

ÖZGÜN ARAŞTIRMA / ORIGINAL ARTICLE

Yaşlanma sürecinde melatoninin pankreas dokusundaki oksidan ve antioksidanlara etkisi

The effects of melatonin on the oxidants and antioxidants in the pancreatic tissue during the aging process

Hakan Yüzüak¹, Kazime Gonca Akbulut², Sara Yüzüak³

ÖZET

Amaç: Melatoninin; genç (4 aylık) ve orta yaşlı (14 aylık) sıçanlarda pankreas dokusunda malondialdehid (MDA), nitrik oksit (NO) ve glutatyon (GSH) düzeyleri üzerindeki etkisini araştırmak amaçlandı.

Yöntemler: Bu deneysel çalışmada genç ve orta yaşlı erkek Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar; melatonin verilen genç sıçanlar ve orta yaşlı sıçanlar, melatonin verilmeyen genç sıçanlar ve orta yaşlı sıçanlar şeklinde gruplandırıldı. Melatonin; 10 mg/kg/gün (% 1'lik etanol-phosphate buffered saline (PBS) çözeltisinde, 0,2 cc) olmak üzere, cerrahiye kadar 7 gün boyunca her gün saat 18:00'de subkutan olarak uygulandı. Kontrol grubundaki sıçanlara ise 7 gün süreyle 0,2 cc %1'lik Etanol-PBS, her gün saat 18:00'de subkutan olarak uygulandı. 7. günün sonunda sıçanların kalbinden kan alınıp takiben dekapite edilerek pankreas örnekleri alındı. Alınan örneklerde oksidan stresin göstergesi olarak MDA ve NO düzeyleri ve antioksidan etkinliği olan GSH düzeyi ölçüldü.

Bulgular: Genç sıçanların kontrol ve deney grupları arasında NO ve MDA düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, genç sıçanların melatonin grubunda pankreas GSH düzeyi anlamlı olarak yüksekti. Orta yaşlı sıçanların kontrol ve melatonin grubu karşılaştırıldığında; pankreas NO düzeyinde anlamlı azalma, pankreas GSH düzeyinde anlamlı artma varken; pankreas MDA düzeyindeki azalma anlamlı değildi. Genç ve orta yaşlı sıçanların kontrol grupları karşılaştırıldığında, pankreas MDA düzeyleri arasında anlamlı bir artış bulundu. Pankreas NO ve GSH düzeyleri, hem genç ve hem de orta yaşlı sıçanların kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı değişiklik gözlenmedi.

Sonuç: Yaşlanma ile pankreas dokusunda serbest radikaller artarken; antioksidan savunma kapasitesi azalmaktadır. Ekzojen melatonin, serbest radikal düzeylerini azaltması ve antioksidanların etkisini artırması sayesinde, oksidatif strese karşı pankreası koruyabilir.

Anahtar kelimeler: Melatonin, pankreas, malondialdehid, nitrik oksit, glutatyon, yaşlanma

ABSTRACT

Objective: To investigate the effect of melatonin on the levels of malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO) and glutathione (GSH) of pancreas tissues at young (4 months) and middle-aged (14 months) rats.

Methods: Young and middle-age male Wistar albino rats were used in this experimental study. Rats were divided into two groups: melatonin applied; young rats, middle-aged rats and melatonin was not applied; young rats and middle-aged rats. Melatonin was administered at a dose of 10 mg/kg/day in 0.2 cc-% 1 ethanol-phosphate buffered saline (PBS) solution via subcutaneous way for 7 days at 18:00 until surgery. In control group, 0.2 cc-%1 Ethanol-PBS was applied for 7 days at 18:00. At the end of seven days, MDA, NO levels which are indicators of oxidant stress and GSH were detected.

Results: Although there were no significant difference between control and experiment group for the NO and MDA level of melatonin group of young rats, there were significant difference in the GSH levels of pancreas tissues for melatonin levels. NO levels of the pancreas tissues were significantly reduced and GSH levels were significantly increased in the melatonin group of middle aged rats compared to the control group. The MDA levels of pancreas tissues were significantly increased in the middle aged control group compared to young control group. The MDA levels of pancreas tissues were not significantly different in melatonin group of middle-aged compared to control group. The NO and the GSH levels of the pancreas tissues were not significantly different between the control groups of young and middle aged rats.

Conclusion: Aging may be related with an increase in free radicals and a reduction in the antioxidant capacity of the tissues and exogenous melatonin may play a protective role in aging by means of its action on free radicals. *J Clin Exp Invest* 2014; 5 (4): 583-588

Key words: Melatonin, pancreas, malondialdehyde, nitric oxide, glutathione, aging

¹ Batman Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Batman, Türkiye

² Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

³ Sağlık Bakanlığı, Batman, Türkiye

Correspondence: Hakan Yüzüak,

Batman Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Batman, Türkiye Email: yuzuakhakan@gmail.com

Received: 25.09.2014, Accepted: 20.10.2014

Copyright © JCEI / Journal of Clinical and Experimental Investigations 2014, All rights reserved

GİRİŞ

Yaklaşık 50 yıl önce Harman tarafından ortaya atılan serbest radikal teorisi; yaşlanmaya eşlik eden dejeneratif hastalıkları, radikallerin lipid, nükleik asit ve protein gibi yapılar üzerindeki zararlı etkileri ile açıklar [1]. Biyolojik sistemler aerobik şartlarda oksidantlara maruz kalır. Oksidantlar genellikle reaktif oksijen ürünleri (ROS) ya da reaktif nitrojen ürünleri (RNS) olarak oluşur [2]. ROS ve RNS ilişkisi ve inflamasyonun yaşlanma süreci ile ilgili olduğu gösterilmiştir [3]. Oksidatif stres; Alzheimer, Parkinson, Diabetes mellitus gibi pek çok hastalığın patogeneğinde rol oynar [4]. Ayrıca oksidatif stres ve yaşlanma arasında da doğrudan bir ilişki vardır. Yapılan çalışmalarda genellikle yaşlanma ile birlikte dokulardaki serbest radikal düzeylerinin arttığı bildirilmektedir [5-7]. Hem ekzokrin, hem de endokrin salgı yapan bir bez olan pankreasla ilgili yapılan çalışmalarda, yaş ilerledikçe serbest radikal düzeyinin arttığı, antioksidan kapasitenin ise düştüğü bildirilmiştir [8].

Melatonin, karanlıkta pineal bezden salgılanan, uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur [9]. Birçok biyolojik etkisinin yanısıra, güçlü bir radikal süpürücü özelliğe sahiptir [10]. Yaşlanma ile birlikte melatonin düzeyinin azaldığı belirtilmiştir [11]. Melatonin düzeyinde görülen bu fizyolojik azalışa karşı ekzojen melatonin uygulanmasının yaşlanma ile birlikte artmış radikal hasarını önleyebileceği belirtilmiştir [12]. Bu amaçla, ekzojen melatonin uygulanması sonucu yaşa bağlı olarak pankreas dokusunda; oksidan hasarın göstergesi olarak malondialdehid (MDA) ve nitrik oksit (NO), antioksidan kapasitenin göstergesi olarak ise glutatyon (GSH) düzeyleri üzerinde meydana gelen değişimleri belirledik.

YÖNTEMLER

Araştırma için Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan onay alındı (GÜ.ET-08.001). Çalışma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları laboratuvarında gerçekleştirildi. Araştırmada kullanılan Melatonin; MDA, GSH ve NO tayinlerinde kullanılan kimyasal maddeler Sigma (Sigma-Aldrich Co. LLC. St Louis, Missouri, USA) firmasından, deney hayvanları Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü'nden temin edildi.

Çalışmamızda 4 aylık genç erkek ve 14 aylık orta yaşlı erkek Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Tüm hayvanlar, standart ışık (12 saat gün ışığı / 12 saat karanlık) ve ısıda (22 +/-2°C) normal musluk

suyu ve standart sıçan yemi ile beslenmenin sağlandığı laboratuvar ortamında kaldılar. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı: 1- Melatonin verilen genç sıçanlar (deney grubu, n=8), 2- Melatonin verilmeyen genç sıçanlar (kontrol grubu, n=8), 3- Melatonin verilen orta yaşlı sıçanlar (deney grubu, n=10), 4- Melatonin verilmeyen orta yaşlı sıçanlar (kontrol grubu, n=10). Deney grubundaki sıçanlara 10 mg/kg/gün melatonin; 0,2 cc %1'lik etanol + PBS (Fosfat ile tamponlanmış tuz çözeltisi) içinde subkutan olarak 7 gün süreyle uygulandı. Kontrol grubundaki sıçanlara ise 7 gün süreyle 0,2 cc %1'lik Etanol + PBS subkutan uygulandı. Bir haftanın sonunda 50 mg/kg ketamin HCL ve 10 mg/kg dozunda ksilazin intraperitoneal yolla verilerek sıçanlarda anestezi oluşturuldu. Cerrahi anestezi sonrası sıçanların kalbinden kan alınıp takiben dekapite edilerek pankreas örnekleri alındı. Alınan pankreas dokusu azot tankında derhal dondurularak çalışılmak üzere -86 °C'de derin dondurucuda saklandı. Alınan örneklerde oksidan stresin göstergesi olarak MDA ve NO düzeyleri ile antioksidan olarak fonksiyon gören GSH düzeyi ölçüldü.

TAYİN YÖNTEMLERİ

Doku Lipid Peroksidasyon Düzeyinin Tespiti

Doku örneklerinde lipid peroksidasyon, tiyobarbitürik asit (TBARS) reaksiyonu esasına dayanan spektrofotometrik yöntemle belirlendi. Örnekler trikloroasetik asit (10 ml %10'luk trikloroasetik asit içerisinde 1 g doku) içerisinde homojenize (Heideloph Diap 900, Germany) edildi. Homojenatların 3.000 rpm 10 dakikalık santrifüj (Hermle Z 323 K, Germany) edildikten sonra, 750 µL süpernatant alınarak aynı hacimdeki tiyobarbitürik asit ile karıştırıldı ve tüpler 100 °C' da kaynar su banyosu içerisinde 15 dakika bekletildi. Örneklerin absorbansları spektrofotometre (UV 1208, Shimadzu, Japan) ile 532 nm dalga boyunda ölçüldü. 1,56 x 10⁵ M⁻¹ cm⁻¹ katsayısı kullanılarak MDA eşdeğeri olarak ifade edildi. Sonuçlar nmol/g doku olarak verildi.

GSH Düzeylerinin Tayini

Doku GSH düzeyleri modifiye Ellman metodu ile belirlendi. Homojenatların 4 °C' da soğutmalı santrifüjde 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra, 0,5 ml süpernatant alınarak üzerine 2 ml 0,3 M Na₂HPO₄ 2H₂O solüsyonu eklendi. Bu işlemin ardından elde edilen karışıma 0,2 ml'lik dithiobisnitrobenzoate (0,4 mg/ml % 1 sodyum sitrat) solüsyonu eklendi. Karışım çalkalandıktan sonra oda sıcaklığında 5 dakika bekletildi ve 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede (UV 1208, Shimadzu, Japan)

köre karşı (distile su) ölçüm yapıldı. GSH düzeyleri 13.600 mol-1cm-1 değeri kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar μmol GSH/g doku olarak ifade edildi.

Doku NO Düzeyi Tayini

NO düzeyleri vanadium chloride (VCl3) Griess yöntemi ile belirlendi. NO tayininden önce dokular fosfate buffer salin'de (PBS, ph: 7) 5 dakika boyunca santrifüj (2000 rpm) edildi. Santrifüjün ardından, 0,25 ml'lik 0,3 M NaOH elde edilen süpernatantlara eklendi. Örneklerin oda sıcaklığında 5 dakikalık inkübasyonunun ardından 0,25 ml %5 (w/v) ZnSO4 deprotenizasyon için elde edilen karışıma eklendi. Karışım 20 dakika boyunca 3.000 rpm'de santrifüj edildi, elde edilen süpernatantlar (100 μL) çalışmada kullanıldı. Nitrat standart solüsyonu seri olarak dilüe edildi. Ardından Vanadium III chloride (VCl3) (100 μL) ve Griess solüsyonu sulphanilamide (SULP) (50 μL) ve N-(1-naphtyl) ethylenediamide dihydrochloride (NEDD) (50 μL) kuyucuklara eklendi. 45 dakikalık (37 °C) inkübasyonunun ardından örnekler Elisa okuyucusu kullanılarak 540 nm'de ölçüldü. Sonuçlar $\mu\text{mol/g}$ doku olarak ifade edildi.

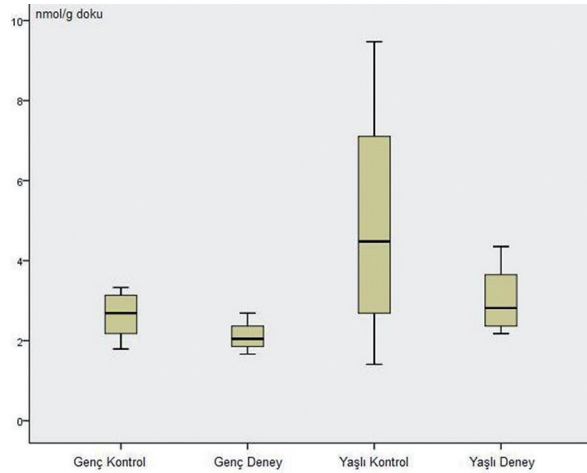
İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi; SPSS programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) kullanılarak Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Veriler medyan (minimum – maksimum) olarak ifade edildi. Sonuçlar $p < 0.05$ olması durumunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Dokuda MDA düzeyleri

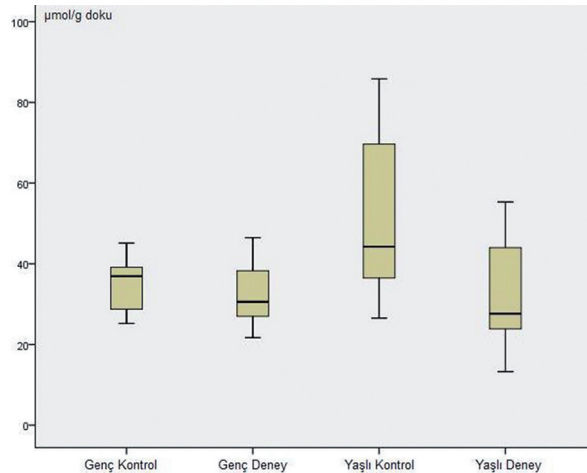
Yaşlanma pankreas doku MDA düzeyini anlamlı olarak arttırdı (Tablo 1, Şekil 1). Genç ve orta yaşlı sıçanların kontrol grupları arasında pankreas MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulundu (sırasıyla, 2,69 (1,79–3,33) nmol/g ve 5,82 (1,41–9,47) nmol/g; $p=0,029$). Genç sıçanlarda; kontrol grubu ve deney grubu karşılaştırıldığında, pankreas MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla; 2,69 (1,79-3,33) nmol/g ve 2,05 (1,66-2,69) nmol/g; $p=0,058$). Orta yaşlı sıçanlarda ise; kontrol grubu ve melatonin uygulanan grup karşılaştırıldığında pankreas MDA düzeyleri arasında, melatonin uygulanan grupta azalış gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (sırasıyla; 5,82 (1,41-9,47) nmol/g ve 3,01 (2,18-4,35) nmol/g; $p=0,082$).



Şekil 1. Melatonin uygulanmayan ve uygulanan, genç ve orta yaşlı sıçanlarda pankreas dokusundaki malondialdehid (MDA) düzeyleri (nmol/g doku)

Dokuda NO düzeyleri

Yaşlanma pankreas NO düzeyi üzerinde etkili bulunmadı (Tablo 1, Şekil 2). Genç ve orta yaşlı sıçanların kontrol grupları pankreas NO düzeyleri bakımından karşılaştırıldığında, yaşlanma ile birlikte bir artış olduğu gözlemlendi ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (sırasıyla; 36,93 (25,21-45,12) $\mu\text{mol/g}$ ve 44,23 (26,54-85,81) $\mu\text{mol/g}$; $p= 0,110$). Ekzojen melatonin uygulaması sonucu genç sıçanlarda; pankreas NO düzeyleri arasında anlamlı fark bulunamadı (sırasıyla; 36,93 (25,21-45,12) $\mu\text{mol/g}$ ve 30,57 (21,67-46,44) $\mu\text{mol/g}$; $p=0,636$). Orta yaşlı sıçanlarda ise; melatonin uygulaması sonucu pankreas NO düzeyi anlamlı olarak azaldı (sırasıyla; 44,23 (26,54-85,81) $\mu\text{mol/g}$ ve 27,65 (13,27-55,29) $\mu\text{mol/g}$; $p=0,019$).



Şekil 2. Melatonin uygulanmayan ve uygulanan, genç ve orta yaşlı sıçanlarda pankreas dokusundaki nitrik oksit (NOx) düzeyleri ($\mu\text{mol/g}$ doku)

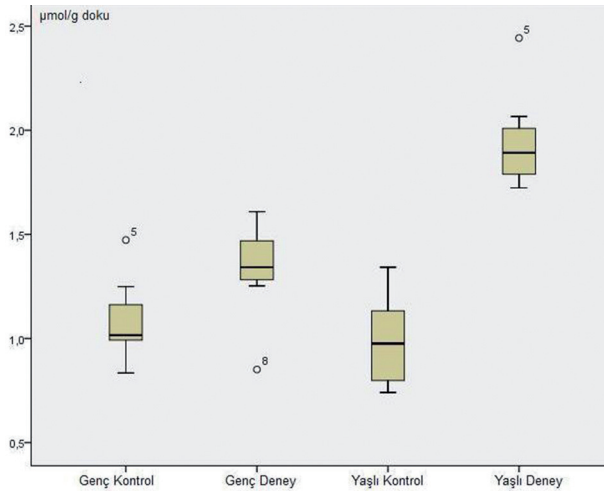
Dokuda GSH düzeyleri

Yaşlanma pankreas dokusunda GSH düzeyi üzerinde etkili olmadı (Tablo 1, Şekil 3). Genç ve orta yaşlı sıçanların kontrol grupları arasında pankreas GSH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı (sırasıyla 1,02 (0,83-1,47) $\mu\text{mol/g}$ ve 1,07 (0,74-1,34) $\mu\text{mol/g}$; $p=0,859$). Genç sıçanlarda; ekzojen melatonin uygulaması pank-

reas GSH düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttırdı (sırasıyla; 1,02 (0,83-1,47) $\mu\text{mol/g}$ ve 1,34 (0,85-1,61) $\mu\text{mol/g}$; $p=0,036$). Orta yaşlı sıçanlarda da ekzojen melatonin uygulaması pankreas GSH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış oluşturdu (sırasıyla; 1,07 (0,74-1,34) $\mu\text{mol/g}$ ve 1,92 (1,72-2,44) $\mu\text{mol/g}$; $p=0,001$).

Tablo 1. Melatonin uygulanmayan ve uygulanan, genç ve orta yaşlı sıçanlarda pankreas dokusundaki Malondialdehid, Nitrik Oksit ve Glutasyon düzeyleri ve p değerleri

Parametreler	Kontrol grubu (genç ratlar)	Melatonin grubu (genç ratlar)	p	Kontrol grubu (orta yaşlı ratlar)	Melatonin grubu (orta yaşlı ratlar)	p
Malondialdehid (nmol/g doku)	2,69 (1,79-3,33)	2,05 (1,66-2,69)	0,058	5,82 (1,41-9,47)	3,01 (2,18-4,35)	0,082
Nitrik oksit ($\mu\text{mol/g}$ doku)	36,93 (25,21-45,12)	30,57 (21,67-46,44)	0,636	44,23 (26,54-85,81)	27,65 (13,27-55,29)	0,019
Glutasyon ($\mu\text{mol/g}$ doku)	1,02 (0,83-1,47)	1,34 (0,85-1,61)	0,036	1,07 (0,74-1,34)	1,92 (1,72-2,44)	<0,001



Şekil 3. Melatonin uygulanmayan ve uygulanan, genç ve orta yaşlı sıçanlarda pankreas dokusundaki glutasyon (GSH) düzeyleri ($\mu\text{mol/g}$ doku)

TARTIŞMA

Yaşlanma ile artan serbest radikal düzeyleri ve azalan antioksidan kapasitesi, serbest radikal teorisinin önemli dayanaklarından. Organizmadaki oksidan stres ile antioksidan kapasite dengesinin oksidan stres lehine bozulması sonucu yaşlanma süreci hızlanmaktadır [5]. 5 haftalık ve 20 aylık hamsterlarda yapmış olduğu çalışmada, yaşlanma ile orta beyinde, serebellumda, akciğerde, kalpte, dalak ve böbrekte oksidatif stresi artmış bulurken; serebrum-

da, medulla oblongatada, karaciğer ve pankreasta anlamlı artış bulmamışlardır [13].

Yaşlanma ile MDA düzeyinde artış olduğunu bildiren çalışmaların [14] yanı sıra; MDA düzeyinin değişmediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur [15]. Çalışmamızda; orta yaşlı sıçanların pankreas dokusunda anlamlı MDA artışı bulunmuştur.

Yaşlanma ile birlikte insan ve sıçanda çeşitli dokularda NO düzeylerinin arttığı bildirilmiştir [15]. NO'nun fizyolojik konsantrasyondaki yapımı hücre fonksiyonların var olan dengesinin sürdürülmesi için gerekli iken; yüksek düzeydeki yapımı oksidatif stresi tetiklemektedir. Cuesta ve ark.; pankreas NO düzeyinin gençlerle karşılaştırıldığında yaşlı farelerde arttığını göstermişlerdir. Melatoninin 10 mg/lık uygulaması yaşlanmayı kolaylaştırılan farelerde (SPAM 8) NO düzeyini azaltmaktadır [16]. Çalışmamızda melatonin uygulaması yaşlılarda pankreas NO düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı azaltmıştır.

Glutasyon hücreyi oksidatif strese karşı koruyan en önemli antioksidanlardan biridir [17]. Fizyolojik düzeylerdeki melatoninin, antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını ya da aktivitelerini artırarak, oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye ettiği, oksidatif stresi baskıladığı ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir [10,12]. Çalışmamızda hem genç hem de orta yaşlı sıçanlara melatonin uygulandığında; literatürdeki diğer çalışmalar ile

uyumlu olarak pankreas GSH düzeyi anlamlı olarak artmıştır.

Melatoninin düzeyi memelilerde yaşlanma ile azalır. Rasmussen ve ark. genç ve orta yaşlı sıçanlarda yaşa bağlı melatonin düzeyinde azalma bulmuşlardır. Bu çalışmaya göre, melatonin uygulanması; hem genç hem de yaşlı bireylerde MDA düzeyini azaltmıştır [18].

Yaşlanma ile artış gösteren hastalıklarda; melatonin uygulanmasının çeşitli organlarda (beyin, karaciğer, akciğer) oksidatif hasarı düzeltici etki gösterdiği değişik yayınlarda bildirilmiştir [19,20]. Pankreas üzerinde yapılmış çalışmalarda da, melatoninin pankreasta koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir [21]. Pankreasta oksidatif stresi artırmaya yönelik diğer deneysel modellemelerde de antioksidanların koruyucu etkileri araştırılmıştır. Casares ve ark.'nın çalışmasında; iskemi-reperfüzyonun neden olduğu oksidatif stres, pankreasta azalmış enzimatik (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz) ve nonenzimatik (GSH) antioksidanlar ile birlikte olup, melatonin tedavisi ile antioksidan enzimler artış göstermiştir [22]. Caerulein ile oluşturulan deneysel pankreatitte; melatonin uygulanmasının yükselmiş MDA düzeyini azaltarak; pankreası oksidatif hasara karşı koruduğu bildirilmiştir [23]. Streptozotosin ve alloxan ile oluşturulan deneysel diabette melatonin uygulamasının pankreasta koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir [24]. Streptozotosine bağlı diabet modelinde melatonin uygulaması serbest radikal düzeyini azaltmış ve NO düzeyindeki artışı radikal temizleyici özelliği ile önlemiştir [25], benzer bir çalışmada farelerin retinalarında ki MDA değişimi incelenmiş ve melatoninin MDA düzeyini azaltıcı etkisi gösterilmiştir [26]. Yaşlanma sürecinde artan oksidatif stres ve NO düzeyi inflamasyona zemin hazırlayarak pankreas dokusunda yaşa bağlı olarak glukoz toleransının azalması ve diyabete yatkınlığa neden olabilir.

Melatonin; antioksidan ve radikal süpürücü etkisini, genç sıçanlar ile karşılaştırıldığında, yaşlı sıçanlarda daha belirgin olarak göstermektedir [27]. Kornatowska ve ark. çalışmalarında genç ve orta yaşlı sıçanlar intra abdominal yağ, plazma insülin ve leptin düzeyleri bakımından araştırılmıştır. Yaşa bağlı olarak bu parametreler artarken; melatonin düzeyi azalmıştır [27]. Genç gruba melatonin uygulanması yukarıdaki parametreler üzerinde etkili olmaz iken; orta yaşlı sıçanlara melatonin uygulanması, azalmış melatonin düzeyini artırmış ve bu parametreleri azaltarak etkili olmuştur. Bulgularımız, melatonin uygulanmasının; pankreas dokusunda total GSH miktarını artırarak bu organın serbest

radikallere karşı savunmasını arttırdığını düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Harman, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956;11:298-300.
2. Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabet Stud* 2010;7:15-25.
3. Rodríguez MI, Escames G, López LC, et al. Chronic melatonin treatment reduces the age-dependent inflammatory process in senescence-accelerated mice. *J Pineal Res* 2007;42:272-279.
4. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 1993;90:7915-7922.
5. Cand F, Verdetti J, Superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase and lipid peroxidation in the major organs of the aging rats. *Free Radic Biol Med* 1989;7:59-63.
6. Akbulut H, Akbulut KG, Gönül B. Age-related changes in malondialdehyde and glutathione levels of gastric mucosa of the rats and effects of exogenous melatonin. *Digest Dis Sci* 1997;42:1381-1382
7. Akbulut KG, Gönül B, Akbulut H. Differential effects of pharmacological doses of melatonin on MDA and GSH levels in young and old rats. *Gerontology* 1999;45:67-71.
8. Jaworek J, Konturek SJ, Tomaszewska R, et al. The circadian rhythm of melatonin modulates the severity of caerulein-induced pancreatitis in the rat. *J Pineal Res* 2004;37:161-170.
9. Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, et al. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J Am Chem Soc* 1958; 80:2587.
10. Reiter RJ, Tan DX, Kim SJ, Wenbo QI; Melatonin as a pharmacological agent against oxidative damage to lipids and DNA. *Proc West Pharm Soc* 1998;41:229-236.
11. Fabris N. Biomarkers of aging in the neuroendocrine-immune domain, time for a new theory of aging. *Ann NY Acad Sci* 1992;663:335-348.
12. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci* 2000;7:444-458 .
13. Takabayashi F, Tahara S, Kaneko T, et al. Accumulation of 8-Oxo-2'-Deoxyguanosine (as a biomarker of oxidative DNA damage) in the tissues of aged hamsters and change in antioxidant enzyme activities after single administration of N-Nitrosobis (2-Oxopropyl) amine. *Gerontology* 2004;50:57-63.
14. Kostka T, Drai J, Berthouze SE, et al. Physical activity, aerobic capacity and selected markers of oxidative stress and the anti-oxidant defence system in healthy active elderly men. *Clin Physiology* 2000;20:185-190.

15. Kasapoglu M, Özben T. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative stress markers in aging. *Exper Gerontol* 2001;36:209-220.
16. Cuesta S, Kireev R, Garcı C, et al. Beneficial effect of melatonin treatment on inflammation, apoptosis and oxidative stress on pancreas of a senescence accelerated mice model. *Mech Ageing Dev* 2011;132:573-582.
17. Barja de Quiroga G, López-Torres M, Pérez-Campo R. Relationship between antioxidants, lipid peroxidation and aging *EXS* 1992;62:109-123.
18. Rasmussen DD, Mitton DR, Larsen SA, Yellon SM. Aging-dependent changes in the effect of daily melatonin supplementation on rat metabolic and behavioral responses. *J Pineal Res* 2001;31:89-94.
19. Reiter J. Functional pleiotropy of the neurohormone melatonin: antioxidant protection and neuroendocrine regulation. *Front Neuroendocrinol* 1995;16:383-415.
20. Melchiorri D, Reiter RJ, Attia AM, et al. Potent protective effect of melatonin on in vivo paraquat-induced oxidative damage in rats. *Life Sci* 1994;56:83-89.
21. Ebel H, Peschke D, Bromme HJ, Morke W, Blume R, Peschke E. Influence of melatonin on free radical-induced changes in rat pancreatic beta-cells in vitro. *J Pineal Res* 2000;28:65-72.
22. Casares FCM, Javier FJP, Collado BJA, et al. Melatonin reduces apoptosis and necrosis induced by ischemia/reperfusion injury of the pancreas. *J Pineal Res* 2006;40:195-203.
23. Eşrefoğlu M, Gül M, Ateş B, et al. Antioksidative effect of melatonin, ascorbic acid and N-acetylcysteine on caerulein induced pancreatitis and associated liver injury in rats. *World J Gastroenterol* 2006;12:259-26
24. Tiedge M, Lortz S, Drinkgern J, Lenzen S. Relation between antioxidant enzyme gene expression and antioxidative defense status of insulin producing cells. *Diabetes* 1997;46:1733-1742.
25. Sudnikovich EJ, Maksimchik YZ, Zabrodskaya SV. Melatonin attenuates metabolic disorders due to streptozotocin-induced diabetes in rats. *Eur J Pharmacol.* 2007;569:180-187.
26. Ataş M, Çıtırık M, Sönmez K, Çeliker Ü. The Protective Effect of Melatonin on the Retinas of Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2011;31:375-379
27. Kornatowska KK, Golec K, Czuczejko J, et al. Effect of melatonin on the oxidative stress in erythrocytes of healthy young and elderly subjects. *J Pineal Res* 2007;42:153-158.