

MELATONİN: KARANLIĞIN ANTIOKSİDAN GÜCÜ Melatonin: The Antioxidant Power Of Darkness

Cevat YAZICI¹, Kader KÖSE²

Özet : *Biyolojik sistemlerde prooksidan/antioksidan dengenin bozulmasıyla oluşan oksidatif stres, birçok patolojik durumla ilişkilendirilmektedir. Organizma, prooksidan etki gösteren serbest radikallerin hasarına karşı, antioksidan adı verilen ajanlarla kendini savunur. Pineal bezin başlıca salgısı olan melatoninin (MEL) endokrin ve sirkadiyen ritm üzerine bilinen etkilerinden başka, in vivo ve in vitro antioksidan etkiye de sahip olduğu gösterilmiştir. Hatta, antioksidanlar içerisinde, MEL'in en güçlü radikal tutucu olduğu öne sürüldüğünden, MEL'e olan ilgi giderek artmakta ve antioksidan özelliği gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Bu derlemede MEL'in sentezi ve biyolojik etkilerinin yanı sıra antioksidan özellikleri ile ilgili çalışmalar değerlendirilerek klinik önemi tartışılmıştır.*

Anahtar kelimeler: *Oksidatif stres, serbest radikal, melatonin, antioksidan etki*

Prooksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin prooksidanlar lehine bozulması olarak tanımlanan oksidatif stres (1), ateroskleroz, kronik böbrek yetmezliği, respiratuvar distress sendromu, romatoid artrit, diyabet, sepsis ve Alzheimer hastalığı gibi birçok patolojik durumda, hatta yaşlılıkta ortaya çıkmaktadır (2). Oksidatif stres oluşumunu değerlendirebilmek için, öncelikle serbest radikallerin nasıl oluştuğu ve bu radikallere karşı organizmanın kendisini nasıl savunduğu gözden geçirilmelidir.

¹ Yrd.Doç.Dr.Erciyes Ün.Tıp Fak.Biyokimya AD, Kayseri

² Prof.Dr.Erciyes Ün.Tıp Fak.Biyokimya AD, Kayseri

Summary : *Oxidative stress in biological systems resulting from the overproduction of free radicals is implicated in the pathogenesis of many diseases. The organism defends itself by agents called antioxidants against oxidative damage by free radicals, which show prooxidant activity. Melatonin (MEL), the chief secretory product of the pineal gland, has been shown to have in vivo and in vitro antioxidant effects other than endocrine and biological functions. Moreover, MEL is considered the most powerful antioxidant (among the others), therefore there is growing interest to MEL and also evidence showing the importance of its antioxidant action. In the present review, the antioxidative properties of MEL along with its synthesis and biological effects as well as its clinical importance are described.*

Key words: *Oxidative stress, free radical, melatonin, antioxidant action.*

Serbest Radikaller

Oksidatif stresin prooksidan tarafında yer alan serbest oksijen radikalleri (SOR), fizyolojik olan ve olmayan birçok süreçte oluşmakta ve oksijenin hem süperoksit (O_2^-), hidroksi (HO), hidroperoksi (HO_2), peroksi ($ROO\cdot$), alkoksi ($RO\cdot$) gibi radikal türevlerini hem de singlet oksijen (1O_2), ozon (O_3), hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorik asit (HOCl), nitrik oksit (NO) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) gibi radikal olmayan türevlerini kapsamaktadır (3).

Başta mitokondriyal solunum zinciri olmak üzere, fagositik hücrelerdeki solunum patlaması, mikrozomal sitokrom P₄₅₀ sistemi, sitoplazmik, peroksizomal, lizozomal ya da membrana bağlı oksidaz aktiviteleri gibi fizyolojik şartlarda

gerçekleşen pek çok hücrel süreç, SOR oluşumuna yol açmaktadır (3). Diğer taraftan, hiperoksi durumu, iskemi, inflamasyon, ağır egzersiz, aromatik hidrokarbonlar, antineoplastik ajanlar, antibiyotikler, anestezipler, radyasyon, sigara dumanı ve hava kirliliği gibi çevresel faktörler ya direk olarak ya da intraselüler metabolizma ve detoksifikasyon sırasında radikallere dönüşerek, SOR düzeylerini etkilemektedirler (4). İntraselüler SOR seviyesi, hücre tipine ve çevresel faktörlere bağlı olarak değişebilse de nötrofiller, monositler ve makrofajlar, SOR üretimi bakımından yüksek aktiviteye sahip olan hücrelerdir (5).

Antioksidan Savunma Sistemleri

Aerobik canlılarda, SOR oluşumuyla birlikte, SOR'un zararlı etkilerini önlemek amacıyla antioksidan savunma sistemleri ya da kısaca antioksidan olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları da gelişmiştir (3). Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSSG-Rd), katalaz gibi enzimler ve vitaminler, tiyoller gibi enzim olmayanlar şeklinde yapılarına göre sınıflandırılabilen antioksidanlar, serbest radikallerin lipidler, proteinler, nükleik asitler gibi hedef biyomoleküllere vereceği hasarı önleyen maddelerdir (4).

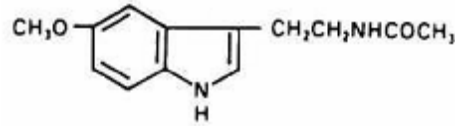
Son yıllarda, endojen savunma sistemini güçlendirmek amacıyla, organizmada doğal olarak bulunan savunma sistemlerinin bir kısmı ya da antioksidan özellik gösteren bazı farmakolojik ajanlar da kullanılmakta ve bu bileşikler, ekzojen savunma sistemleri olarak adlandırılmaktadır. Bu grup arasında, SOD, askorbat, GSH, ebselen (6) ve MEL (7) sayılabilir.

Melatonin

Melatonin, karanlıkta pineal bezden salgılanan, uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur.

Pineal bez, yaklaşık üç yüz yıl önce Fransız filozof Descartes tarafından "ruhun tahtı" olarak tanımlanmış, ancak MEL'in varlığı 1958 yılında dermatolog Lerner tarafından belirlenmiştir. Sığır pineal bez ekstrelerinin, kurbağa deri rengini açtığını gözleyen Lerner, melanin granüllerinin agregasyona uğradığını belirlemiş ve ekstrlerden izole ettiği bu maddeye melatonin adını vermiştir (7,8).

İnsanlarda üçüncü ventrikülün arkasında yer alan pineal bez (epifiz bezi), böbrekten sonra vücudun en çok kan akımına sahip ikinci organıdır.

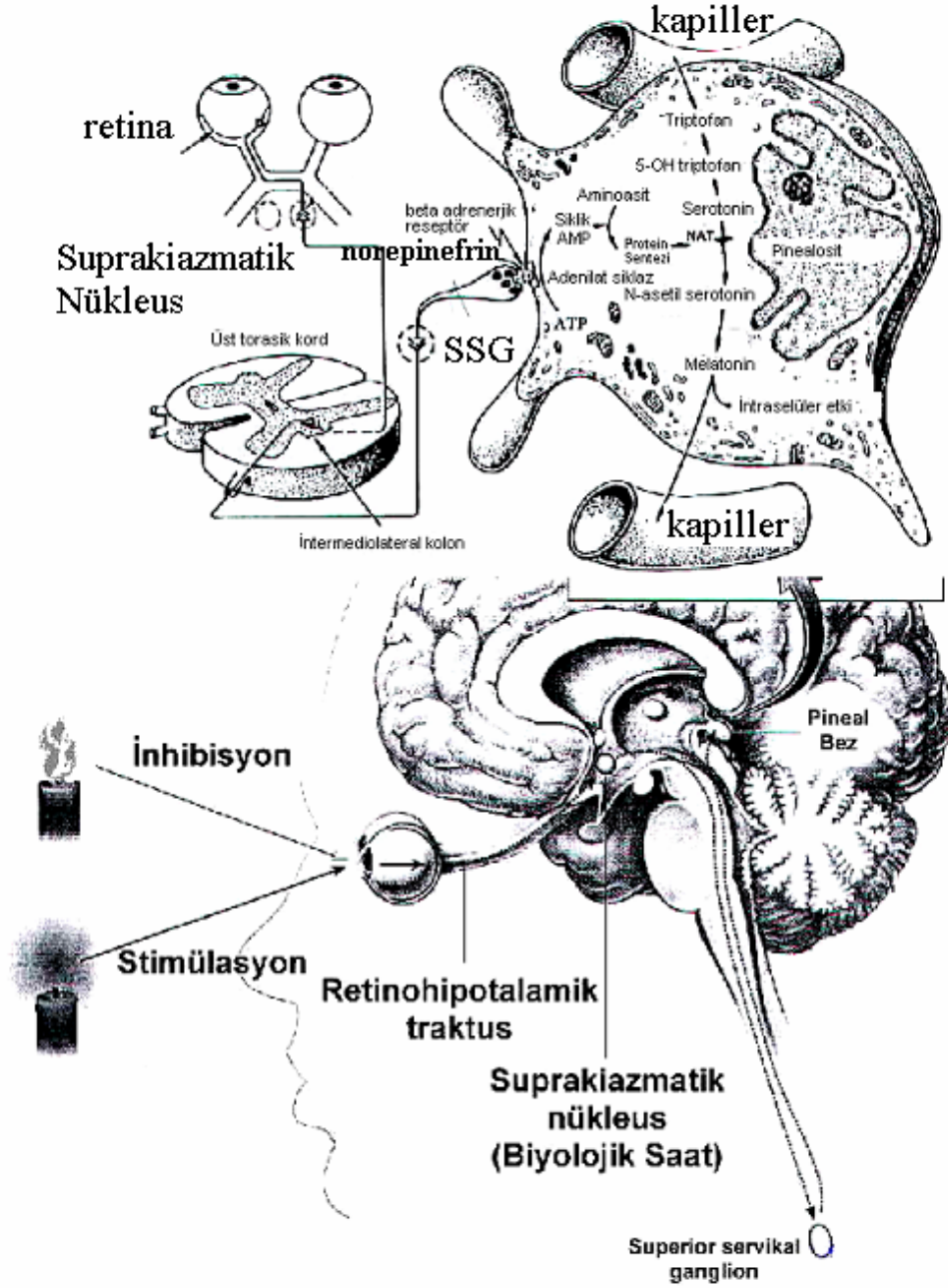


MELATONİN
(5-Metoksi-N-Asetiltryptamin)

Memelilerde fotik informasyonları nöroendokrin sinyallere dönüştürebilen pineal bez, retinadan alınan görsel uyarılara cevap olarak, başta MEL olmak üzere, birçok hormon salgılayabilir (Şekil 1) (7,9).

Melatonin Metabolizması

MEL sentezi sirkadiyen ritim gösterir. Aydınlıkta hiperpolarize olan retinal hücreler, karanlıkla beraber depolarize olarak, bezde MEL sentezini başlatırlar. Gün batımıyla fotoreseptör hücrelerden salgılanan norepinefrin, hem triptofanın dolaşımdan beze girişini artırmakta ve hem de b1 reseptörleri aracılığıyla membrandaki adenil siklazı aktive ederek, intraselüler



Şekil 1. Pineal Bezde Melatonin Sentezi ve Kontrolü (7,9).

cAMP seviyelerini yükseltmektedir (10). Dolaşımdaki triptofanın aktif transportla pinealosit içine alınmasıyla başlayan MEL sentezi, dört ardışık enzimatik reaksiyon

sonucunda tamamlanır: İlk aşamada hidrosilasyon reaksiyonuyla oluşan 5-OH triptofan, dekarboksilasyonla serotonine dönüşmekte ve daha sonra sırasıyla N-asetilasyon

ve O-metilasyon reaksiyonlarıyla, serotoninden MEL (5-metoksi-N-asetilriptamin) oluşmaktadır (11,12). MEL sentezinde hız kısıtlayıcı enzim olan N-asetiltransferaz (NAT) aktivitesi, cAMP etkisiyle yükselmekte ve böylece sentezlenen ve salgılanan MEL miktarı artmaktadır (Şekil 1) (7,9).

Doğumdan itibaren 3 aya kadar çok az olan MEL salınımı, giderek artmakta ve sirkadien doğasını kazanmaktadır. Normal genç erişkinlerde gündüze göre, gece 3-10 kat daha yüksek olan serum MEL konsantrasyonu, 02⁰⁰-04⁰⁰ saatleri arasında doruk düzeyine ulaşmakta ve daha sonra giderek azalmaktadır (9). Yaşlanma ile birlikte MEL sentezinin azaldığı gösterilmiştir (13).

Sentezini takiben, pineal bezden doğrudan dolaşıma verilen MEL, lipofilik özelliğine rağmen, membran reseptörleri aracılığıyla hedef hücrelerine ulaşır. Otoradyografik çalışmalarla, beyin çeşitli bölgelerinde, bağırsak, ovaryumlar, kan damarları (7) ve karaciğerde (14), MEL reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir. MEL reseptörlerinin sensitivitesi ve ekspresyonu, günlük ışık ritmi ile ilişkilidir (15). Lipofilik özelliği nedeniyle, hücrenin tüm fraksiyonlarına kolaylıkla girebilen MEL için (9), sitozolik ve nükleer bağlanma yerleri de tanımlanmıştır (7).

MEL'in inaktivasyonu, başlıca karaciğerde gerçekleşir. İndol halkasının 6. konumundan hidroksile olan MEL, daha sonra sülfat veya glukuronik asitle konjuge edilerek idrarla atılır. MEL'in idrardaki başlıca metaboliti olan 6-sülfatoksi melatonin düzeyleri, MEL'in plazma düzeyleri kadar, sentez ve yıkımı için de iyi bir göstergedir (16).

Melatoninin Biyolojik Etkileri

MEL'in uyku, sirkadien ritim, duygu durumu, termoregülasyon, immünite, cinsel olgunlaşma ve üreme gibi bir çok biyolojik olayla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla antiproliferatif ve antioksidan etkilerde de sahip olduğu gösterilen MEL'in, kanser ve yaşlanmanın önlenmesinde de etkili olabileceği öne sürülmektedir (Tablo I) (7).

Melatoninin Antioksidan Etkisi

MEL'in bir antioksidan olduğu, literatürde ilk kez 1991 yılında Ianas ve ark (17) tarafından öne sürülmüş ve daha sonra yapılan *in vitro* (9,18,19) ve *in vivo* (20-23) çalışmalarla desteklenmiştir. Bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, MEL'in antioksidan özelliği üç ana başlık altında toplanabilir :

1. Direkt antioksidan etki: MEL'in HO[•], H₂O₂, ¹O₂, HOCl, NO[•], ONOO⁻ gibi oksidatif strese yol açabilen serbest radikalleri detoksifiye ettiği ve böylece onların biyomoleküller üzerindeki zararlı etkilerini önleyebildiği bildirilmektedir (24, 25). MEL'in antioksidan özelliği, yapısında bulunan pirol halkasından kaynaklanmaktadır. Fizyolojik şartlarda pek çok indol MEL'e benzer şekilde yıkılsa da, O₂ varlığında, MEL'in pirol halkasının indolamin 2,3-dioksijenaz (IDO) ile enzimatik ya da hemin ile nonenzimatik olarak yıkımı, yüksek reaktiviteye sahip, N¹-asetil-N²-formil-5-metoksikinüramin (AFMK) oluşumuyla sonuçlanmaktadır (16). MEL'in H₂O₂ varlığında da AFMK oluşturduğu ve bu metabolitin radikal tutucu aktivite gösterdiği belirlenmiştir (25) (Şekil 2, A, B, C).

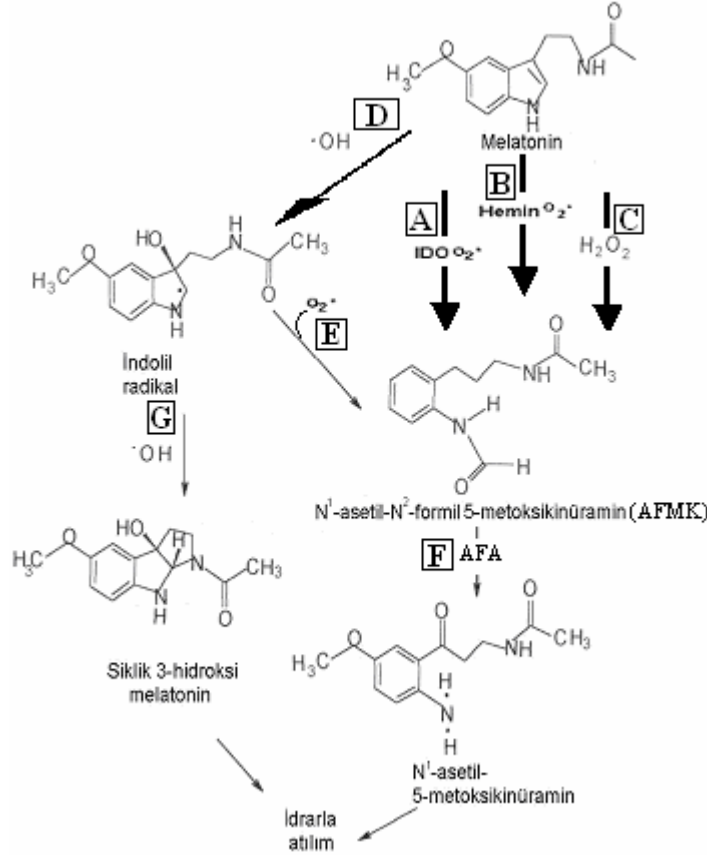
AFMK oluşumuna yol açan diğer bir mekanizma ise, yüksek bir affinite ile OH[•] radikalini bağlayabilen MEL'in, indolil katyon radikalini oluşturması (Şekil 2, D) ve bu radikalini de, O₂'i yakalayarak AFMK'e dönüşmesidir (Şekil 2, E). AFMK, daha sonra arilamin formamidaz (AFA)'ın katalizlediği reaksiyonla N¹-asetil-5-metoksikinüramin (AMK)'e çevrilmektedir (16) (Şekil 2, F). Diğer taraftan indolil radikal, HO[•] varlığında siklik 3-hidroksimelatonin oluşturmakta ve bu metabolitin idrar düzeyleri, radikal üretiminin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Şekil 2, G).

Çeşitli antioksidanların gücünü belirlemek amacıyla yapılan karşılaştırmalı çalışmalar, MEL'in en güçlü antioksidanlardan biri olduğunu göstermektedir.

Askorbat, alfa-tokoferol ve GSH gibi zincir reaksiyonlarını kırabilen diğer antioksidanlardan

Tablo I. Melatoninin bazı biyolojik oluşumlar üzerine etkilerini açıklayan mekanizmalar (7).

Biyolojik Oluşum	Mel'in Etkisi	Etki Mekanizması	Kaynak
Uyku	Hipnotik etki ve uykuya eğilimin artması (Uykuya dalış hızı ile uyku süre ve kalitesinin artması)	- Hipotermik etki (farmakolojik dozlarda) - Limbik sistem üzerinde reseptör aracılı etki	Plasebo kontrollü klinik araştırmalar
Sirkadien ritim	- Sirkadien ritimlerin kontrolü - Aydınlık-karanlık siklusunun düzenlenmesi	- Gözlerden ve suprakiazmatik nükleustan gelen nöral uyarılara cevap olarak MEL salınımı - Nöral ve periferik dokularda reseptör aracılı etkiler - Termoregülasyon	Işığın ve aydınlık-karanlık siklusunun MEL salınımına etkisini araştıran çalışmalar
Duygudurum	- Mevsimsel affektif bozukluk ve depresyon gibi siklik duygudurum hastalıkları üzerine düzenleyici etki	-Bilinmiyor (Fakat,tedavide kullanılan tüm antidepresanlar MEL üretimini arttırmaktadır)	MEL salınımı ile ilgili karşılaştırmalı klinik araştırmalar ve duygudurum bozukluklarında fototerapi çalışmaları
İmmünite	- Artmış immün yanıt	- T-helper lenfositler tarafından interlökin yapımının artması - Granülosit ve makrofajlarda,artmış koloni uyarıcı faktörün üretimi ile kemik iliği hücrelerinin apoptozisten korunması	İnsanlarda birkaç kontrolsüz araştırma
Kanser	- Antiproliferatif etkiler	- Direkt antiproliferatif etki (antimitotik aktivite) - İmmünomodülatör etki (immün yanıtın artmasıyla tümör büyümesinin basılanması) - Antioksidan etki	Hayvanlar ve insanlarda neoplastik hücrelerle ve hücre soylarıyla <i>in vivo</i> ve <i>in vitro</i> çalışmalar; birkaç kontrolsüz araştırma
Seksüel olgunlaşma ve üreme	- Antigonadal, anovulatuvar etkiler	- Hipotalamik-hipofizer gonadal eksenin baskılanması (serumda düşük LH ve yüksek prolaktin seviyeleri) - Seks steroidlerinin üretimi üzerine düzenleyici etki	MEL salınımı ile ilgili karşılaştırmalı klinik çalışmalar
Yaşlanma	- Hücre hasarının önlenmesi ve diğer koruyucu etkiler	- Antioksidan etki	Hayvanlarda <i>in vivo</i> ve <i>in vitro</i> araştırmalar



Şekli 2. Melatoninin Serbest Radikallerle Etkileşimi

farklı olarak, MEL yayılmakta olan lipid peroksidasyonunu peroksil radikalini yakalayarak sonlandırmaktadır (16). MEL'in bu antioksidanlardan daha güçlü olduğu (25), GSH'dan 5 kat ve mannitolden 14 kat daha güçlü bir şekilde OH^{\cdot} radikalini yakaladığı (18) *in vitro* çalışmalarla gösterilmiştir.

5-OH-triptofan, 5-OH-triptamin ve serotonin ile kıyaslandığında, MEL'in, NO^{\cdot} oluşumunu azaltan en güçlü indol olduğu saptanmıştır. *In vitro* şartlarda MEL'in doza bağımlı bir şekilde, ONOO^{\cdot} 'in yol açtığı oksidasyonu önlediği ve ayrıca kendisi nitrasyona uğrayarak ONOO^{\cdot} 'i detoksifiye ettiği; *in vivo* enflamasyon modelinde de

nitrotirozin oluşumunu baskıladığı gösterilmiştir (24,25).

2. Antioksidan Enzim Aracılı Etki: Farmakolojik ve muhtemelen fizyolojik düzeylerdeki MEL'in, SOD, GSH-Px, GSSG-Rd, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve g-glutamilsistein sentetaz gibi bazı antioksidan enzimlerin gen ekspresyonlarını ya da aktivitelerini artırdığı ve bu yolla oksidatif stresi baskıladığı bildirilmektedir (24, 25).

Ratlara, akut/kronik uygulanan MEL'in beyin dokusu Mn-SOD ve CuZn-SOD sentezini artırdığı ve bu yolla oksidatif hasara karşı beyin dokusunu

koruduğu (26); ayrıca anne rata verilen MEL'in plasentadan geçebildiği ve fetus beyinde SOD aktivitesini artırdığı gösterilmiştir (27).

Gündüze göre, gece öldürülen ratlarda beyin GSH-Px aktivitesinin daha yüksek bulunması, MEL'in fizyolojik antioksidan etkisine bağlanmaktadır. Hayvan modeli çalışmalarında, farmakolojik dozda uygulanan MEL ile akciğer, barsak, böbrek, karaciğer, beyin, kalp, pineal bez ve eritrosit GSH-Px aktiviteleri, %22 ila %138 oranında artmaktadır. Ratlarda karaciğer, böbrek ve beyin dokusu GSH-Px aktivitesinin, MEL uygulandıktan 3 saat sonra arttığı gözlenmiştir (19). Nöral GSH-Px aktivitesinin, MEL'e benzer şekilde, gündüz düşük; gece yüksek olduğu bulunmuştur (28). Pinealektomi yapılan ratların karaciğer, akciğer ve beyin GSH-Px aktivitelerinde anlamlı düşüşler saptanmıştır (9).

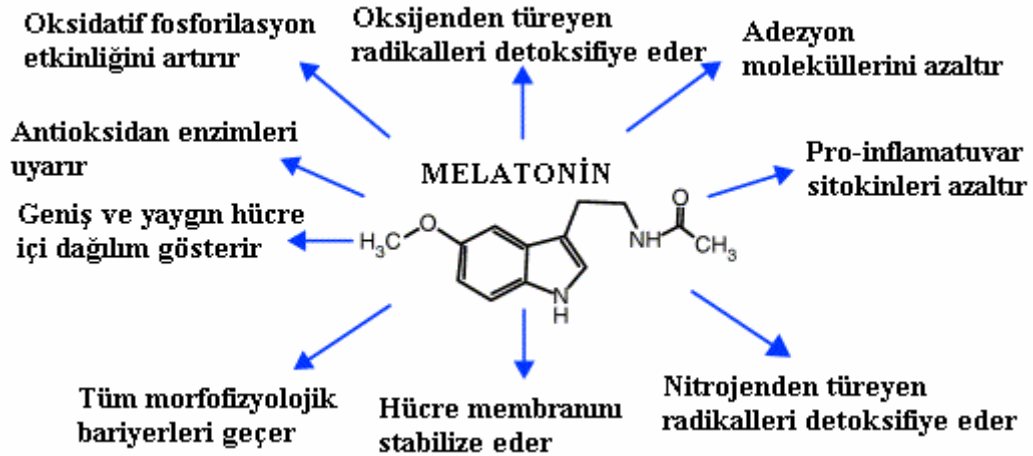
GSH havuzunu koruyan GSSG-Rd aktivesinin sürekli karanlığa maruz bırakılan kuşların beyinde daha yüksek olduğu ve ekzojen MEL ile de deney hayvanlarında aktivitenin yükseldiği bildirilmiştir (29). MEL uygulanan ratların, karaciğer GSSG-Rd aktivitesinin yaklaşık 2 kat arttığı belirlenmiştir (30)

MEL tarafından g-glutamilsistein sentetazın uyarılmasıyla, insan endotel hücrelerinde total GSH içeriğinin yükseldiği öne sürülmektedir (31).

3. Prooksidan Enzim Aracılı Etki: MEL'in bazı prooksidan enzimleri inhibe ederek, serbest radikal oluşumunu azalttığı ve bu yolla da antioksidan sistemi desteklediği öne sürülmektedir (24, 25). In vitro ve in vivo şartlarda, NO. ve daha ileri aşamada ONOO⁻ oluşumuna neden olan nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesinin, fizyolojik MEL konsantrasyonlarında inhibe edildiği bildirilmektedir (32). Beyin iskemi/reperfüzyon modelinde de, NOS inhibisyonuna yol açan MEL'in düzeltici etkilerinin olabileceği öne sürülmektedir (33).

MEL'in bu antioksidan etkilerini destekleyecek şekilde; oksidatif doku hasarına yol açan kainik asit (20), L-sistein (23), sisplatin (34), adriyamisin (35), allokstan (22), streptozotosin (36), sentetik seks steroidleri (30, 37-40) ve siklosporin A (41,42) gibi toksinlerle indüklenen oksidatif stresin MEL ile önlenildiği, *in vivo* çalışmalarla da gösterilmiştir.

Bunların dışında MEL hem suda ve hem de lipid fazda çözünebildiğinden, organizmada çok geniş alanda antioksidan etki gösterebilmektedir. Kolaylıkla kan-beyin bariyerini ve plasentayı geçebilen MEL için, bilinen hiçbir morfofizyolojik bariyerin olmaması, MEL'in tüm intraselüler komponentlere rahatlıkla ulaşabilmesini sağlamaktadır. Böylece MEL, hücre zarını, organelleri ve çekirdeği etkin bir şekilde serbest radikal hasarından koruyabilmektedir. Hücre



Şekil 3. Melatoninin Antioksidan Özellikleri (43).

membranı ile temas ettiğinde, fosfolipid tabakanın dış yüzeyine tutunan MEL, radikallerle membrandan önce temasa geçerek onları detoksifiye eder ve membranı korur. MEL varlığında, mitokondriyal solunum zincirinden kaynaklanan O_2^{\cdot} , H_2O_2 ve HO^{\cdot} gibi radikallerin üretimi de azalmaktadır. Çekirdeğe kadar ulaşılma özelliği, DNA'nın oksidatif hasara karşı korunmasında, MEL'e bir üstünlük sağlamaktadır (10). Daha da önemlisi, diğer antioksidanların aksine, çok yüksek dozlarda (300 mg/gün) ve 5 yıl gibi uzun süre kullanımda bile, MEL'in toksik bir etki göstermemesidir (9).

MEL'in antioksidan etkileri genel olarak incelendiğinde, adezyon moleküllerinin ve pro-inflamatuvar sitokinlerin sentezini azaltmasını da içeren oldukça geniş spektruma sahip bir antioksidan olduğu görülebilir (Şekil 3) (43).

MEL gibi güçlü bir antioksidanın, patogenezinde serbest radikal hasarı olduğuna inanılan Alzheimer hastalığı (44), sepsis (45), iskem/reperfüzyon (46), ultraviyole radyasyonuna bağlı eritem (47), demir ve eritropoetin uygulaması (48) ve tardiv diskinezi (49) gibi patolojilerde, klinik kullanıma da girdiği bildirilmektedir.

Sonuç olarak, klinikte çeşitli uygulama alanları bulan MEL ile ilgili gelecekte yapılabilecek yeni araştırma alanları olarak;

- Antioksidan enzimlerin mRNA düzeyleri üzerine MEL ve metabolitlerinin etkisi,
- MEL ve sinyal iletimi,
- Doku ve hücrelerdeki MEL düzeyleri,
- MEL yapısının modifiye edilmesi,
- Ateroskleroz gibi oksidatif stresle ilişkili pek çok hastalığın MEL ile tedavisi,
- Ultraviyole ışınlarının yaptığı deri hasarının topikal MEL ile önlenmesi,

önerilebilir.

KAYNAKLAR

1. Sies H. *Oxidative stress: Oxidants and antioxidants*. *Exp Physiol* 1997, 82: 291-295.
2. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. *Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress*. *Clin Chim Acta* 2003, 329: 23-38.
3. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine 2nd ed*. Clarendon Press, Oxford 1996, pp 10-19, 86-130.
4. Valentine JS, Wertz DL, Lyons TJ, et al. *The dark side of dioxygen biochemistry*. *Curr Opin Chem Biol* 1998, 2: 253-262.
5. Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Mecerelli LH. *Neutrophils: Molecules, functions and pathophysiological aspects*. *Lab Invest* 2000, 80: 617-635.
6. Halliwell B. *Drug antioxidant effects. A basis for drug selection?* *Drugs* 1991, 42: 569-605.
7. Brzezinski A. *Melatonin in humans*. *N Engl J Med* 1997, 336: 186-195.
8. Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W. *Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes*. *J Am Chem Soc* 1958, 80: 2587.
9. Reiter RJ. *Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review*. *Brazilian J Med Biol Res* 1993, 26: 1141-1155.
10. Arendt J. *Melatonin*. *Clin Endocrinol* 1988, 29: 205-229.
11. Reiter RJ. *Pineal melatonin: Cell biology of its synthesis and of its physiological interactions*. *Endocr Rev* 1991, 12 : 151-180.
12. Sugden D. *Melatonin biosynthesis in the mammalian pineal gland*. *Experientia* 1989, 45: 922-932.
13. Poeggeler B, Reiter RJ, Tan D-X, Chen L-D, Manchester LC. *Melatonin, hydroxyl radical mediated oxidative damage, and aging: A*

- hypothesis. J Pineal Res* 1993, 14: 151-168.
14. Acuna CD, Reiter RJ, Menendez PA, Pablos MI, Burgos A. Characterization of high-affinity melatonin binding sites in purified cell nuclei of rat liver. *J Pineal Res* 1994, 16: 100-112.
 15. Forsling ML. Melatonin. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* 2001, 8: 147-153.
 16. Hardeland R, Reiter RJ, Poeggeler B, Tan D-X. The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin: Antioxidative protection and formation of bioactive substances. *Neurosci Biobehav Rev* 1993, 17: 347-357.
 17. Ianas O, Olivescu R, Badescu I. Melatonin involvement in oxidative processes. *Rom J Endocrinol* 1991, 29:117-123.
 18. Tan D-X, Chen L-D, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: a potent endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocr J* 1993, 1: 57-60.
 19. Pahkla R, Zilmer M, Kullisaar T, Rago L. Comparison of the antioxidant activity of melatonin and pinoline in vitro. *J Pineal Res* 1998, 24: 96-101.
 20. Giusti P, Lipartiti M, Franceschini D, Schiavo N, Floreani M, Manev H. Neuroprotection by melatonin from kainate-induced excitotoxicity in rats. *FASEB J* 1996, 10: 891-896.
 21. Sewerynek E, Reiter RJ, Melchiorri D, Ortiz GG, Lewinski A. Oxidative damage in the liver induced by ischemia reperfusion: Protection by melatonin. *Hepatogastroenterology* 1996, 43: 898-905.
 22. Pierrefiche G, Topall G, Courboin G, Henriot I, Laborit H. Antioxidant activity of melatonin in mice. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1993, 80: 211-223.
 23. Yamamoto HA, Tang HW. Melatonin attenuates L-cysteine induced seizures and lipid peroxidation in the brain of mice. *J Pineal Res* 1996, 21: 108-113.
 24. Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. *Biochem Pharmacol* 1998, 56: 1265-1272.
 25. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci* 2000, 7: 444-458.
 26. Kotler M, Rodriguez C, Sainz RM, Antolin I, Menendez-Pelaez A. Melatonin increases gene expression for antioxidant enzymes in rat brain cortex. *J Pineal Res* 1998, 24: 83-89.
 27. Thomas L, Drew JE, Abramovich DR, Williams LM. The role of melatonin in the human fetus (review). *Int J Mol Med*. 1998, 1:539-543.
 28. Reiter RJ. Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. *Eur J Endocrinol* 1996, 134: 412-420.
 29. Pablos MI, Reiter RJ, Ortiz GG, et al. Rhythms of glutathione peroxidase and glutathione reductase in brain of chick and their inhibition by light. *Neurochem Int* 1998, 32: 69-75.
 30. Yazıcı C. Sentetik Seks Steroidlerinin ve Melatoninin Oksidan Antioksidan Sistem Üzerine Etkilerinin Rat Modelinde Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Erciyes Ün. Tıp Fakültesi Biyokimya A.D, Kayseri 1999, 151.
 31. Urata Y, Honma S, Goto S, et al. Melatonin induces gamma-glutamylcysteine synthetase

- mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells. *Free Radic Biol Med.* 1999, 27:838-847
32. Bettahi I, Guerrero JM, Reiter RJ, Osuna C. Physiological concentrations of melatonin inhibit the norepinephrine-induced activation of prostaglandin E2 and cyclic AMP production in rat hypothalamus: a mechanism involving inhibition of nitric oxide synthase. *J Pineal Res.* 1998, 25:34-40.
 33. Guerrero JM, Reiter RJ, Ortiz GG, Pablos MI, Sewerynek E, Chuang JI. Melatonin prevents increases in neural nitric oxide and cyclic GMP production after transient brain ischemia and reperfusion in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *J Pineal Res.* 1997, 23:24-31.
 34. Hara M, Yoshida M, Nishijima H, et al. Melatonin, a pineal secretory product with antioxidant properties, protects against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Pineal Res* 2001, 30: 129-138.
 35. Montilla P, Tunez I, Munoz MC, Lopez A, Soria JV. Hyperlipemic nephropathy induced by adriamycin: Effect of melatonin administration. *Nephron* 1997, 76: 345-350.
 36. Montilla PL, Vargas JF, Tunez IF, Munoz de Agueda MC, Valdelvira ME, Cabrera ES. Oxidative stress in diabetic rats induced by streptozotocin: protective effects of melatonin. *J Pineal Res* 1998, 25: 94-100.
 37. Köse K, Yazıcı C. The effect of levonorgestrel and melatonin treatments on plasma oxidant-antioxidant system, and lipid/lipoprotein levels in female rats. *Turk J Med Sci* 2000, 30:523-528.
 38. Köse K, Yazıcı C. Ratlara uygulanan levonorgestrel ve melatoninin hepatik glutasyon ve malondialdehit seviyelerine etkisi. *Erciyes Tıp Dergisi* 2001, 23:1-6.
 39. Köse K, Yazıcı C. Ratlarda, levonorgestrel ve melatonin uygulamasının plazma lipid, lipoprotein, malondialdehit, konjuge dien ve tiyol seviyelerine etkisi. *Klinik Biyokimya Derneği Ateroskleroz Sempozyumu Özet Kitabı, İzmir 19-20 Mart 1999, B-47.*
 40. Köse K, Yazıcı C. Levonorgestrel ve melatonin uygulamasının rat karaciğer glutasyon redoks siklusu üzerine etkisi. XVIII. Gevher Nesibe Tıp Günleri, III. Deneysel ve Klinik Araştırma Kongresi ve "Workshop"u Özet Kitabı, Kayseri 18-20 Mayıs 2000, P 28.
 41. Yazıcı C, Köse K, Gökalp S, Canöz Ö, Utaş C. Siklosporin A nefrotoksitesinde protein oksidasyonunun yeri ve melatoninin koruyucu etkisi. 19. TND Ulusal Nefroloji Hipertansiyon Diyaliz ve Transplantasyon Kongresi Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi Bildiri Özet Kitabı, Antalya 17-21 Eylül 2002, P-119.
 42. Deveci S, Yazıcı C, Köse K, Gökalp S.S. Siklosporin A ve/veya melatonin uygulanan ratlarda kanser riskini artıran oksidatif stresin değerlendirilmesi. *Klinik Biyokimya ve Kanser Sempozyumu Özet Kitabı, Bursa 26-29 Eylül 2002, P-21.*
 43. Reiter RJ. Melatonin: clinical relevance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2003, 17:273-285.
 44. Brusco LI, Marquez M & Cardinali DP. Monozygotic twins in Alzheimer's disease treated with melatonin: case report. *J Pineal Res* 1998, 25: 260-263.
 45. Gitto E, Karbownik M, Reiter RJ et al. Effects of melatonin treatment in septic newborns. *Pediatr Res* 2001, 50: 756-760.
 46. Fulia F, Gitto E, Cuzzocrea S et al. Increased levels of malondialdehyde and nitrite/nitrate in the blood of asphyxiated newborns:

Melatonin: Karanlığın antioksidan gücü