

ORŞİEKTOMİZE RATLARDA MELATONİNİN PROSTAT DOKUSUNA ETKİLERİ**THE EFFECTS OF MELATONIN ON PROSTATE TISSUE OF ORCHIECTOMIZED RATS**

Atila SEMERCİÖZ, F. Ahmet ŞENOL, Rahmi ONUR, İrfan ORHAN, Veysel YÜZGEÇ
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

ABSTRACT

Introduction: Melatonin effective in many organs is a hormone secreted from the pineal gland. When human prostate hyperplastic etiology is considered, additional to an androgen – estrogen imbalance state, both melatonin and miscellaneous etiologic factors may play a role in the mentioned condition. Especially it is well known that human prostate tissues contains specific connecting zones and this condition is related with localized microsomal fractions at the glandular epithelium of a benign prostate tissue. Such relationship draws attention that various mechanisms may play an active role in the etiopathogenesis of a benign prostate hyperplasia (BPH). To investigate the effect of melatonin on prostate, levels of prostate melatonin, 6-hydroxymelatonin and serotonin and weights of the prostate and vesicula seminalis were evaluated in orchiectomized rats.

Materials and Methods: The sensitivity of prostate to melatonin was assessed in a total of bilaterally orchiectomized 40 Wister-Albino type rats that were randomized in four groups and were waited for seven days to allow alterations to occur in the weight in the prostate gland.

Group 1: Control group, only orchiectomized rats.

Group 2: Orchiectomized rats: Group of rats where melatonin was applied for a period of 4 days/5 mg/kg to the musculus bicepsfemoris semitendineus and to the musculus gluteus maximus muscles of the right rear legs after a period of 7 waiting days.

Group 3: Orchiectomized rats: group of rats where testosterone propionate was applied for 4 days/1 mg/kg subcutaneously to the abdominal skin after 7 waiting days.

Group 4: Orchiectomized rats: group of rats where melatonin and testosterone propionate was applied for 4 days/5 mg/kg to the musculus bicepsfemoris semitendineus and the musculus gluteus maximus muscles of the right rear legs for 4 days/1 mg/kg subcutaneously to the abdominal skin after 7 waiting days. To investigate the effect of melatonin on the prostate, prostate melatonin, 6-hydroxymelatonin, serotonin levels and the weights of the prostate vesicula seminalis were assessed in orchiectomized rats.

Result: In group 2 where rats were treated only with melatonin, the weight of prostate and vesicula seminalis were found significantly lower when compared with rats in group 3 as these rats were treated only with testosterone. Melatonin was not found in the prostate in none of the groups, but the level of 6-hydroxymelatonin was determined significantly higher in group 2 when compared to group 3. Serotonin level values in group 4 were significantly higher according to group 2.

Conclusion: The possible effect of melatonin on the prostate is commonly to avoid the growth of the prostate by the means of an active metabolite, 6-hydroxymelatonin. Non-invasive and new medical therapy alternatives are still under investigation and as a medical alternative melatonin as a new hormone in BPH and requires further studies.

Key Words: Prostate, melatonin, 6-hidroksimelatonin

ÖZET

Melatonin pineal bezden salgılanan ve çeşitli organ sistemlerde etkin olan bir hormondur. İnsan prostat hiperplazisi etiyojisinde androjen-östrojen imbalansı gibi çeşitli etiyolojik faktörler yanında melatonininde etkin olabileceği bildirilmektedir. Özellikle insan prostat dokusunun spesifik melatonin bağlanma bölgeleri içerdiği ve bunun da benin prostat dokusunun glandüler epitelyumunda lokalize olarak mikrozomal fraksiyon ile ilişkili olduğunun saptanması, melatoninin çeşitli mekanizmalarla benin prostat hiperplazisi (BPH) etiyopatogenezinde etkin rol oynayabileceğini gündeme getirmiştir.

Bu nedenle melatoninin prostat üzerine etkisini araştırmak için, orşiektomize ratlarda prostat melatonin, 6-hidroksimelatonin, serotonin düzeyleri ve prostat, vezikula seminalis ağırlıkları değerlendirildi.

Prostatın melatonine duyarlılığını değerlendirmek için bilateral orşiektomi yapılan ve prostat glandı ağırlığında değişikliklerin oluşması için yedi gün bekletilen toplam 40 Wister-Albino cinsi rat dört grup halinde randomize edildi.

Grup 1: Sadece orşiektomi uygulanan kontrol grubu,

Grup 2: Orşiektomi uygulanıp 7 günlük bekleme periyodu sonrası sağ arka bacaklarında musculus bicepsfemoris semitendineus ve musculus gluteus maximus kaslarına 4 gün süreyle 5 mg/kg dozunda melatoninin uygulanan grup,

Grup 3: Orşiektomi uygulanıp 7 günlük bekleme periyodu sonrası karın cildine subkutan olarak 4 gün süreyle 1 mg/kg dozunda testosteron propionat uygulanan grup

Grup 4: Orşiektomi uygulanıp 7 günlük bekleme periyodu sonrası sağ arka bacaklarında musculus bicepsfemoris semitendineus ve musculus gluteus maximus kaslarına 4 gün süreyle 5 mg/kg dozunda melatoninin uygulanan ve karın cildine subkutan olarak 4 gün süreyle 1 mg/kg dozunda testosteron propionat uygulanan grup.

Tüm gruplardaki ratların prostat, veziküla seminalis ağırlıkları ve prostat melatonin, 6-hidroksimelatonin, serotonin düzeyleri değerlendirildi.

Sadece melatonin uygulanan grup 2'deki ratların prostat ve veziküla seminalis ağırlıkları, sadece testosteron uygulanan grup 3'teki ratlarda anlamlı olarak daha düşük saptandı. Hiçbir grupta prostatta melatoninin tespit edilmemesine rağmen, 6-hidroksimelatonin düzeyi grup 2'de grup 3'e göre anlamlı olarak yüksek saptandı. Serotonin düzeyleri açısından grup 4'teki değerler grup 2'den anlamlı olarak yüksek idi.

Melatoninin prostat üzerine olası etkisi, aktif bir metaboliti olan 6-hidroksimelatonin etkisi ile ve prostatın büyümesini önleyici yönden olmaktadır. Non-invaziv ve yeni medikal tedavi alternatiflerinin halen araştırma konusu olduğu BPH'da, medikal tedavi seçenekleri içerisinde melatonin, yeni bir model olarak araştırılması gereken bir hormondur.

Anahtar Kelimeler: Prostat, melatonin, 6-hidroksimelatonin

GİRİŞ

Benin prostat hiperplazisi (BPH) genellikle 50 yaşın üzerindeki erkeklerde görülen ve alt üri-ner sistem semptomları ile ortaya çıkan bir patolojidir. Gelişiminde pek çok faktörün etkili olduğunun saptanmasına rağmen, iki etmenin varlığının BPH gelişiminde mutlak gerekli olduğu bilinmemektedir. Birincisi yaşlanma, diğeri ise fonksiyonel testisin yani androjenik hormonların varlığıdır¹. Ayrıca insan benin prostat hiperplazisinin gelişmesinde androjen-östrojen imbalansının etkin olduğu ve melatoninin de bu gelişimde rol oynayabileceği bildirilmektedir^{2,3}.

Normal puberte sonrası, erkek seks organları melatonine duyarlı ise de, erkek üreme fizyolojisinde etkin olan melatoninin özellikle immatür ratlarda, prostatı da kapsayan aksesuar seks organlarının büyüme ve matürasyonunu inhibe ettiği saptanmıştır⁴⁻⁶.

Bu çalışmada melatoninin, BPH gelişimindeki etkinliğini belirlemek için, deneysel olarak prostat ve veziküla seminalis ağırlıklarına etkisinin araştırılması amaçlandı. Ayrıca bu olayda etkin olması muhtemel 6-hidroksimelatonin ve serotonin düzeylerinin de değerlendirmesi yapıldı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Erişkin tip *Wistar-Albino* cinsi toplam 40 rat çalışmaya alındı. Ratlar deney öncesi 18-52 °C

oda sıcaklığı ve diürrinal ışık şartlarında (12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık) tutuldu ve stan-dart pellet yemi ve şehir içme suyu kullanılarak beslendi. Tüm ratların sağ arka bacaklarından musculus bicepsfemoris semitendinosus ve musculus gluteus maximus kaslarına uyan bölgeye genel anestezi oluşturmak amacı ile intramüsküler olarak 75 mg/kg dozunda Ketamine hidroklorit ve 8 mg/kg dozunda *Xylazine hidroklorit* uygulandı ve bilateral orşiektomi yapıldı. Prostat glandı ağırlığında değişikliklerin oluşması için 7 gün beklendi². Yedi günlük bekleme periyodu sonrası 40 erkek rat randomize edilerek her grupta 10 rat olmak üzere;

Grup 1: Sadece orşiektomi uygulanan kontrol grubu,

Grup 2: Orşiektomi uygulanıp 7 günlük bekleme periyodu sonrası sağ arka bacaklarında musculus bicepsfemoris semitendineus ve musculus gluteus maximus kaslarına 4 gün süreyle 5 mg/kg dozunda melatoninin uygulanan grup,

Grup 3: Orşiektomi uygulanıp 7 günlük bekleme periyodu sonrası karın cildine subkutan olarak 4 gün süreyle 1 mg/kg dozunda testosteron propionat uygulanan grup,

Grup 4: Orşiektomi uygulanıp 7 günlük bekleme periyodu sonrası sağ arka bacaklarında

musculus bicepsfemoris semitendineus ve musculus gluteus maximus kaslarına 4 gün süreyle 5 mg/kg dozunda melatoninin uygulanan ve karın cildine subkutan olarak 4 gün süreyle 1 mg/kg dozunda *testosteron propionat* uygulanan grup olarak dört gruba randomize edildi.

Ratlar 7 günün sonunda prostat ve vezikula seminalislerinin çıkarılması için giyotin yardımı ile dekapite edildi. Stresi önlemek amacıyla dekapitasyon işlemleri 5-10 saniye içinde gerçekleştirildi. Ardışık dekapitasyon işlemleri yapılırken giyotin her bir hayvan kesilmeden önce musluk suyu ile yıkanıp temizlendi ve kurutuldu. Böylece ratlarda stres unsuru en aza indirilmeye çalışıldı. Dekapite edilen hayvanların batin alt kısmına yapılan insizyonla cilt, cilt altı, kas yapıları kesildi. Sağ ve sol vezikula seminalisleri ayrı ayrı çıkarılıp mikrogram hassasiyetindeki terazi ile tartıldı. Mesane arkaya çekilip pubis kemiği altında prostata ulaşıldı. Prostat çevre dokulardan dikkatli bir şekilde diseksiyon edilip çıkartıldı ve hassas terazi ile tartıldı. Prostat dokusuna 900 µl 0.1 M HCL (*Surechem Products LTD*, İngiltere) ilave edildi ve homojenize oluncaya kadar cam homojenizatör ile işlendi ve sonra numuneler hemen kuru buz ile donduruldu. Ekstre edilen bu numuneler daha sonra +4 °C'ta 10 dk. 3000 devirde santrifüjde döndürülerek sıvı kısmı ile protein kısmının ayrışması sağlandı. Üstte kalan sıvı kısım bir enjektör yardımıyla dikkatli bir şekilde alınıp 0,45 µm'lik mikro-filtreler ile filtre edildi ve başka bir plastik kapaklı tüpe konulup kuru buzda hemen dondurularak analizler için derin dondurucuya yerleştirildi.

Mikro-panç ile alınan doku numunelerinde melatonin, 6-hidroksimelatonin ve serotonin tayinini yüksek hassasiyete ve seçiciliğe sahip HPLC-ECD (*High Performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection*) ile Pg amin/mg. yaş doku olarak tayin edildi.

Sonuçlar SPSS ortamında istatistiksel olarak değerlendirildi. Değerler arası korelasyonu belirlemek için, Pearson korelasyon testi, ilişkiyi belirlemek için ise Mann-Whitney U testi ve Student's t testi kullanıldı.

BULGULAR

Toplam 7 günlük bekleme periyodundan sonra sadece melatonin uygulanan grup 2'deki

ratların vezikula seminalis ağırlıkları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermezken, sadece testosteron uygulanan grup 3'teki ratlardan ölçülen vezikula seminalis ağırlıkları kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edildi (p değerleri sırasıyla 0.312, 0.001). Testosteron ve melatoninin birlikte uygulandığı grup 4'teki ratlarda ise melatoninin vezikula seminalis ağırlığına etkisinin grup 3'ten anlamlı olarak farklı olmadığı belirlendi (p: 0.127) (Tablo 1).

	Ort. prostat ağırlıkları (gr)	Ort. vezikula seminalis ağırlıkları (gr)
Grup 1 (Kontrol)	0,2682±0,021	0,2157±0,27
Grup 2 (Melatonin 5 mg/kg)	0,1747±0,03	0,1882±0,56
Grup 3 (Testosteron 1 mg/kg)	0,4322±0,028	0,6895±0,21
Grup 4 (Melatonin 5 mg/kg+testosteron 1 mg/kg)	0,3020±0,036	0,5330±0,02

Tablo 1. Orşiektomi yapılan ratlardan elde edilen prostat ve vezikula seminalis ağırlıkları

Prostat ağırlıkları açısından grup 3'teki ratlarda belirlenen değerler diğer üç gruptan anlamlı olarak yüksek saptandı (p değerleri grup 1, 0.002, grup 2: 0.01, grup 4: 0.002) (Tablo 1). Melatonin verilen grup 2'deki ratların prostat ağırlıkları ise tüm gruplardan anlamlı olarak düşüktü (p<0.01). Ölçülen prostat ağırlıkları açısından da, melatoninin testosteron ile birlikte verildiği grupla kontrol grubu arasında fark saptanmadı (p: 0.437) (Tablo 1).

HPLC yöntemi ile prostat dokularında melatonin varlığının araştırılmasında, hiçbir grupta melatonin varlığı tespit edilemedi.

Orşiektomi sonrası testosteron uygulanan ratlardan elde edilen prostat dokularından HPLC yöntemi ile belirlenen 6-hidroksimelatonin düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük saptandı (p=0.044). Melatonin verilen gruptaki prostat dokularında 6 hidroksimelatonin düzeyleri ise kontrol grubuna göre yüksek olarak belirlendi ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.312). Testosteron ve-

riken gruba göre melatonin verilen gruptaki prostat dokularında 6-hidroksimelatonin düzeyleri istatistiksel olarak yüksek tespit edildi ($p=0.04$). Melatonin ve testosteron verilen grupta ise 6-hidroksimelatonin düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulundu ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.075$) (Tablo 2).

	6-hidroksimelatonin düzeyleri	Serotonin düzeyleri
Grup 1 (Kontrol)	11,35±2,48	17, 79±5,35
Grup 2 (Melatonin 5 mg/kg)	10,17±1,61	24,85±4, 87
Grup 3 (Testosteron 1 mg/kg)	5,96±1	14,32±3,22
Grup 4 (Melatonin 5 mg/kg+testosteron 1 mg/kg)	12,22±1	58,67±11,36

Tablo 2. Orşiektomi sonrası bütün gruplarda elde edilen prostat dokularında HPLC yöntemi ile belirlenen 6 hidroksimelatonin ve serotonin düzeyleri

Orşiektomi sonrası testosteron uygulanan ratlardan elde edilen prostat dokularında HPLC yöntemi ile belirlenen serotonin düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulundu ve bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p=0.610$). Melatonin verilen gruptaki prostat dokularında ise serotonin düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlendi ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0.343$). Testosteron verilen gruba göre melatonin verilen gruptaki prostat dokularında serotonin düzeyleri yüksek bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p=0.104$). Melatonin verilen gruptaki serotonin düzeyleri melatonin ve testosteron verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük tespit edildi ($p=0.014$) (Tablo 2).

TARTIŞMA

Prostat hiperplazisi, ileri yaş erkeklerde en sık saptanan benin patolojilerden olduğu için, non-invaziv tedavi yöntemleri ve özellikle prostat volümünü küçültüp BPH'nın diğer organlara yaptığı etkileri önleyerek semptomları azaltacak medikal tedavi alternatifleri halen yaygın araştırma konusudur.

İnsan prostat dokusunun spesifik melatonin bağlanma bölgeleri içerdiği, bunun benin prostat

dokusunun glandüler epitelyumunda lokalize olarak mikrozomal fraksiyon ile ilişkili olduğunun saptanması melatoninin çeşitli mekanizmalarla BPH etiopatogenezinde etkin rol oynayabileceğini gündeme getirmiştir⁷. Melatoninin, BPH doku örneklerinde 5 α -redüktaz aktivitesini etkilemeden 3 α -redüktaz aktivitesini stimüle ederek, prostatik dihidrotestosteron düzeylerini azalttığı, ayrıca sıçan testis hücre kültüründe cGMP'yi artırarak testosteron salınımını önlediği belirlenmiştir^{8,9}. Ayrıca prostat epitel hücrelerinden Salınan TGF-beta l'in hücre büyümesini inhibe ettiği, bu etkisinin melatonin tarafından kontrol edildiği ve H3-timidin birleşmesinin TGF-beta l tarafından inhibe edildiği saptanmıştır¹⁰. Yine melatoninin fizyolojik konsantrasyonlarda benin prostat hiperplazisi tanısı almış hastaların kültüre edilmiş prostat epitelial hücrelerinde DNA sentezi ve cGMP'yi inhibe ederek canlılığını azalttığı belirlenmiştir^{2,11}. Sonuç olarak çeşitli etki mekanizmaları ile melatoninin BPH gelişimini önlediği bildirilmektedir. Çalışmamızda da orşiektomize olup testosteron verilen ratlarda testosteronun prostat ve vezikula seminalis ağırlıklarını anlamlı biçimde arttırdığı ancak testosteronla birlikte melatonin verilen grupta melatoninin bu etkiyi azalttığı belirlendi. Sadece melatonin verilen grupta ise prostat ağırlıklarının melatoninin etkisi ile azaldığı saptandı.

BPH gelişiminde, melatoninin sistemik etkilerinin yanında, ventral prostata lokal etkilerinin de rol oynayabileceği bildirilmektedir. Bu etkilerin, ekzojen melatonin uygulanmasının, testosteron ve 3 OH-testosteronun ventral prostata uptake'nin azaltılması yolu ile olduğu belirtilmektedir. Bu etkinin 4,8 mg/kg'dan daha yüksek dozda melatonin uygulanan ratlarda saptanacağı bildirilmektedir. Yine melatoninin, testosteron yokluğunda androjen reseptör dansitesini regüle ettiği ve testosteron bağımlı büyümeyi durdurduğu bildirilmektedir⁸. Çalışmamızda melatonin 5 mg/kg dozunda uygulandı ve prostatın ağırlığına azaltıcı etkisinde belirtilen lokal faktörlerinde etkin olduğu saptandı. Sadece melatonin uygulanan grup 2'de ölçülen prostat ağırlığının, testosteron ile melatoninin birlikte uygulandığı grup 4'ten daha düşük değerlerde saptanması bu etkiyi desteklemektedir.

Erkek genital sisteminin çeşitli seviyelerindeki organ sistemlerinde melatoninin yanında, melatoninin metabolitlerinin de fonksiyonel etkisinin olduğu ve özellikle 6-hidroksimelatoninin, anterior pituitar bez, hipotalamus, testis ve prostatta, melatoninin indirekt etkisine katkıda bulunduğu bildirilmektedir¹². Çalışmamızda orşiektomize ratlarda testosteron verilen 3. gruba göre melatonin verilen 2. gruptaki prostat dokularında 6-hidroksimelatoninin düzeyleri yüksek bulundu. Testosteron uygulanan grupta melatoninin metaboliti olan 6-hidroksimelatoninin seviyeleri ise kontrol grubundan düşük olmasına rağmen melatonin ve testosteron verilen 4. grupta 6-hidroksimelatoninin düzeyleri testosteron verilen gruba göre yüksek olarak saptandı. Sonuç olarak melatonin aktif bir metabolit olan 6 hidroksimelatoninin de prostatta etkili olduğu düşünülmektedir.

Serotonin, melatonin sentezinde yer alan aktif bir maddedir. Melatonin salınımının arttığı karanlık ortamlarda pineal bezin '*serotonin uptake*' miktarı da artmaktadır. Bundan dolayı melatoninin erkek üreme sistemindeki etkisinde serotoninin de rol oynayabileceği düşünülmektedir⁹. Çalışmamızda orşiektomi sonrası testosteron uygulanan 3. gruptaki ratlardan elde edilen prostat dokularındaki serotonin düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulundu. Ayrıca melatonin verilen 2. gruptaki serotonin düzeyleri melatonin ile beraber testosteron verilen 4. gruba göre düşük bulundu. Testosteron verilen 3. grupta serotonin miktarının düşük saptanması, testosteronun prostatın ektrin ve parakrin hücrelerinin sekresyonlarını azaltıcı etkisinden kaynaklanabileceği, melatonin ve testosteron verilen gruptaki serotonin seviyesi yüksekliğinin ise testosteronun, serotonin sekresyonunu azaltıcı etkisinin melatonin tarafından önlenmesi yolu ile olabileceği düşünülmektedir. Bu etki serotonin sentezinden sorumlu enzimlerden birinin aktive olmasından veya serotoninin yıkımından sorumlu olan enzimin inhibe olmasından kaynaklanabilecektir.

Sonuç olarak melatonin ve aktif bir melatoninin metaboliti olan 6-hidroksimelatoninin, erkek aksesuar seks organları ve BPH gelişiminde çeşitli mekanizmalarla etkin olan hormonlardır. Serotonin ise bu olaylarda, daha kompleks yollarla etkili olmaktadır.

KAYNAKLAR

- 1- **Akdaş A:** Benin Prostat Hiperplazisi: In Anafarta K, Göğüs O, Bedük Y, Arkan N, (eds): Temel Üroloji. 832-854, 1998.
- 2- **Gliad E, Matzkin Z, Zisapel N:** Functional melatonin receptors in human prostate epithelial cells. *Endocrinol.* 137: 1412- 1416, 1997.
- 3- **Reiter RJ:** Oxidative damage in the central nervous system: Protection by melatonin. *Prog Neurobiol.* 56: 359-384, 1998.
- 4- **Lang U:** Melatonin and puberty. *Pineal Res Rev.* 4: 199-203, 1996.
- 5- **Debeljuk L, Feder V, Paulicci OA:** Effects of melatonin on changes induced by castration and testosterone in sexual structures of male rats. *Endocrinol.* 87: 1358-1364, 1970.
- 6- **Yamada K:** Effects of melatonin on reproductive and accessory reproductive organs in male rats. *Chem Pharm Bul.* 40: 1066- 1070, 1992.
- 7- **Moshe I, Eli G:** Putative melatonin receptors in benign human prostate tissue. *J Clin Endocrinol Metab.* 81: 1336-1342, 1996.
- 8- **Gliad E, Laudon M, Matzkin Z, et al:** Evidence for a local action of melatonin on rat prostate. *J Urol.* 159: 1069-1073, 1998.
- 9- **Sirotkin AV, Schaefer HJ:** Direct regulation of mammalian reproductive organs by serotonin and melatonin. *J Endocrinol.* 154: 1-5, 1997.
- 10- **Rimler A, Matzkin Z:** Cross talk between melatonin and TGF beta-1 in human benign prostate epithelial cells. *Prostate.* 1: 211-217, 1999.
- 11- **Gliad E, Laudon M, Matzkin Z:** Interplay between sex steroids and melatonin regulations of human benign prostate epithelial cell growth. *J Clin Endocrinol Metab.* 82: 2535- 2539, 1997.
- 12- **Srivilai W, Withyachumnarnkul B, Trakulrungs W:** Stereological changes in rat ventral prostate induced by melatonin. *J Pineal Res.* 2: 111-119, 1989.