biochem.* 1995; 64: 97-112.
53. McCay PB. Physiological significance of the lipid peroxidation. *Federation Proc (FASEB J).* 1981; 40: 173.
54. Aybey B, Tufan H, Ergenekon G. Serbest radikaller. *Türkderm.* 1996; 30: 116-22.
55. Köse K, Doğan P. Lipit peroksidasyonu. *Erciyes Tıp Dergisi.* 1992; (Ek 1): 340-50.
56. Barry MC, Grace PA. Ischaemia Reperfusion Injury. *Surgery.* 1997; 68-72.
57. Tappel AL, Dillard CJ. Invivo lipid peroxidation: Measurement via exhaled pentane and protection by vitamin E. *Federation Proc. (FASEBJ)* 1981; 40: 174-8.
58. Holley AE, Cheesman KH. Measuring free radical reactions in vivo. *Br Med Bull* 1993; 49: 494-505.
59. Slater TF. Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. *Methods in Enzymology.* 1984; 105: 283-93.
60. Loeper J, Goy J, Rozensztajn L, Bedu O, Moisson P. Lipid peroxidation and protective enzymes during myocardial infarction. *Clin. Chim. Acta.* 1991;196:119-26.
61. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp dergisi.* 1996;27: 41-50.
62. Kador PF. Biochemistry of the lens. Albert DM, Jacobiec FA. eds. *Principles and practice of ophtalmology.* Philadelphia: WB Saunders Co. 1994; 146-67.

63. Paterson CA, Delamere NA. The lens. Hart WM. ed. Adler's physiology of the eye. Ninth ed. Missouri. Mosby Year book, 1992; 348-90.
64. Spector A. Oxidative stress-induced cataract:mechanism of action. FASEB J.1995;9: 1173-82.
65. Spector A, Wang GM, Wang RR, Li WC, Kleiman NJ. A brief photochemically induced oxidative insult causes irreversible lens damage and cataract II. Mecanism of action. Exp. Eye res. 1995; 60: 483-93.
66. Halliwell B. Oxygen radicals and metal ions:Potential antioxidant intervention strategies, pp 526-30. In:Cross CE, Moderator. oxygen radicals and human disease. Ann. Intern. Med. 1987; 107: 526-45.
67. Bilgihan A. Deneysel olarak üveit oluşturulan kobaylarda ginkgo biloba ekstresinin retina lipid peroksid ve glutatyon peroksidaz düzeylerine etkisi. Ankara. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı,1992.
68. Anderson RE, Maude MB. Effect of lipid peroxidation on rhodopsin regeneration. Exp. Eye Res. 1985; 542: 28-32.
69. Naash MI, Nielsen JC. Regional distrubition of glutathione-S transferase in adult and premature human retinas. Invest. Ophtalmol. Vis. Sci. 1988;29(1): 149-52.
70. Szabo ME. Ischemia and reperfusion-induced histologic changes in the rat retina. Invest. Ophtalmol. Vis. Sci. 1991; 32(5): 1471-8.
Seddon JM. Vitamins, Minerals, and Maculer Degeneration. Arch. Ophtalmol. 1994;112: 176-8.
71. Seddon JM. Vitamins, Minerals, and maculer Degeneration. Arch. Ophtalmol. 1994;112: 176-8
72. West S, Vitale S, Hallfrisch J, Munoz B, Muller D, Bressler S, Bressler N. Are Antioxidants or supplements protective for age-related maculer degeneration. Arch. Ophtalmol. 1994; 112: 222-7.
73. Harding J. Cataract. Biochemistry, epidemiology and pharmacology. London. Chapman Hall Co. 1991;10-30.

74. Harding J. Pathophysiology of cataract. *Current Opinion in Ophthalmol.* 1993; 4; 1: 14-21.
75. Arendt J. Melatonin and the mammalian pineal gland. London. Chapman Hall, 1995; 27-158.
76. Erlich SS, Apuzzo MLJ. The Pineal gland: anatomy, physiology, and clinical significance. *J. Neurosurg.* 1985; 63: 321-41.
77. Korugan Ü. Pineal gland. Hatemi H. editör. *Endokrinoloji.* İstanbul, Yüce yayınları. 1997; 50-1.
78. Kvetnoy I, Sandvik AK, Waldum HL. The diffuse neuroendocrine system and extrapineal melatonin. *J of Molecular Endocrinol.* 1997;18: 1-3.
79. Tuncer M. Deneysel Önbeyin iskemi-reperfüzyon hasarında melatoninin antioksidan etkisi.. Ankara. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji anabilim Dalı, 1997.
80. Sirotkin AV, Schaeffer HJ. Direct regulation of mammalian reproductive organs by serotonin and melatonin. *J of Endocrinology* 1997;154: 1-5.
81. Reiter RJ, Meltz ML. Melatonin protects human blood lymphocytes from radiation-induced chromosome damage. *Mutat-Res.* 1995; 346;(1): 23-31. (Abstract).
82. Maestroni GJ, The immunoendocrine role of melatonin. *J. Pineal Res.* 1993;14: 1-10
83. Reiter RJ, Pablos MI, Agapito TT, Guerrero JM. Melatonin in the context of the free radical theory of aging. *Ann-N-Y-Acad-sci.* 1996;15; 786: 362-78.
84. Reiter RJ. The pineal gland and melatonin in relation to aging: a summary of the theories and of the data. *Exp-Gerontol.* 1995; 30; (3-4) 199-212.
85. Pieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli F. Melatonin: a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E. *Life Sci.* 1994; 55; (15): 271-6.

86. Pierpaoli W, Lesnikov V. Theoretical consideration on the nature of the pineal 'ageing clock'. *Gerontology*, 1997;43: 20-5
87. Ohkawa H, Ohisi N, Yagi K. Assay of lipid peroxides in Animal tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochemistry*. 1979;95: 351-8.
88. Ergün M. SPSS for Windows. Ocak yayınları. Ankara. 1995:124-85.
89. Maxwell SRJ. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs*. 1995;49(3): 345-61.
90. Nagasaka Y, Fujii S, Kaneko T. Effects of high glucose and sorbitol pathway on lipid peroxidation of erythrocytes. *Horm. Metab. Res*. 1987;19: 89-90.
91. İnal M, Kanbak G, Alataş Ö. Antioxidant enzyme activities in diabetes mellitus. *Tr. J. Of Medical Sciences*. 1994;21: 155-7.
92. Alataş Ö, İnal M. Erythrocyte Superoxide Dismutase Activity and Reduced Glutathione Level in Patients with Diabetes Mellitus. *Tr. J. of Medical Sciences*. 1994;21: 9-11.
93. Jain SK, Mcvie R, Duett J, Herbest JJ. Erythrocyte Membrane Lipid Peroxidation and Glycosylated Hemoglobin in Diabetes. *Diabetes*. 1989;38: 1539-43.
94. Hochstein P, Jain SK. Association of lipid peroxidation and polymerization of membrane proteins with erythrocyte aging. *Federation Proc. (FASEB J)*. 1981;40: 183-8.
95. Dickens BF, Mak TI, Weglicki WB. Lysosomal lipolytic enzymes, lipid peroxidation, and injury. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 1988;82: 119-23.
96. Armstrong D, Abdella N, Salman A, Miller N, Rahman EA, Bojanczyk M. Relationship of lipid peroxides to diabetic complications. *J Diab. comp*. 1992;6: 116-22
97. Arshad MAQ, Bahadra S, Cohen RM, Subbiah TR. Plasma lipoprotein peroxidation: a test to evaluate individual susceptibility to peroxidation. *Clin. Chem*. 1991; 37;10: 1756-8

98. Çolpan L, Aydın M, Güven Ş, Aydın İ. Diabetik hastalarda oksidan ve antioksidan maddeler arasındaki ilişki. *Endokrinolojide Yönelişler* 1992;4;3: 23-5
99. Abdella N, Awadi FA, Salman A, Armstrong D. Thiobarbituric acid test as a measure of lipid peroxidation in arap patients with NIDDM. *Daibetes Resarch*. 1990;15: 173-7.
100. Yağcı A, Alptekin N, Karcioğlu Z. Streptozosin ile diabet oluşturulmuş farelerde serumda ve göz dokularında lipit peroksidleri. *Ege tıp dergisi*. 1990;29;4: 975-7
101. Nishimura C, Kuriyama K. Alteration of lipid peroxide and endogenous antioxidant contents in retina of streptozotocin induced diabetic rats: Effect of vitamin A dnistration. *Japan J. Pharmacol*. 1985;37: 365-72
102. Murata T. Lipid peroxidation in diabetic rat retina. *Met Ped Ophtalmol* 1981;5: 83-7.
103. Hiramitsu TY. Role of lipid peroxide in the induction of retinopathy by x-irradiation. *Acta Soc Ophtalmol Japan* 1974;78: 819-25.
104. Thompson KH, Godin DV, Lee M. Tissue antioxidant status in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Biol. Trace Elem. Res*. 1992;35: 213-24
105. Uzel N, Sivas A, Uysal M, Öz H. Erythrocyte Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activities in patients with diabetes mellitus. *Horm. Metabol. Res*. 1987;19: 89-90.
106. Papachristodoulou D, Heath H. Ultrastructural alterations during the development of retinopathy in sucrose-fed and streptozotocin-diabetic rats. *Exp. Eye Res*. 1977;25: 371-84.
107. Anderson RE, Rapp LM. Lipid peroxidation and retinal degeneration. *Curr. Eye Res*. 1984;3(1): 223-7
108. Fischer LJ, Hamburger SA. Inhibition of Alloxan Action in Isolated Pancreatic Islets by Superoxide Dismutase, Catalase, and Metal Chelator. *Diabetes* 1980;29: 213-6.

109. Nishimura C, Saito T, Ito T, Omori Y, Tanimato T. High levels of alldose reductase and diabetic retinopathy in NIDDM patients. *Diabetologia*. 1994;37: 328-30.
110. Yamamoto H, Tang H. Melatonin attenuates L-cysteine -induced seizure and lipid peroxidation in the brain of mice. *J. Pineal of Res*. 1996;21;(2): 108-13.
111. Princ FG, Jucnat AA, Maxit AG, Cardalda C, Battle A. Melatonin's antioxidant protection against (aminolevulinic acid-induced oxidative damage in rat cerebellum. *J. Pineal Res*. 1997;23: 40-6.
112. Pierrefiche G, Topall G, Courboin G, Henrier I, Laborit H. Antioxidant activity of melatonin in mice. *Res Comm in Chem Pathology and Pharmacology*. 1993;80: 211-23.

