

# DeneySEL hepatic iskemi reperfüzyon modelinde melatonin uygulamasının kan ve karaciğer doku lipid peroksidasyonuna etkisi

The effect of melatonin on serum and liver tissue lipid peroxidation in hepatic ischemia reperfusion injury

Mehmet Çağlıkülekcı\*, Öner Bilgin\*, Hakan Canbaz\*, Musa Dirlık\*, Özlen Bağdatoğlu\*\*, Bora Üstünsoy\*, Tuğba Karabacak\*\*\*, Süha Aydın\*

## Amaç:

Bu çalışmamızda deneySEL hepatic iskemi- reperfüzyon (HIR) oluşturulan deneklerde bir indüklenabilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) inhibitörü ve antioksidan olan melatonin uygulanmasının kan ve karaciğer doku lipid peroksidasyonu üzerine olan etkisi incelenmiştir.

## Durum Değerlendirmesi:

Hepatic iskemi reperfüzyon hasarı, karaciğer transplantasyonu ve hepatic rezeksiyonlar sırasında oluşabilen bir durumdur. HIR hasarında, serbest oksijen radikalleri(SOR), indüklenabilir nitrik oksit sentetaz(iNOS) artmakta antioksidan kapasite azalmaktadır. Nitrik oksit ve SOR arasındaki reaksiyon, çok zararlı peroksinitritlerin oluşumuna ve lipid peroksidasyonuna yol açabilmektedir. Melatonin; iNOS düzeyini azaltmakta, SOR'lerini düşürmekte, sitokin ve adezyon moleküllü ekspresyonunu inhibe etmektedir.

## Yöntem:

Her biri 10 Wistar Albino rat (150-250 gram) içeren 3 grup oluşturuldu. Sham (Grup A) grubundaki ratlara laparotomi yapıldıktan sonra portal triad bulundu. Ancak herhangi bir işlem yapılmadı. HIR grubundaki(Grup B) ratlarda 45 dakika süre ile vasküler klempaj ile hepatic iskemi oluşturuldu. Daha sonra klemp açılarak 30 dakika süre ile reperfüzyon sağlandı. HIR+melatonin(Grup C) uygulanan deneklerde, B grubuna ek olarak reperfüzyondan 5 dakika önce Melatonin (10 mg/kg) intraperitoneal olarak verildi. Ratlar sakrifiye edilerek kanda myeloperoksidaz(MPO), malondialdehit(MDA) düzeylerine bakıldı. Ayrıca karaciğer doku MPO, MDA düzeylerine bakıldı. Ek olarak, gruplardaki karaciğer dokusu histopatolojik olarak incelendi.

## Bulgular:

HIR oluşturulan deneklerde, kan ve doku MDA ve MPO düzeyleri yüksek olarak bulundu. HIR grubunda (grup B) karaciğer dokusunda nekroz ve inflamasyon saptandı. Melatonin uygulanması ile kan MDA düzeylerinde anlamlı düzeyde azalma görüldü, doku MDA düzeylerinde ise anlamlı olmamakla birlikte düşme saptandı. Kan ve doku MPO düzeylerinde ise istatistiksel açıdan anlamlı azalma saptandı. Yine melatonin uygulanan grupta (grup C) karaciğer histopatolojisinde HIR grubuna (grup B) göre düzelmeye görüldü.

## Sonuç:

Bu çalışmamızda bir antioksidan olan melatonin uygulanması ile HIR hasarının yol açabileceği kan ve doku lipid peroksidasyonunda azalma ve karaciğer fonksiyonlarında korunma gözlenmiştir.

## Anahtar Kelimeler:

Hepatic iskemi reperfüzyon hasarı, melatonin, lipid peroksidasyonu.

Hepatic iskemi-reperfüzyon (HIR) hasarı, mekanizmasında Serbest oksijen radikallerinin (SOR) rol aldığı ve dokuda oksidatif bir stresin söz konusu olduğu patolojik bir durumdur. Bazı operasyonlarda, karaciğere giden kanın tamamen durdurulması gerekebilir. Hepatic kan akımı, hemorajik şok, ciddi travma sonrası ve sepsisin geç evresinde azalmaktadır. Bazı karaciğer tümörlerinin tedavisinde kullanılan hepatic arter ligasyonu, vasküler lezyonlar ve karaciğer yaralanmaları hepatic kan akımını azaltmaktadır (1,2).

HIR hasarında temel olay enerji yetersizliğidir. Oksidatif stres, HIR hasarının hem erken hem de geç fazında ortaya çıkan patolojik mekanizmalardan sorumludur. Hipoksi ve daha sonrasında gelişen reperfüzyon döneminde ortaya çıkan enerji azlığının doğal bir sonucu olarak, Kupffer hücrelerinde ve renal tübüler endotel hücrelerinde ksantin oksidaz aktive olmakta ve bu da diğer SOR düzeylerini ve lipid peroksidasyonunu artırmaktadır (3). Lipid peroksidasyonu, hücre membran bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır. Artan oksidatif strese bağlı olarak Kupffer hücreleri inflamatuvar hücreleri tetikleyerek SOR ve lipid peroksidasyon (LPO) ürünlerinin artmasına neden olmaktadır. Süreç sonunda lokal ve sistemik organ hasarı ortaya çıkmaktadır (4,5).

HIR hasarı modellerinde artmış indüklenabilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri saptanmaktadır. NO'in SOR ve LPO ürünleri ile etkileşerek peroksinitrit (ONOO-) anyonlarının oluşmasına neden olduğu bilinmektedir. Sonuçta hücreSEL hasar, DNA parçalanması, apoptozis, nükleer faktör kapp B (NF-KB) aktivitesinde artış olmaktadır. Bu da organ yetmezliğine yol açmaktadır (6).

Melatonin, serbest radikalleri önleyici ve antioksidan etki göstermektedir. Glutatyon peroksidaz, superoksit dismutaz, glutatyon redüktaz gibi antioksidatif enzim düzeylerini artırmakta, MDA ve MPO aktivitesini azaltmaktadır. Peroksinitrit ve NO düzeylerini düşürmektedir. NF-KB aktivitesini azaltmaktadır (7-9).

Bu çalışmada, HIR oluşturulan deneklerde melatonin uygulamasının lipid peroksidasyonuna olan etkisinin deneySEL bir çalışma ile irdelenmesi amaçlandı.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi DeneySEL Tıp Araştırma merkezinde gerçekleştirildi. Çalışmamızda 30 adet, ortalama ağırlığı 200 gr olan Wistar albi-

\* Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hepatopankreato

Biliyer Cerrahi Ünitesi, MERSİN

\*\* Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,

MERSİN

\*\*\* Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD, MERSİN

Mehmet ÇAĞLIKÜLEKCİ

Palma 2 Sitesi A1 Blok Kat: 6

No: 17 Davultepe / MERSİN

Tel: (0532) 3256376

e-posta: mcaglikulekci@yahoo.com

no cinsi rat kullanıldı. Etik kurul onayı alındıktan sonra (B.30.2.0.01.00.00/3-114) çalışmaya başlandı. Ratların barınma, beslenme, cerrahi işlemler, ilaç uygulamaları aynı merkezde yapıldı.

### Çalışma Grupları

Her grupta 10 rat olacak şekilde 3 grup oluşturuldu. Gruplar, sham (Grup A), HIR (Grup B), HIR+melatonin (Grup C) olarak belirlendi.

### Sham

Bu gruptaki ratların karaciğer hilus bölgesinde minimal disseksiyon yapıldı. Portal triad bulundu. Ancak herhangi bir iskemi oluşturulmadı. Sonrasında deney hayvanları sakrifiye edilerek gerekli kan ve doku örnekleri alındı.

### Hepatik İskemi-Reperfüzyon Grubu

Bu gruptaki deneklerde sham grubundan farklı olarak vasküler klemp ile hepatoduodenal ligaman üzerine Pringle manevrası yapıldı. Kırkbeş dakika iskemi oluşturulduktan sonra vasküler klemp açılmak sureti ile 30 dakika süre ile reperfüzyon yapıldı. Sonrasında ratlar sakrifiye edilerek kan ve doku örnekleri alındı.

### Melatonin Grubu

Reperfüzyondan 5 dakika önce, C grubundaki deneklere melatonin (10mg/kg) intraperitoneal (ip) olarak enjekte edildi

### MDA düzeyleri

MDA ölçümü için 1 ölçü serum ya da doku örneği 10 ölçü 15 mmol/L KCL içinde homojenize edildi. Hiroshi ve Yagi tarafından oluşturulan yöntem ile lipid peroksidasyon indeksi olan MDA seviyeleri, tiobarbitürik asit reaksiyonu ile tespit edildi (10). Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA tiobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek renkli bir kompleks oluşturmaktadır. TBA reaktivitesi ile MDA miktarının ölçümü lipid peroksidasyonun değerlendirilmesi için en sık kullanılan metoddur. Metodun temel TBA ve MDA etkileşimi ile ortaya çıkan pembe rengin 530 nm'de absorbansının ölçülmesine dayanır. 1,1,3,3-tetraetoksipropanın renk reaksiyonu, primer standart olarak kullanıldı. Ölçülen değer, nmol/ml serum ya da nmol/gram yaş doku ağırlığı olarak ifade edildi.

### Myeloperoksidaz Düzeyleri

MPO aktivite ölçümü için, bir ölçü doku 10 ölçü heksadesilltrimetil-

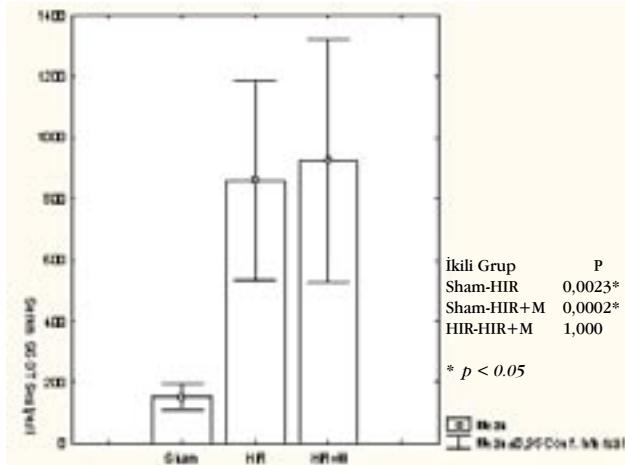
monyum bromid (HETAAB) tampon ile homojenize edildi. MPO aktivite ölçümü MPO'nun di-metoksibenzidin'i indirgemesi esasına dayanmaktadır. Serum ya da doku örneği 10 nM 3-(N-mofolino) propan sulfonik asit içindeki % 0,5'lik HETAAB içinde homojenize edildikten sonra 40 dk süreyle 15,000 devirde santrifüje edildi. Supernatan eş miktarda 1% (w/v) dimetoksibenzidin ve 1nM hidrojen peroksit ile karıştırıldı. 30 dk'lık inkübasyondan sonra, reaksiyon 3 M HCl ile sonlandırılıp, 410 nm'de ve 37-°C'de spektrofotometre kullanılarak absorbans değişikliği şeklinde ölçüm yapılmıştır. Sonuçlar 'ml serum' ya da 'gram doku' başına 'MPO Ünitesi' olarak ifade edildi (11).

### Histopatoloji

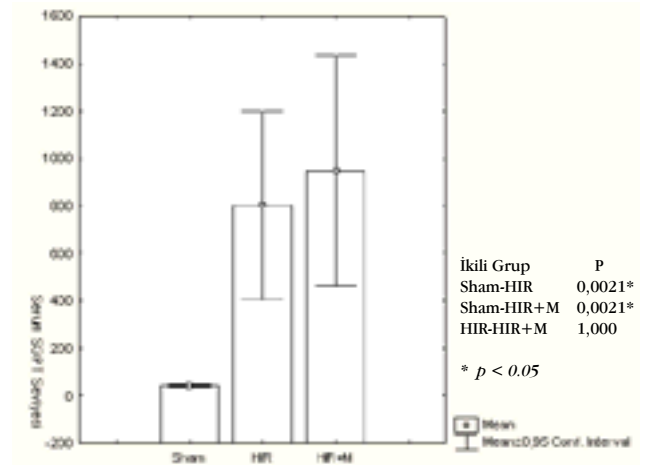
Spesimenler %10'luk formalin içerisinde 24 saat fikse edildikten sonra standart dehidratasyon yapıldı ve parafin içine gömüldü. Preparatlar standart metodlar kullanılarak hematoksilen ve eosin ile boyandı.

### İstatistiksel Ölçümler

Gruplar arasında fark olup olmadığı SPSS (Statistical Package for Social Science) 11.0 istatistik paket programında Kruskal-Wallis test istatistiği ile



Şekil1: Serum SGOT düzeyi.



Şekil2: Serum SGPT düzeyi.

test edilmiştir. Farklılık bulunan değişkenlerde de farklı olan grupları belirleyebilmek için STATISTICA 6.0 istatistik paket programında Dunn testi ile test edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık ve anlamlılık düzeyleri error bar grafiği ile şematize edildi,  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

## Sonuçlar

### Serum SGOT, SGPT

Serum SGOT ve SGPT düzeyleri karşılaştırıldığında, HIR grubunda sham grubuna göre belirgin derecede yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Ancak melatonin verilmesi ile olumlu bir değişiklik görülmemiştir (Şekil 1 ve 2).

### Serum MDA aktivitesi

Serum MDA düzeyleri karşılaştırıldığında, ortalama değer sham grubunda 13.81, HIR grubunda 14.88, HIR+melatonin grubunda ise 7.80 olarak bulunmuştur. HIR grubunda MDA düzeyleri en yüksek seviyede olup; melatonin verilmesi ile serum MDA düzeylerinde HIR grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olmamakla birlikte bir düşme saptanmıştır. (Sham/HIR:  $p > 0.05$ ), (Sham/HIR+M:  $p > 0.05$ ), (HIR/HIR+M:  $p > 0.05$ ) (Şekil 3).

### Karaciğer doku MDA aktivitesi

Karaciğer doku MDA düzeyleri karşılaştırıldığında, ortalama değer sham grubunda 6.38, HIR grubunda 16.71, HIR+melatonin grubunda ise 13.50 olarak bulunmuştur. HIR grubunda MDA düzeyleri en yüksek seviyede olup; melatonin verilmesi ile serum MDA düzeylerinde, istatistiksel açıdan anlamlı olmamakla birlikte, bir azalma saptanmıştır (Sham/HIR:  $p < 0.05$ ), (Sham/HIR+M:  $p > 0.05$ ), (HIR/HIR+M:  $p > 0.05$ ) (Şekil 4).

### Serum MPO aktivitesi

Serum MPO düzeyleri açısından gruplar karşılaştırıldığında, ortalama değer sham grubunda 4.88, HIR grubunda 19.38, HIR+melatonin grubunda ise 13.25 olarak bulunmuştur. HIR grubunda lipid peroksidasyonunun ve oksidatif stresin artmasına bağlı olarak MPO düzeyi yüksek olarak bulunmuştur. Serum MPO düzeyleri açısından, sham ve HIR grubu arasında anlamlı, HIR ve HIR+melatonin grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı olmayan fark saptanmıştır. Melatonin uygulanması ile MPO düzeylerinde istatistiksel açıdan anlamlı olmamakla birlikte, bir düzelmeye saptanmıştır (Sham/HIR:  $p < 0.05$ ), (Sham/HIR+M:  $p > 0.05$ ), (HIR/HIR+M:  $p > 0.05$ ) (Şekil 5).

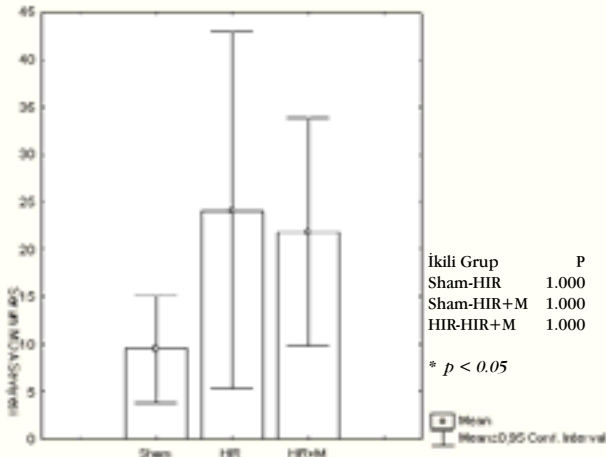
$p > 0.05$ ), (HIR/HIR+M:  $p > 0.05$ ) (Şekil 5).

### Karaciğer doku MPO aktivitesi

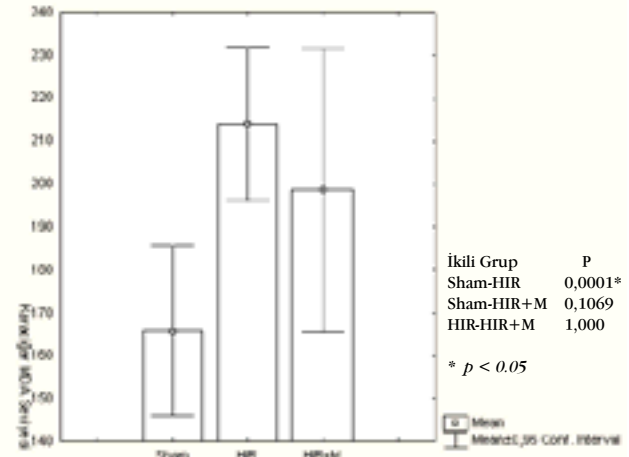
Karaciğer doku MPO düzeyleri açısından gruplar karşılaştırıldığında, ortalama değer sham grubunda 8.63, HIR grubunda 18.71, HIR+melatonin grubunda ise 9.50 olarak bulunmuştur. HIR grubunda doku MPO düzeyi yüksek olarak bulunmuştur. Doku MPO düzeyleri açısından sham ve HIR grubu arasında, HIR ve HIR+melatonin grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmıştır. Melatonin uygulanması ile MPO düzeylerinde istatistiksel açıdan anlamlı derecede düzelmeye saptanmıştır. (Sham/HIR:  $p > 0.05$ ), (Sham/HIR+M:  $p > 0.05$ ), (HIR/HIR+M:  $p < 0.05$ ) (Şekil 6).

### Karaciğer Histopatolojisi:

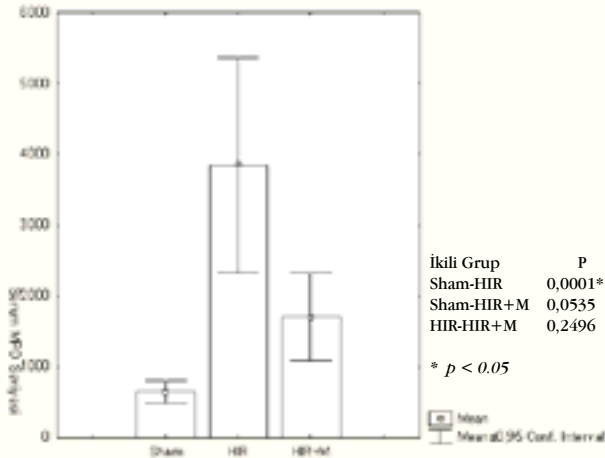
Sham grubunda normal karaciğer histopatolojisi izlenirken (Resim 1), HIR grubunda orta şiddette inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve birçok odakta hepatik nekroz dikkati çekti (Resim 2). HIR+ melatonin grubunda portal alanlarda hafif şiddette mononükleer hücre infiltrasyonu mevcuttu. Hepatik nekroz saptanmadı. Portal alanlarda patoloji izlenmedi (Resim 3).



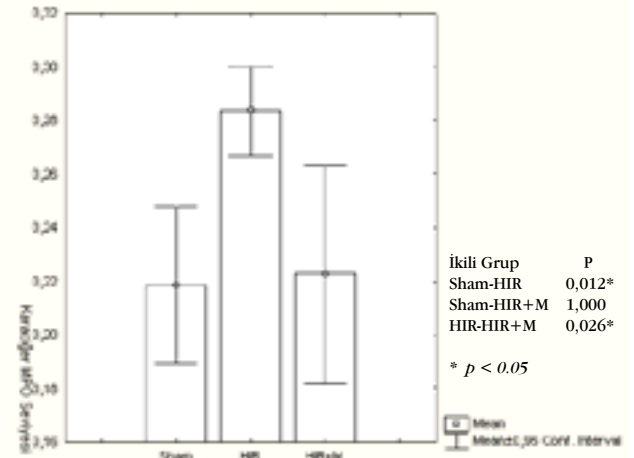
Şekil 3: Serum MDA düzeyi.



Şekil 4: Karaciğer doku MDA düzeyi.



Şekil 5: Serum MPO düzeyi.



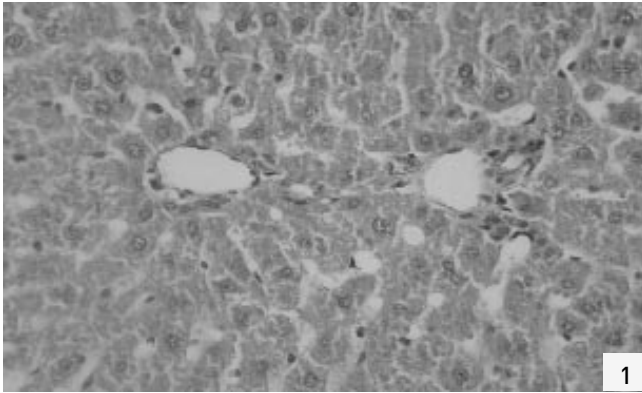
Şekil 6: Karaciğer doku MPO düzeyi.

## Tartışma

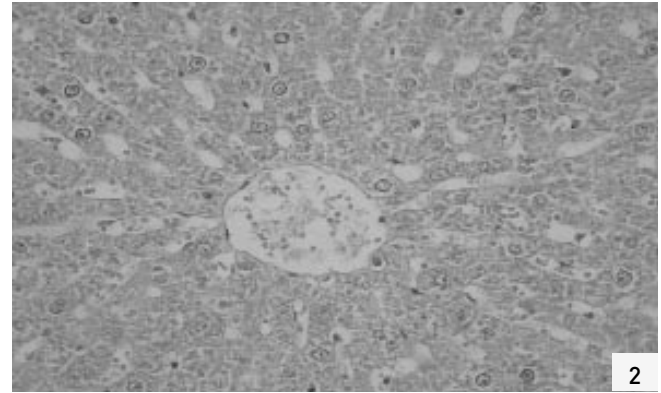
DeneySEL çalışmamızda, melatonin uygulanması ile HIR hasarı oluşturulan deneklerde kan ve doku lipid peroksidasyonunda değişiklikler gözlemledik. HIR hasarı; NO, birçok sitokin, endotelin ve SOR'nin rol oynadığı karmaşık bir mekanizma içermekte olup karaciğer travmaları, karaciğer transplantasyonu ve karaciğer rezeksiyonu

sonrasında ortaya çıkabilmektedir. Karaciğer kan akımının geçici olarak durması ile iskemi, kan dolaşımının tekrar sağlanması ile de reperfüzyon hasarı oluşabilmektedir. Doku hasarı, hem iskemi hem de reperfüzyon sırasında gelişmektedir. İskemi sonucu ortaya çıkan enerji yetmezliği; oksidatif stresin artmasına, lokal ve sistemik inflamatuvar yanıtın uyarılmasına sebep

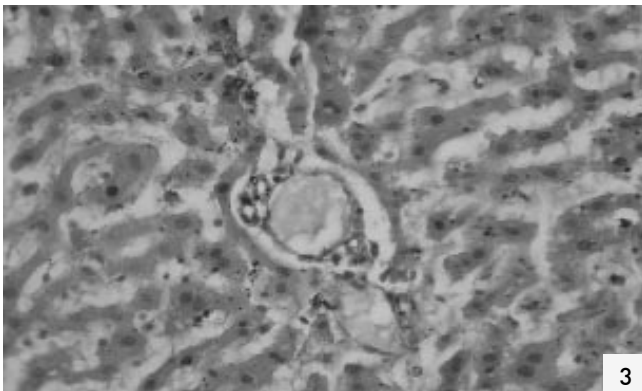
olmaktadır. Enerji yetmezliği ile birlikte hücreSEL düzeyde oksidatif stres artmakta, ATPaz aktivitesi azalmakta, SOR ve lipid peroksidasyonunda artış görülmektedir. Reperfüzyonun erken döneminde endotel hücre şişmesi, vazokonstrüksiyon, sinüzoidler içinde trombosit agregasyonu gelişmekte, hepatik mikrosirkülasyon bozulmaktadır. HIR ve endotokseminde ortaya çıkan



1



2



3

**Resim 1:** Sham Grubu: Normal karaciğer histolojisi. (HE, x400).

**Resim 2:** HIR Grubu: Zon 3 çevresinde hepatositlerde nekroz (HE, x100).

**Resim 3:** HIR+Melatonin Grubu: Santral ven çevresinde hafif sinüzoidal konjesyon. (HE, x 400).

oksidatif stres, oksidanların artması ya da antioksidanların azalmasıyla ortaya çıkan oksidan-antioksidan dengesinin bozulması sonucu gelişmektedir (12, 13). Oksidatif stres HIR hasarının hem erken hem de geç fazında ortaya çıkan patolojik mekanizmalardan sorumludur. Hipoksi ve daha sonrasında gelişen reperfüzyon döneminde ortaya çıkan enerji azlığının doğal bir sonucu olarak Kupffer hücrelerinde ve renal tübüler endotel hücrelerinde ksantin oksidaz aktive olmakta ve bu da SOR düzeylerini ve lipid peroksidasyonunu artırmaktadır. Lipid peroksidasyonu ise hücre membran bütünlüğünün bozulmasına neden olmaktadır.

HIR hasarının erken döneminde (ilk 6-12 saat), endotelin etkisi görülürken daha geç dönemde NO etkisi ortaya çıkmaktadır. Vazokonstriksiyon endotelin ve NO arasındaki balansı bozulması sonucu oluşmaktadır. Erken dönemde NADPH seviyesinin düşüklüğüne ve fazla miktarda arjinaz salınımına bağlı NO düzeyleri düşük seyretmektedir. Bu kompleks mekanizma içinde yer alan iNOS, sitokinler (TNF- $\alpha$ ), kemokinler (epitelyal nötrofil aktive edici protein) ve adezyon molekülleri (ICAM-1) kısmen NF-KB ile kontrol edilmektedir. NF-KB aktivasyonu proinflamatuvar sitokinler ve adezyon moleküllerinin sentezinde artışa yol açmaktadır. HIR hasarında artmış oksidatif stres sonucu hücrenel bir mediatör ve transkripsiyon faktörü olan NF-KB aktive olmakta, buna bağlı olarak iNOS aktivasyonu ortaya çıkmaktadır (14-16).

NF-KB hücrede sitoplazmada inhibitör alt ünitesi olan IKB şeklinde bulunmakta ve bu şekilde NF-KB'nin hücre nükleusuna geçişi ve gen ekspresyonunu başlatması engellenmektedir. TNF alfa, IL-1, SOR ve LPS antijeni; IKB'nin fosforillenmesi ve parçalanmasına yol açar ve NF-KB açığa çıkar. NF-KB proinflamatuvar sitokin, adezyon molekülleri, kemokinler ve iNOS aktivasyonu için gen ekspresyonunu başlatmaktadır (17,18).

Melatonin, hipofiz bezinde yapılan bir triptofan aminoasitinin ürünüdür. Bilinen etkisinin yanı sıra melatonin oksidatif hasarı önleyici etki göstermektedir. Melatonin, membrandaki lipitleri, sitozoldaki proteinleri, nükleustaki DNA'yı ve hücrenin mitokondriyal yapısını SOR'lerinden korumakta, iNOS ve NF-KB ekspresyonunu azaltmaktadır (19-22).

Bu nedenle çalışmamızda melatonin uygulanması ile NF-KB ve iNOS inhibisyonunun; oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu üzerindeki etkisini inceledik.

Bu çalışmada, kan SGOT ve SGPT düzeylerinde HIR hasarı sonucunda anlamlı derecede artış görülmektedir. Bu da, karaciğer hücre hasarının ve doku iskemisinin oluştuğunu göstermektedir. Ancak melatonin uygulanması ile bu enzimlerin düzeyinde bir değişiklik olmamıştır.

Bazı deneysel çalışmalarda melatoninin değişik iskemi-reperfüzyon modellerindeki etkinliği araştırılmıştır. Munoz ve ark. (23), pankreatik iske-mi-reperfüzyon hasarı oluşturdukları deneklerde melatonin ile pankreatik doku lipid peroksidasyonunda azalma, hücrenel yıkımda yavaşlama olduğunu göstermişlerdir.

Yuji ve ark. (24) yaptıkları bir çalışmada ise, melatonin uygulanması ile HIR hasarında mitokondriyal oksidatif stresin azaldığını göstermişlerdir.

Melatonin, iNOS ve NF-KB oluşumunu azaltmakta, sitokin ve SOR düzeylerini inhibe etmekte, oksidatif stresi düzeltmektedir. Çalışmamızda HIR uygulanan grupta karaciğer doku ve kan lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA ve MPO düzeyleri, sham grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Yine aynı şekilde HIR grubunda karaciğer dokusunda histolojik açıdan hasarlanma olduğu ve hücrenel yapısal fonksiyonların bozulduğu, dokuda şiddetli iltihabi infiltrasyon ve nekroz geliştiği görülmektedir. Bu sonuçlar bize HIR hasa-

rında kan ve dokuda oksidatif strete artış olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda, melatonin uygulanan grupta ise serum ve doku MDA düzeyleri ile serum ve doku MPO düzeylerinde azalma görülmüştür. Özellikle, serum MDA ve MPO düzeyleri ile doku MPO düzeylerindeki azalma istatistiksel açıdan anlamlı derecede ortaya çıkmıştır.

MPO oksidatif strete çok önemli rol oynamaktadır. Nötrofiller SOR'lerinin önemli bir kaynağı olup doku harabiyetinde önemli rol oynamaktadır. MPO düzeylerinde, iskemik dönemde beş-yedi kat; reperfüzyon döneminde ise onsekiz kata varan artışlar görülmektedir (25). Kaçmaz ve ark. (26), I/R hasarı oluşturdukları deneklerde melatonin uygulanmasının koruyucu etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada yüksek MPO düzeylerinin melatonin uygulanması ile belirgin oranda düştüğü gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da MPO seviyelerinde anlamlı düşme görülmesi melatonin uygulanmasının HIR hasarındaki koruyucu etkisini güçlendirmektedir. Chen ve ark. (27) ise, HIR oluşturdukları ve hepatektomi yaptıkları yedi olguluk klinik çalışmalarında aldıkları kan örneklerinde nötrofil apoptozisini ve melatonin verilmesinin oluşturduğu etkiyi araştırmışlardır. Melatonin uygulanması ile nötrofil apoptozisinde gecikmenin azaltıldığı, bunun da HIR hasarını azalttığı belirtilmiştir.

Deneysel çalışmamızın sonucunda, bir NF-KB ve iNOS inhibitörü olan, SOR ve sitokin salınımını azalttığı söylenen melatonin uygulanması ile HIR hasarında gelişen hemodinamik, ve hücrenel bozuklukların düzeltilebileceği, dokudaki patolojik değişikliklerin azaltılabileceği gösterilmiştir. Ancak bu konu üzerinde daha fazla araştırmanın yapılmasının faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Çalışmamızın sonraki aşamalarında yeni deney grupları oluşturmayı ve NF-KB ve iNOS düzeylerinin saptanmasını planlamaktayız.

## KAYNAKLAR

1. Ferdinand SI, Habib N, Mathie R. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J of Surg*, 2001;181:160-166.
2. Langdale LA, Kajikawa O, Frevert C et al. Sustained tolerance to lipopolysaccharide after liver ischemia-reperfusion injury. *Shock*, 2003; 19: 553-558.
3. Teoh N, Field J, Sutton J, et al. Dual role of tumour necrosis factor-alpha in hepatic ischemia-reperfusion injury. *Hepatology*, 2004;39: 412-421.
4. Arai S, Teramoto K, Kawamura T. Current progress in the understanding of and therapeutic strategies for ischemia and reperfusion injury of the liver. *J Hepatobit, Pancreat Surg.*, 2003; 10: 189-194.
5. Kimura K, Nakaki M, Takai S. et al. Pivotal role of NF-kappa B signaling in antiCD40 induced liver injury. *Hepatology*, 2004;40: 1180-1189.
6. Xu J, Xie J, Bao M. et al. NF-kappa B/I-kappa B pathway during ischemia reperfusion injury of rat liver. *Chin Med J(Engl)*, 2003;116:1146-1149.
7. Acuna CD, Martin M, Macias M. et al. Melatonin, mitochondria and cellular bioenergetics. *J Pineal Res*, 2001; 30: 65-74.
8. Polat A, Emre MH. Effects of melatonin or acetylsalicylic acid on gastric oxidative stress after bile duct ligation in the rats. *Gastroenterol*, 2006; 41:433-439.
9. Esrefoglu M, Gul M, Ates B. et al. Antioxidative effect of melatonin, ascorbic acid and N-acetylcysteine on caerulein-induced pancreatitis and associated liver injury in rats. *World J Gastroenterol*, 2006;12:259-264.
10. Yagi K. Lipid peroxides and related radicals in clinical medicine. In: Free radicals in diagnostic medicine. Armstrong D, ed. New York: Plenum Press, 1994:1-15.
11. Golowich SP, Kaplan SD, Methods in enzymology. Vol II Inc. New York: Aca Pres, 1955:769.
12. Ma W, Wang ZR, Shi L. et al. Expression of macrophage inflammatory protein-1alpha in Kupffer cells following liver ischemia or reperfusion injury in rats. *World J Gastroenterol*, 2006;12:3854-3858.
13. Shirane K, Yamaguchi K, Koga K et al. Hepatic ischemia/reperfusion injury is prevented by a novel matrix metalloproteinase inhibitor, ONO-4817. *Surgery*, 2006; 139:653-664.
14. Jung JY, Lee SM. The roles of Kupffer cells in hepatic dysfunction induced by ischemia/reper-

## Summary:

### The effect of melatonin on serum and liver tissue lipid peroxidation in hepatic ischemia reperfusion injury

**Purpose:** Hepatic ischemia-reperfusion injury (HIR) is a severe condition which is seen after hepatic resection procedures, hepatic arterial injury and in hepatic graft in living donor transplantation. In this study, our goal was to investigate the effect of melatonin, an INOS inhibitor and antioxidant, on the prevention of lipid peroxidation in blood and liver tissue induced by HIR.

**Materials and Methods:** Three groups were designed for the study. 10 Wistar Albino rats (150-200 g) were used for each group. Group A: Sham, Group B: HIR, Group C: HIR + M. No substance was given to the rats in groups A and B. Ischemia was induced with vascular clamping for 45 minutes. With declamping, reperfusion injury was induced for 30 minutes. Five minutes before reperfusion, melatonin 10mg/kg was given intraperitoneally to Group C. Forty-five minutes after reperfusion rats were sacrificed and blood and liver tissue samples were taken. Serum and liver tissue myeloperoxidase (MPO), malondialdehyde (MDA), were measured. Histopathological examinations for liver tissue were also performed.

**Results:** Plasma and liver tissue MDA and MPO levels were higher in HIR group. In HIR Group (Group B) necrosis and inflammation was detected in the liver tissue. Application of melatonin decreased blood MDA levels significantly, but did not lead to a significant decrease in the tissue levels. Based on the statistical data we gathered, blood and tissue MPO levels were significantly reduced in the melatonin group (Group C) and liver histopathology was significantly improved in HIR group (Group B).

**Conclusion:** Our study showed that application of an antioxidant in HIR injury, led to blood and lipid peroxidation and improvement in liver functions.

**Key Words:** Hepatic ischemia-reperfusion injury, melatonin, lipid peroxidation

- fusion in rats. *Arch Pharm Res*, 2005;28:1386-1391.
15. Tsung A, Hoffmann RA, Izuishi K. et al. Hepatic ischemia/reperfusion injury involves functional TLR4 signaling in nonparenchymal cells. *J Immunol*, 2005; 175:7661-7668.
16. Abraham E. NF-kappa B activation. *Crit Care Med*, 2000;28:100-104.
17. Malhi H, Gores GJ, Lemasters JJ. Apoptosis and necrosis in the liver: a tale of two deaths?. *Hepatology*, 2006;43:31-44.
18. Matsui N, Kasajima K, Hada M. et al. Inhibition of NF-kappaB activation during ischemia reduces hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *J Toxicol Sci*, 2005;30:103-110.
19. Antolin I, Rodriguez C, Sainz RM, et al. Neurohormone melatonin prevents cell damage; effect on gene expression for antioxidant enzymes. *FASEB J*, 1996;10:882-890.
20. Okatani Y, Wakatsuki A, Reiter RJ, et al. Protective effect of melatonin against mitochondrial injury induced by ischemia and reperfusion of rat liver. *Eur J Pharmacol*, 2003; 23:469:145-152.
21. Sener G, Tosun O, Sehirli AO, et al. Melatonin and NAC have beneficial effects during he-

- patc ischemia and reperfusion. *Life Sciences*, 2003;72:2707-2718.
22. Aydoğan S, Yerer MB, Goktas A. Melatonin and Nitric oxide. *J Endocrinol Invest*, 2006;29:281-287.
23. Munoz-Casarez FC, Padillo FJ, Briceno A, et al. Melatonin reduces apoptosis and necrosis induced by ischemia/reperfusion injury of the pancreas. *J Pineal Res*, 2006;40:195-203.
24. Yuji O, Akihiko W, Russel R, et al. Protective effect of melatonin against mitochondrial injury induced by ischemia and reperfusion of rat liver. *Eur J Pharm*, 2003;469:145-152.
25. Sener G, Sehirli AO, Keyer-Uysal M, et al. The protective effect of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in the rat. *J Pineal Surg*, 2002;32:120-126.
26. Kaçmaz A, User Y, Sehirli O, et al. Protective effect of Melatonin against Ischemia/Reperfusion-Induced Oxidative remote organ injury in the rat. *Surg Today*, 2005;35:744-750.
27. Chen JC, Ng CJ, Chiu TF, Chen HM. Altered neutrophil apoptosis activity is reversed by melatonin in liver ischemia-reperfusion. *J Pineal Res*, 2003 ;34:260-264.

Bu çalışma 5. Ulusal Cerrahi Kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuştur. (Antalya, 24-28 Mayıs 2006)

## KATKIDA BULUNANLAR:

**Çalışmanın düşünülmesi ve planlanması:**  
Mehmet Çağlıkülekçi  
**Verilerin elde edilmesi:**  
Öner Bilgin

**Verilerin analizi ve yorumlanması:**  
Hakan Canbaz, Özden Canbazoglu, Tuba Karabacak  
**Yazının kaleme alınması:**  
Mehmet Çağlıkülekçi, Musa Dirlık, Süha Aydın

**İstatistiksel değerlendirme:**  
Arzu Kanık