

Radyasyon Hasarının Testis ve Böbreklerdeki Malonyldialdehit Düzeyi (MDA) Üzerine Etkisi ve Melatonin ile Önlenmesi

The Effect of Radiation Damage to Malonyldialdehyde Levels in Testes and Kidney Tissue and to Prevent with Melatonin

Fatih Rüşti YALÇINKAYA¹, Arslan ARDIÇOĞLU², Nevin İLHAN³, Işıl UĞUR⁴, A. Kerim Kasım BALTAÇI⁵

¹Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Hatay

²Firat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Elazığ

³Firat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ

⁴Sağlık Bakanlığı Ankara Onkoloji Hastanesi Radyasyon Onkolojisi Bölümü, Mersin

⁵Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Konya

Özet

Amaç: İnsanlar tedavi amaçlı olarak sıklıkla radyasyonla karşılaşmaktadır. Radyasyon belirli bölgelere uygulanır, fakat tüm vücut radyasyondan etkilenmektedir. Bu çalışmada radyoterapinin ürogenital sistem üzerine etkileri ve bu etkilerin melatonin ile önlenip önlenemeyeceğinin araştırılması amaçlandı.

Yöntem: 200-250 gr arasında değişen Wistar tipi sıçanlardan her biri yedi sıçan içeren dört grup oluşturuldu. Radyasyon uygulamasında Picker C 9 Cobalt 60 cihazında, SSD: 90 cm, %90 izodoz eğrisi kullanıldı. Her seansta 32 Gy/dk'lık 11dk 30sn süreyle toplam 360 cGy olmak üzere 40x40 cm'lik alanda gamma ışını verildi. Seanslar 12 saat arayla uygulandı. Birinci gruba radyasyon uygulamaksızın 12 saat arayla periton içine serum fizyolojik uygulandı (RK). İkinci gruba 2x360 cGy radyasyon uygulandıktan sonra 12 saat arayla periton içine serum fizyolojik uygulandı (RS). Üçüncü gruba 2x360 cGy radyasyon uygulandıktan sonra 12 saat arayla periton içine 2x5 mg/kg/gün beş gün süreyle melatonin uygulandı (RM). Dördüncü gruba radyasyon ya da intraperitoneal hiçbir ilaç uygulaması yapılmadı (SH). Beşinci günün sonunda bütün gruplar dekapite edilerek testisler ve böbrekler alındı. Dokular homojenize edilerek lipid peroksidasyonunun sekunder bir ürünü olarak oluşan malonyldialdehit (MDA) düzeylerine bakıldı.

Bulgular: Radyasyon ya da intraperitoneal hiçbir ilaç uygulamasının yapılmadığı SH grubuyla radyasyon almaksızın intraperitoneal serum fizyolojik uygulanan RK grubu arasında MDA düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Radyasyon almaksızın intraperitoneal serum fizyolojik alan RK grubu ile radyasyon+intraperitoneal serum fizyolojik alan RS grubu arasında MDA düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). RS grubu ile radyasyon+melatonin alan RM grubu arasında MDA düzeyleri bakımından anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Radyasyon hasarının melatonin ile azaltılabileceği gözlemlendi.

Sonuç: Melatonin, böbrek ve testislerde oluşan radyasyon hasarını azaltmada yararlı olabilir.

Anahtar sözcükler: radyasyon, MDA, melatonin

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2009;2(1):14-17

Geliş Tarihi : 06.02.2009

Kabul Tarihi : 14.04.2009

Yazışma Adresi: Dr. Fatih Rüşti Yalçinkaya

Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Hatay

Tel : 0-326-2213211

Faks : 0-326-2213211

E-posta : frykaya@hotmail.com

Abstract

Objective: The humans are frequently to be expose with radiation for therapy. Radiation is to applied for spesific localisation but whoole body is attacked with radiation. In this study we investigated the effect of radiotherapy to urogenital system and whether melatonin prevents the possible effect of radioterapy or not.

Method: We formed four groups of Wistar rat and each group involves seven rats. The rats weigh 200-250 gram. In radiation process, SSD: 90 cm, 90% isodose curve was used in Picker C 9 Cobalt 60 machine. At each seance, 32 cGy/minute and 11 hour 30 minute, totally 360 cGy, in 40x40 cm space gamma rays were given. The seances were done at 12 hours intervals. Without giving radiation to the first group, at 12 hours intervals, serum physiological was applied to intraperitoneum (RK). To the second group, after 2x360 cGy radiation was applied; serum physiological was applied to intraperitoneum at 12 hours intervals (RS). To the third group, after 2x360 cGy radiation was applied, at 12 hours interval, melatonin was applied in peritoneum 2x5 mg/kg/per days for five days (RM). To the fourth group was neither radiation, nor melatonin was applied (SH). On the fifth day, by decapitating all the groups, testes and kidney tissues was to be extirpation. The tissues was to be homogenization and looking for tissue malonyldialdehyde levels. Malonyldialdehyde is a parameter which to expose the effect of free radicals.

Results: There was not much difference between the SH group which took neither radiation nor serum physiologic to the RK group which took no radiation but intreperitoneal serum physiologic ($p>0.05$). We found remarkable difference between the RK group which took no radiation but intreperitoneal serum physiologic and the RS group which took both radiation and intraperitoneal serum physiologic ($p<0.05$). There was difference between the RS group which took both radiation and intraperitoneal serum physiologic and RM group which took both radiation and melatonin ($p<0.05$).

Conclusion: Melatonin, to be decrease of radiation damage for testes and kidney tissue.

Key Words: radiation, MDA, melatonin.

Giriş ve Amaç

Onkoloji sahasında radyoterapinin önemli bir yeri vardır. İnsanlar tedavi amaçlı olarak sıklıkla radyasyonla karşılaşmaktadır. Her ne kadar radyasyon belirli bölgelere özgün olarak uygulanmaktaysa da vücut tamamen radyasyondan etkilenmektedir (1-4). İyonize radyasyon, spermatogenetik hücrelerde fonksiyon kaybı, mutasyonlar ve spermatozoalarda kromozomal bozulmalara neden olabilmektedir (1,3). Bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron içeren atom veya moleküllere serbest radikal denir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijen radikalleridir. Aktive olmuş fagositler, radyasyon, antineoplastik ajanlar, stres serbest radikal kaynakları arasında sayılabilir. Serbest radikaller, hücrenin lipit, protein, DNA, karbonhidrat, ve enzim gibi tüm önemli bileşenlerine etki edebilir, ancak lipitler en duyarlı olanlarıdır (5). Poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımına lipit peroksidasyonu denir ve dokuya çok zararlıdır. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malonyldialdehit (MDA) oluşur. MDA, lipit peroksidasyonunun spesifik bir indikatörü değildir fakat, lipit peroksidasyonu ile iyi bir korelasyon gösterir (5,6). Dolayısıyla serbest radikallerin etkisini ortaya koyan bir değişken olarak değerlendirilebilir (5). Gama radyasyon, hücrelerin DNA yapısını hasara uğratarak etkisini gösterir (2,3,7). DNA'daki bozulma, serbest radikal oluşumuna bağlı reproduktif bütünlüğün bozulması ve mitotik ölüm şeklindedir. Hücre bölünmesinden ayrı olarak iyonize radyasyonun diğer etkisi de plazma membranlarının yırtılmasıyla olmaktadır (7). Günümüze kadar yapılan birçok çalışmada radyasyon ile oluşan doku hasarı konu alınmıştır (2,3,8-10). Testisler radyasyon hasarından en çok etkilenen organlar içerisinde (4). Kontrol amaçlı olarak böbrek dokusundaki etkileri de ortaya koymaya çalıştık. Testislerde spermatogenetik aktivitenin bozulması ve böbreklerde hücre zarının parçalanması ve DNA yapısının bozulması şeklinde oluşmaktadır (1,11). Bu çalışmada tedavi amaçlı total vücut radyasyonunun (radyoterapinin) etkisinin, testislerde ve böbreklerde lipit peroksidasyonunun sekonder bir ürünü olarak oluşan MDA ile korelasyonunun olup olmadığının belirlenmesi planlanmıştır. Ayrıca bir serbest radikal önleyicisi olduğu bilinen (11-14) melatoninin MDA düzeylerindeki değişim üzerine olumlu etkilerinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi deneysel araştırma merkezinden alınan ağırlıkları 200-250 gr arasında değişen Wistar tipi sıçanlardan, her biri yedi sıçan içeren dört grup oluşturuldu. Radyasyon uygulamasında Picker C 9 Cobalt 60 cihazında, SSD: 90 cm, %90 izodoz eğrisi

kullanıldı. Her seansta 32 cGy/dklık 11dk 30 sn süreyle toplam 360 cGy olmak üzere 40x40 cm'lik alanda gamma ışını verildi. Seanlar 12 saat arayla uygulandı (15). Birinci gruba radyasyon uygulamaksızın 12 saat arayla periton içine serum fizyolojik uygulandı (RK). İkinci gruba 2x360 cGy radyasyon uygulandıktan sonra 12 saat arayla periton içine serum fizyolojik uygulandı (RS). Üçüncü gruba 2x360 cGy radyasyon uygulandıktan sonra 12 saat arayla periton içine 2x5 mg/kg/gün (günde 10 mg/kg) beş gün süreyle toplam 50 mg/kg melatonin verildi (RM). Dördüncü gruba radyasyon ya da intraperitoneal ilaç uygulaması yapılmadı (SH). Beşinci günün sonunda bütün gruplar dekapite edilerek testisler ve böbrekler, alındı. Her gruptan alınan testis ve böbrek dokusu örnekleri soğuk %0.9 NaCl ile yıkandıktan sonra, ıslaklığı alınarak doku örneklerinin tartımı yapıldı. Her bir gram doku başına 9 ml %1.15 KCl olacak şekilde Elvenjem-Potter (Du pont Instruments, Sorwall Homogenizer, USA) homojenizatörde teflon uç yardımıyla homojenat hazırlandı. Hazırlanan doku homojenatlarının 0.1 ml'sine %8.1'lik 0.2 ml sodyum dodesil sülfat, 1.5 ml %20'lik asetik asit (pH: 3.5) ve 1.5 ml thiobarbitrik asit (TBA) eklendi. Bu karışım distile su ile 4 ml'ye tamamlanarak 95°C 'de bir saat inkübe edildi. Bu inkübasyon ile lipit peroksidasyonunun sekonder bir ürünü olan MDA oluşturuldu. Soğuduktan sonra bir ml distile su yanısıra n-butanol/piridin ile karıştırılıp 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek üst tabakanın absorbansı spektrofotometrede okundu. Lipit peroksit tayini spektrofotometrik olarak Shimadzu UV-1201V spektrofotometresi ile 532 nm'de yapıldı. Oluşan MDA, TBA ile pembe renkli bir kompleks meydana getirdi. Oluşan pembe rengin 532 nm'de ölçümü ile lipit peroksidasyonu gram yaş doku başına nmol MDA olarak ölçüldü. Sonuçlar ANOVA (post-Hoc Sheffe) testi kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel analizde p≤0.05 değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Radyasyon almaksızın intraperitoneal serum fizyolojik alan RK grubu ile radyasyon ya da intraperitoneal olarak serum fizyolojik almamış olan SH grubunun hem testis hem de böbrek dokularında lipit peroksidasyonunun sekonder bir ürünü olarak oluşan MDA düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0.05). Radyasyon ya da intraperitoneal olarak serum fizyolojik uygulamalarının hiç birinin yapılmadığı SH grubu ile radyasyon alarak intraperitoneal yoldan serum fizyolojik almış olan RS grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p<0.05). Radyasyon alan gruptan intraperitoneal olarak serum fizyolojik almış olan RS grubu ile radyasyon almış olan ve intraperitoneal olarak melatonin almış olan grup olan

RM arasında böbrek ve testis dokularında MDA düzeyleri bakımından anlamlı fark bulundu ($p<0.05$) (Tablo 1).

Tablo 1. Grupların testis ve böbrek dokularının MDA değerleri (\pm standart sapma).

	Kontrol (RK)	Radyasyon (RS)	Melatonin (RM)	Normal (SH)
Testis MDA nmol/gr yaşdoku	3.30 \pm 0.33	5.04 \pm 0.72	4.26 \pm 0.26	3.34 \pm 0.35
Böbrek MDA nmol/gr yaşdoku	4.60 \pm 0.29	6.44 \pm 0.86	5.29 \pm 0.76	4.66 \pm 0.31

Tartışma ve Sonuç

Ronai ve Benko (16) yaptıkları çalışmada, Co 60 Gama radyasyonun beyin, karaciğer, bağırsak dokularında MDA seviyesini artırdığını saptamışlardır. Çalışmamızda sıçanların böbrek ve testis dokularında radyasyon sonrası MDA artışı gözlenmiştir. Serbest radikal hasarının bir göstergesi olan MDA artışı literatür ile uyumlu bulunmaktadır. Kergenou ve ark. (17) çalışmalarında radyasyon hasarının, lipid peroksidasyonu üzerinde bir etkisi olabileceğini düşünmüşlerdir. Radyasyon alan gruplarda radyasyon almayan gruplara göre böbrek ve testis dokularında MDA artışı bu düşüncüyü desteklemektedir.

Reither (18) yaptığı çalışmada melatoninin, serbest radikal önleyici ve antioksidan özellikleri ile iyonize radyasyonun DNA'da yaptığı hasarın önlenilebileceğini bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da melatonin verilen grupta testis ve böbrek dokusunda MDA yükselmesinin melatonin verilmeyen gruplara göre azalmış olması bu görüş ile uyumludur.

Koç ve ark. (19) beş Gy radyasyon verilerek sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında deney hayvanlarının kan ve plazmalarında MDA seviyesinin arttığını belirlemişlerdir. Bu MDA artışının melatonin verilerek azaltılabileceğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da deney hayvanlarına toplam 7.2 Gy radyasyon verilmiş ve böbrek ve testis dokularında anlamlı MDA artışı bulunmuştur. Lebrun ve ark. (20) barsak hücrelerinde yaptıkları çalışmada 8 Gy toplam vücut radyasyonu ile karşılaşan deney hayvanlarının tüm vücut radyasyonu sonrası barsak membran preparasyonunda ve plazma MDA artışını göstermişlerdir. Jin ve ark. (21), fareler üzerinde yaptıkları çalışmalarında gama radyasyonun myokardial dokuda MDA seviyesini artırdığını ve bu artışın Puerarin verilerek azaltılabileceğini gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda 7.2 Gy toplam vücut radyasyonu ile karşılaşan deney hayvanlarının böbrek ve testis dokularında MDA artışı olduğu ve bu artışın melatonin verilerek azaltılabileceği gözlenmiştir.

Yapılan çalışmaların ışığında radyasyon hasarının testis ve böbrek dokuları üzerinde lipid peroksidasyonu ve serbest radikaller üzerinden oluşabileceği ve bu hasarın melatonin verilerek önlenilebileceği düşünülebilir ancak sonuçların doğrulanması için ileri düzey çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. Hasegawa M, Wilson G, Russel LD, Meistrich ML. Radiation-induced cell death in mouse testis: relationship to apoptosis. *Radiat Res* 1997;147:457-67.
2. La Vere T, Becker D, Sevilla MD. Yields of OH in Gamma-irradiated DNA as a function of DNA hydration: hole transfer in competition with OH formation. *Radiat Res* 1996;145:673-80.
3. Tateno H, Kamiguchi Y, Shimada M, Mikamo K. Difference in types of radiation-induced structural chromosome aberrations and their incidences between Chinese and Syrian hamster spermatozoa. *Mutat Res* 1996;350:339-48.
4. Mamina VP, Sheiko LD. The effect of low and sublethal doses of ionizing radiation on the function of the spermatogenic epithelium and the yield of dominant lethal mutations in different strains of mice. *Radiobiologia* 1993;33:408-14.
5. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimosya Yayınları, Konya, 1995:38.
6. Cadanas E. Biochemistry of oxygen toxicity. *Annu Rev Biochem.* 1989;58:79-110.
7. Danjanov I, Linder J. Anderson's Pathology. Mosby inc. Missouri. 10th Ed. Vol 1:486-503.
8. Green HJM, Meider C, De Vries EGE, Mulder NH. Red blood cell glutathione levels in lung cancer patients treated by radiation and continuously infused carboplatin. *Anticancer Res* 1996;16:1033-8.
9. Djuic IS, Jozanov-Stankov O, Mandic M, Demajo M, Vrvic MM. Selenium content and distribution in rat tissues irradiated with gamma rays. *Biol Trace elem Res* 1992;33:197-204.
10. Neel JV, Satoh C, Goriki K, Asakawa J, Fujita M, Takahashi N, Kageoka T, Hazama R. Search for mutations altering protein charge and/or function in children of atomic bomb survivors: final report. *AM J Hum Genet* 1998;42:663-76.
11. Kılınç K. Oksijen radikalleri: Üretilmeleri, fonksiyonları ve toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi* 1985;10:60-89.

12. Reither RJ. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. *Brazilian J Med Biol Res* 1993;26:1141-55.
13. Poeggeler B, Reither RJ, Tan D-X, Chen ID, Manchester LC. Melatonin, hydroxyl radical-mediated oxidative damage and aging: A hypothesis. *Journal of Pineal Res* 1993;14:151-68.
14. Pierrefiche G, Topall G, Cowboin G, Henriet I, Laborit H. Antioxidant activity of melatonin in mice. *Research Communications in Chemical Pathology Pharmacology* 1993;80:211-23.
15. Shank B. Techniques of magnetic field irradiation. *Int. J Radiat Oncol Biol Phys* 1983;9:1925-31.
16. Ronai E, Benko G. Effect of acute 60 Co-gamma-irradiation on the in vivo lipid peroxidation in experimental animals. *Acta Physiol Hung* 1984;63:13-9.
17. Kergonou JF, Bernard P, Braquet M, Rocquet G. Effect of whole-body gamma irradiation on lipid peroxidation in rat tissues. *Biochimie* 1981;63:555-9.
18. Reither RJ. Oxidative damage to nuclear DNA: amelioration by melatonin. *NEL Review: Neuroendocrinol Lett* 1999;20:145-50.
19. Koç M, Taysi S, Emin Büyükkuroğlu M, Bakan N. The effect of melatonin against oxidative damage during total-body irradiation in rats. *Radiol Res* 2003;160:251-5.
20. Lebrun F, Benderitter M, Berroud A, Voisin P, Griffiths NM. Potential role of the membrane in the development of intestinal cellular damage after whole-body gamma irradiation of the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 2002;80:686-9.
21. Jin LH, Liu CF, Zeng Y. Protective effect of puerarin on radiation injury of experimental rats. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao* 2005;3:43-5.