

Siklosporine Bağlı Akciğer Hasarında Melatoninin Histopatolojik Etkileri Üzerine Deneysel Çalışma

An Experimental Study of the Histopathological Effects of Melatonin on Cyclosporin Induced Lung Damage

Meltem Kuruş¹, Mukaddes Eşrefoğlu¹, Ali Otlu¹

¹Inönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye

ÖZET

Son yıllarda yapılan çalışmalarda yaygın kullanılan bir immunbaskılayıcı ilaç olan siklosporin A(CyA)'nın dokularda hasar oluşturduğu ve bu hasarda serbest oksijen radikallerinin rolü olduğu üzerinde durulmaktadır. Pineal bezden üretilen en önemli indoleamin olan Melatonin serbest radikal süpürücüsü ve antioksidandır. Çalışmamızda CyA'ya bağlı akciğer hasarı üzerine melatoninin olası yararlı etkilerini histopatolojik olarak incelemeyi amaçladık. Bu çalışmada her biri 8'er sıçandan oluşan 4 grup oluşturuldu. 1. grubumuz kontrol grubuydu. 2. grup 4mg/kg/gün intraperitoneal melatonin verdiğimiz grup. 3. grup 10 mg/kg/gün subkutan CyA uygulanan grup ve 4. grup 4mg/kg/gün melatonin intraperitoneal ve 10 mg/kg/gün CyA subkutan uygulanan grup. Çalışmamız her grup için 28 gün sürdü. Bu sürenin sonunda denekler terminal anestezile öldürüldü. Çıkarılan akciğer dokusu parafin bloklara gömülerek kesit alındı. Bu kesitler genel histolojik yapıyı gözlemek amacıyla hematoksilin-eozin (H-E) ve Masson's trikrom boyalarıyla boyandı. Hem kontrol, hem de melatonin uyguladığımız grublarda akciğer kesitleri histolojik olarak normal görünümdeydi. CyA uygulanan sıçanlarda akciğerde konjesyon ve alveolar ödem, perivasküler ve peribronşial infiltrasyon ve interalveolar septumda bağ dokusu artışı, bronşiolerde yer yer epitel hücre dökülmeleri, pulmoner interisyumda hemosiderin yüklü makrofajlar ve hafif kanama alanları tespit edildi. CyA ile birlikte melatonin uygulanan grupta bu histopatolojik bulgularımızın oldukça azaldığı tespit edildi. Bununla birlikte nadir alanlarda hafif konjesyon ve ödeme rastlandı. CyA'ya bağlı hasarın geri dönüşümlü olduğu ve melatonin uygulamasıyla bu hasarın önemli ölçüde azaltılabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: akciğer, siklosporin, melatonin, histopatoloji

Geliş tarihi: 09.05.2007

Kabul tarihi: 04.10.2007

ABSTRACT

In recent studies, it has been reported that the widely used immunosuppressive agent, cyclosporine A (CyA), causes tissue damage and that free oxygen radicals play a role in this damage. Melatonin, which is the most important indoleamine released by the pineal gland, is a free radical scavenger and an antioxidant agent. In this study, we aimed to study histopathologically the probable positive effects of Melatonin on CyA induced lung tissue damage. Four groups, each with 8 rats, were used in this study: Group 1; control, Group 2; 4 mg/kg/day intraperitoneal (i.p.) melatonin, Group 3; 10 mg/kg/day subcutaneous (s.c.) CyA and Group 4; 4 mg/kg/day melatonin (i.p.) plus 10 mg/kg/day CyA (s.c.). The study lasted for 28 days for each group. At the end of this period, the rats were killed with lethal anesthesia. Their lungs were removed and embedded in paraffin blocks before being processed for microtome. The preparations were stained with Haematoxyline-Eosin (H-E), and Masson's trichrome dyes. Both control and Melatonin groups appeared normal. In the CyA group, congestion of the parenchyma, perialveolar edema, perivascular and peribronchial infiltration and thickening of interalveolar septum as a result of an increase in connective tissue were observed in the rat lungs. In the CyA plus melatonin group, histopathological findings were significantly milder than those of the CyA group. Furthermore, mild congestion and edema was encountered only in rare areas. It was concluded that CyA dependent damage may be reversible and that this damage may be significantly decreased by melatonin administration.

Key words: lung, cyclosporine, melatonin, histopathology

Received: 09.05.2007

Accepted: 04.10.2007

GİRİŞ

İmmunbaskılayıcı bir ilaç olan siklosporin A(CyA) organ transplantasyonlarından sonra ve otoimmün hastalıkların tedavisinde uzun süre kullanılan bir ilaçtır [1-3]. Ancak ilacın özellikle karaciğer, böbrek ve kalpteki yan etkileri kullanımını kısıtlamaktadır [2]. Rezzani ve arkadaşları CyA kullanımının nefrotoksik ve hepatotoksik, Nishiyama ve arkadaşları hipertansif, Bianchi ve arkadaşları da kardiyotoksik

etkisini yaptıkları çalışmalarla göstermişlerdir [4]. Bu immunbaskılayıcının dokularda oluşturduğu hasarın mekanizması tam anlaşılacakla birlikte, elde edilen veriler serbest oksijen radikallerinin ve oksidatif stresin CyA bağlı patogeneizde rolü olduğunu düşündürmüştür [3-7].

Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) esansiyel bir aminoasit olan triptofandan elde edilen, pineal bez, over, retina ve gastrointestinal sistem organlarından üretilen en önemli indoleamindir. Direkt olarak serbest radikal süpürücüdür ve indirek olarak da antioksidan enzim aktivasyonunu stimüle eder [8]. Bu indoleamin son ürünü azaltarak li-

Yazışma Adresi: Dr. Meltem Kuruş, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Malatya, Türkiye Tel.: +90 422 341 06 60 E-posta: histomelita@yahoo.com

pid peroksidasyonunu engeller [8,9]. Melatoninin oksidatif stres altındaki antioksidan enzim aktivitesini iyi yönde etkilediği birçok araştırmayla gösterilmiştir [10].

Ekzojen olarak uygulanan melatonin, hücrelerin morfolojik bariyerlerini rahat geçerek bütün organları oksidatif hasardan korur [11]. Hem yağda hem de suda çözünür özellikte olduğu için, nükleus dahil hücrenin her organeline ulaşabilir. Bu özellik DNA'nın oksidatif hasara karşı korunmasında önemli bir üstünlük sağlar [12,13]. Yapılan deneysel çalışmalarda melatonin hormonunun akciğerleri pulmoner fibrozis ve iskemi sonrası reperfüzyon hasarından koruduğu gösterilmiştir [14,15]. Yine son zamanlardaki çalışmalarla melatoninin oksidatif strese bağlı oluşan akciğer hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu düşünülmüştür [15-17]. Topal ve arkadaşları hiperbarik oksijene maruz kalan sıçan akciğerlerinde oluşan oksidatif strese karşı melatonin uygulamasının koruyucu etki oluşturduğunu göstermişlerdir [16]. Aslan ve arkadaşları melatonin hormonunun sıçan akciğerinde bleomisinle oluşturulmuş pulmoner fibrozisi önlediğini bulmuşlardır [15].

CyA'nın yan etkilerinin mekanizması tam anlaşılammış olsa bile, beraberinde antioksidan ilaçların kullanılmasıyla birlikte toksisitesinin azalabileceğini gösteren çalışmalar yapılmıştır. Ancak bizim bilgilerimize göre; CyA verilen deneklerde akciğerlerin histopatolojik incelemesi yapıp, oluşan değişiklikleri melatonin uygulamasıyla tekrar karşılaştıran histopatolojik bir çalışma henüz literatürde bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda; CyA kullanımına bağlı akciğer hasarında melatoninin olası yararlı etkilerini araştırmayı hedefledik.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 32 adet 230-300 gr ağırlığında Sprague-Dawley cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Denekler 28 gün boyunca havalandırması olan, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık gün ışığı ritmindeki odalarda özel kafesler içinde, düşük sodyum içeren pellet yem (%0.05 Na, AYTEKİNLER Yem Sanayi, Konya) ile beslendiler. Denekler çalışmanın başladığı gün randomize olarak 4 gruba ayrıldı, her grup 8 sıçandan oluşturuldu. Gruplarımız şöyleydi;

Grup 1; Kontrol grubu.

Grup 2; 4mg/kg/gün intraperitoneal melatonin uygulanan grup.

Grup 3; 10 mg/kg/gün subkutan siklosporin A (SANDIMMUN 50 mg/ml ampul Novartis Pharma AG, Basel, İsviçre) uygulanan grup.

Grup 4; 4mg/kg/gün intraperitoneal melatonin ve subkutan 10 mg/kg/gün CyA uygulanan grup.

28. günün sonunda denekler terminal anestezisiyle öldürüldü. Akciğerleri çıkarıldı. Nötral tamponlanmış formaldehit (NTF) fiksatifinde bekletildikten sonra, parafin bloğa gömüldü. Bloklardan 4-5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler genel histolojik yapıyı gözlemek amacıyla hematoksilin-eozin (H-E) ve Masson's trikrom boyalarıyla boyandı ve ışık mikroskopuyla incelendi.

Histopatolojik değişikliklerin değerlendirilmesinde; her denek için 5 kesit ve bu kesitlerin her birinde de rastgele 6 alan 100 büyütmede Olympus BH2 ışık mikroskopuyla incelendi. Değişiklikler her denek için 30 alanda var yada yok şeklinde kaydedildikten sonra; 1-10 alanda rastlananlar hafif, 11-20 alanda rastlananlar orta, 21-30 alanda rastlananlar şiddetli histopatolojik hasar olarak tanımlandı. Ardından tüm bulgular için aynı şekilde olmak üzere aşağıdaki gibi derecelendirildi:

Alveolar konjesyon; 0=normal alveoller. 1=hafif, 2=orta ve 3=şiddetli alveolar konjesyon. Ödem; 0= normal parankima ve alveolar alan. 1= alveolar alanda hafif 2=orta ve 3= şiddetli derecede ödem. Perivasküler ve peribronşiyal infiltrasyon açısından sırasıyla; infiltrasyon yok, hafif, orta, şiddetli infiltrasyon. Parankimal fibrozis 0=normal parankima, 1=hafif fibrozis 2=orta derece fibrozis ve 3=yaygın fibrozis. Alveolar duvar kalınlaşması da sırasıyla; yok, hafif kalınlaşma, orta şiddette kalınlaşma ve yaygın kalınlaşma olarak değerlendirildi.

Tüm istatistiksel analizler SPSS 12.0 paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmalarda Mann-Whitney U testi kullanıldı ve tüm analizlerde $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Histolojik Bulgular

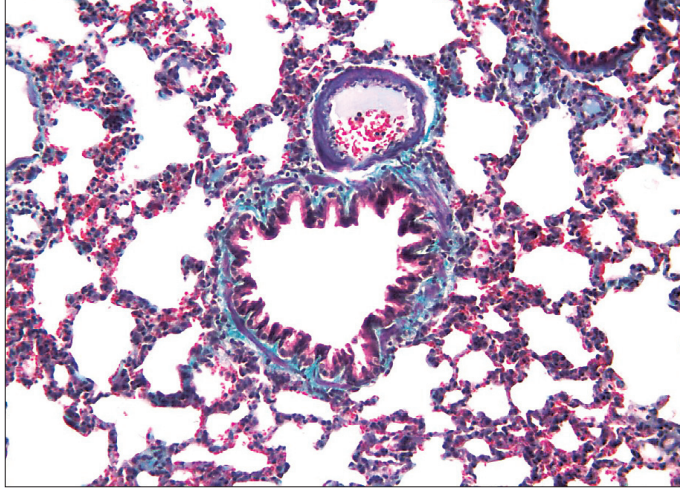
Grup 1 (Kontrol); Bu gruba ait preparatlar incelendiğinde normal akciğer histolojisiyle uyumlu olduğu gözlemlendi. Buna göre bronşların goblet hücreli kinosilyalı yalancı çok katlı epiteli, lamina propriası ve altındaki ince kesintili kas tabakası düzenli bulundu. Submukozada az miktarda serömüköz beze rastlandı. Kıkırdak yassı kıkırdak parçaları şeklindeydi. Bronşiollerde başlangıçta seyrek goblet hücreleri içeren yalancı çok katlı kinosilyalı prizmatik epitel gözlenirken, bronşiolün çapı daraldıkça epitelin tek katlı prizmatik epitele dönüştüğü izlendi. Epitelin altında elastik liflerden zengin ince lamina propria ve onun altında sirküler seyreden düz kas tabakasının da olağan seyrinde olduğu farkedildi. Gözlemlerimize göre terminal bronşioller tek katlı alçak prizmatik veya kübik, respiratuar bronşioller tek katlı kübik epitle döşeli ve buraya açılan alveoller nedeniyle kesintiye uğramıştı. Hem terminal hem de respiratuar bronşiollerde apikal sitoplazmaları bronşiol lümenine çıkıntı yapan Clara hücrelerine rastlandı. Tek katlı yassı epitle döşeli ince duvarlı uzun kanallar olan alveolar duktuslar olağan görünümüleri içindeydi. Epitelin altında ince fibroelastik doku yer alıyordu ve bu kanala çok sayıda alveol ve alveol kesesi açılıyordu. Akciğerin süngerimsi yapısını sağlayan alveoller, kese şeklindeki tek katlı yassı epitle döşeli yapılarını korumuştur. İnteralveolar septum normal kalınlıkta görülüyordu.

Grup 2 (melatonin); Bu gruptaki sıçan akciğerleri kontrol grubundaki gibi normal histolojiyle uyumluydu.

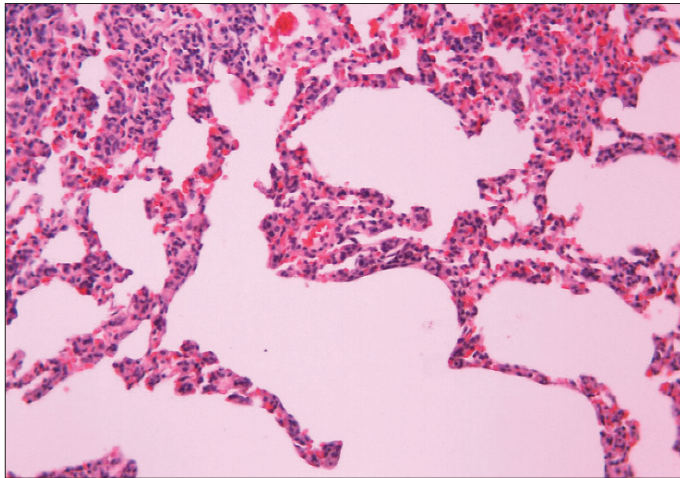
Grup 3; CyA verdiğimiz sıçan akciğerlerinde orta derecede alveolar konjesyon (7 denekte, 11-20 alanda rastlanan) ve ödemin (7 denekte, 11-20 alanda rastlanan) yanısıra, orta derecede perivasküler (5 denekte, 11-20 alanda rastla-

nan) ve hafif derecede peribronşial (7 denekte, 1-10 alanda rastlanan) hücre infiltrasyonu, hafif derecede parankimal fibrosis (3 denekte, 1-10 alanda rastlanan) ve orta derecede interalveolar septumda (6 denekte, 11-20 alanda rastlanan) bağ dokusu artışı; bunun sonucunda da alveolar duvar kalınlaşması mevcuttu (Şekil 1,2,3). Peribronşial ve perivasküler hücre infiltrasyonu lenfosit, plazmosit ve makrofaj gibi mononükleer hücreler tarafından oluşturulmuştu. Ayrıca bronşiollerde yer yer epitel hücre dökülmeleri, pulmoner intersisyumda hemosiderin yüklü makrofajlar ve hafif kanama alanları izleniyordu (Şekil 4).

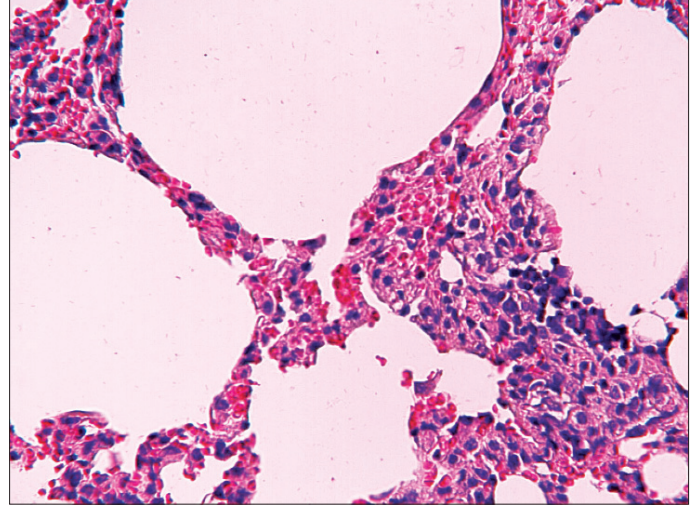
Grup 4; CyA ile beraber melatonin verdiğimiz bu grupta genelde normal histolojik yapıdaki akciğer alanları izlenmekle birlikte, (perivasküler ve peribronşial infiltrasyon, parankimal fibrozis ve alveolar septum kalınlaşması bulgularının her biri 1'er denekte tek bir alanda görülmüştür) nadir alanlarda hafif konjesyon (3 denekte, 1'er alanda rastlanan) ve (3 denekte, 2'şer alanda rastlanan) ödem mevcuttu (Şekil 5, 6).



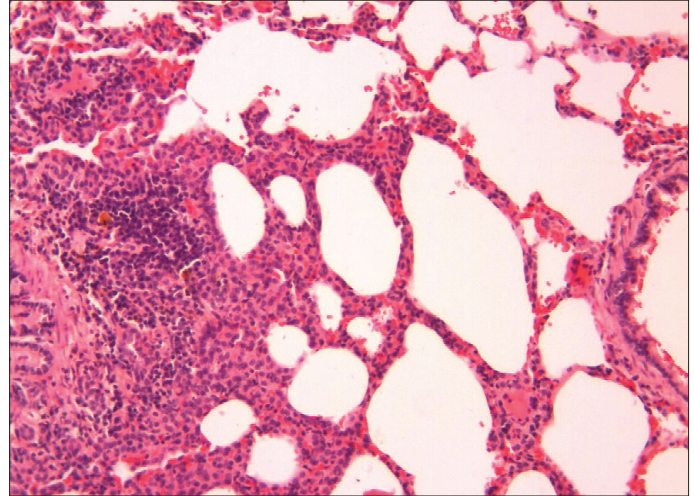
Şekil 1. CyA alan grupta akciğer kesiti. Alveolar konjesyon, duvar kalınlaşması, hemorajik alanlar (Masson's Trikróm X20)



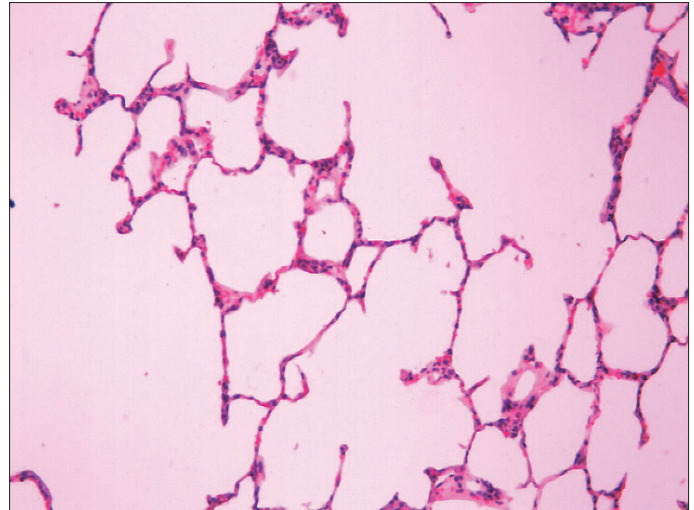
Şekil 2. CyA alan grupta akciğer kesiti. Alveolar konjesyon, duvar kalınlaşması, hemorajik alanlar, hücre infiltrasyonu (H&E X20)



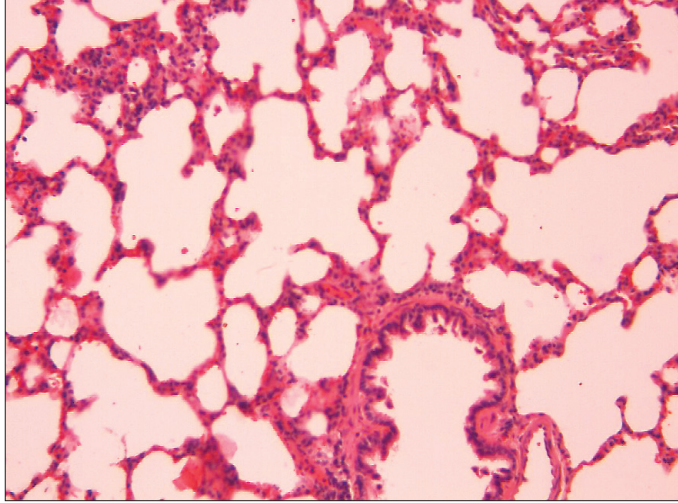
Şekil 3. CyA alan grupta akciğer kesiti. Alveolar duvar kalınlaşması, hücre infiltrasyonu (H&E X40)



Şekil 4. CyA alan grupta akciğer kesiti. Peribronşial infiltrasyon, hücre infiltrasyonu, duvar kalınlaşması (H&E X40)



Şekil 5. CyA ile birlikte melatonin alan gruptaki akciğer kesiti. Normal histolojiyle uyumlu akciğer alanları (H&E X20)



Şekil 6. CyA ile birlikte melatonin alan gruptaki akciğer kesiti. Normal histolojisiyle birlikte hafif konjesyon ödem ve duvar kalınlaşmalarının olduğu akciğer alanları (H&E X20)

Kontrol grubuyla melatonin grubunu ve kontrol grubuyla CyA+Melatonin alan grubu konjesyon, alveolar ödem, perivasküler ve peribronşial infiltrasyon, parankimal fibrozis ve alveolar septum kalınlaşması açısından istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark bulamadık. Yine melatonin alan grupla CyA+melatonin alan grubu aynı parametreler açısından istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark bulamadık

Kontrol grubundaki histopatolojik değişiklikleri CyA verdiğimiz gruptaki değişikliklerle karşılaştırdığımızda ise parankimal fibrozis dışındaki parametreler açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu (konjesyon için $p=0.002$, alveolar ödemde $p=0.002$, perivasküler infiltrasyon için $p=0.038$ ve peribronşial infiltrasyon için $p=0.002$ ve alveolar septum kalınlaşmasında $p=0.014$). Melatonin grubuyla CyA alan grubu aynı parametreler açısından karşılaştırdığımızda yine parankimal fibrozis dışındaki histopatolojik parametrelerde $p < 0.05$ idi (konjesyon için $p=0.002$, alveolar ödemde $p=0.002$, perivasküler infiltrasyon için $p=0.038$ ve peribronşial infiltrasyon için $p=0.002$, ve alveolar septum kalınlaşmasında $p=0.010$). CyA alan grupla CyA ile birlikte melatonin verdiğimiz grubu konjesyon ($p=0.028$), alveolar ödem

($p=0.015$), peribronşial infiltrasyon ($p=0.010$) ve alveolar septum kalınlaşması ($p=0.021$) açısından karşılaştırdığımızda istatistiksel olarak anlamlı fark bulduk ($p < 0.05$), perivasküler infiltrasyon ve parankimal fibrozis açısından ise fark yoktu (Tablo 1).

TARTIŞMA

CyA'nın ciddi yan etkilerinin olması istenilen doz ve sürede kullanımını kısıtlamaktadır. CyA'nın toksik etkilerini açıklamak üzere deneysel ve klinik çalışmalarla desteklenen birçok mekanizma öne sürülmüştür [18-21]. Klinik çalışmalarda; CyA ile tedavi edilen hastalarda doku reddi, otoimmün hastalık, ilave terapötik ilaç kullanımı gibi CyA'dan başka faktörler de renal kardiyovasküler etkilere yol açabildiğinden, sadece CyA'dan kaynaklanan yan etkilerin ortaya konulmasında deneysel modellere ihtiyaç duyulmaktadır [22]. Doku kültürü çalışmalarında, CyA'nın toksik etkisine duyarlılık açısından böbrek hücreleri ile diğer hücreler arasında fark olmadığı gözlenmiştir. Aynı zamanda CyA'nın farmakokinetik özelliklerinin insan ve sıçanda benzer olduğu da saptanmıştır [18]. CyA'nın akciğer dokusu üzerine zararlı olduğuna dair kesinleşmiş bir araştırma olmamasına rağmen, hücrelerin CyA'nın toksik etkisine duyarlılığının aynı olması, çalışmamızda gözlemlediğimiz histopatolojik değişikliklerde de uyumludur. CyA'nın renal dokuda lipid peroksidasyon ürünlerinin, karaciğerde de stres proteinlerinin artmasına neden olduğu ise araştırmacılar tarafından kanıtlanmıştır [8]. Rezzani ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarla, CyA'nın böbrekte tubuler fibrozis veya atrofi, karaciğerde hepatosit nekrozu, pankreasda da Langerhans adacık dejenerasyonuna neden olduğu kesinleşmiştir [6-8]. Grieve ve arkadaşları [23] ve Rezzani ve arkadaşları [4] benzer zamanlarda yaptıkları çalışmalarla CyA'ya bağlı zararlı etkilerin oluşmasında en olası yolun oksidatif stres olduğunu göstermişlerdir. Serbest oksijen ürünleriyle, endojen antioksidan sistem arasındaki denge sızlık sonucu oluşan oksidatif stresin doku hasarına neden olduğu birçok çalışmada belirtilmektedir. Bu şartlar altında endojen antioksidanlar serbest oksijen ürünlerine karşı koyamazlar [3-6,9,23]. Tüm bunların sonucunda sülfidril enzimlerinin inaktivasyonu, membran lipidlerinin peroksidasyonu ve DNA kırılması nedeniyle hücre hasarı olur [5]. Rezzani ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada serbest oksijen radikallerinin bir araya gelmesini inhibe eden metilen mavisi verilerek, CyA'nın toksisitesinin serbest oksijen radikallerindeki artış nedeniyle olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada superoksit anyon seviyelerinin CyA verilerek tedavi edilen grupta oldukça yüksek olduğu, metilen mavisi tedavisinden sonra ise bu seviyelerin aşağıya indiği gösterilmiştir [24]. Longoni ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda ise CyA'ya bağlı nefrotoksitenin nedeni olarak yine serbest oksijen radikalleri gösterilmiştir [24].

Hücre şişmesi, hücre hasarlarının tüm tiplerinde ilk bulgudur [25]. Strese karşı hücrenin ilk verdiği yanıt da

Tablo 1. Gruplar arası histopatolojik karşılaştırma

	Alv. konj.	Alv.ödem	Pvinf.	Pbinf.	Pafib.	Adk.
kontrol	0	0	0	0	0	0
melatonin	0	0	0	0	0	0
CyA	7*,**	7*,**	5*,**	7*,**	3	6*,**
CyA+mel	3***	2***	1	1***	1	1***

Rakamlar kaç denekte histopatolojik hasar olduğunu göstermektedir.

*: $p < 0.05$ kontrol grubuyla karşılaştırma

** : $p < 0.05$ melatonin grubuyla karşılaştırma

***: $p < 0.05$ Cy-A grubuyla karşılaştırma

hücre şişmesidir. Hücresel enerji ve metabolizma dengesinin bozulması, enerjiye bağlı pompa sistemlerinin görevi aksatması sonucunda hücrede sıvı elektrolit dengesinin bozulmasına yol açar [26]. Ancak bunu ışık mikroskopik olarak görüntülemek zordur. Eğer organdaki tüm hücreleri etkilemişse renk değişikliği ve turgorun artması bulgu olabilir. Ölümcül olmayan hasarın bu formu bazen hidropik dejenerasyon olarak adlandırılır [25]. Sonuçta geri dönüşümlü hücre hasarlarında ışık mikroskopik iki değişim görünür. Hücresel şişme ve yağlı değişiklik. İnflamasyon ise hasara uğramış hücre veya dokuların kendilerini korumak için verdikleri diğer bir cevaptır [26]. Akut inflamasyon ödem ve özellikle nötrofil göçüyle giderken, kronik inflamasyon lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu, fibrozis ve doku nekrozuyla seyredir. Lökositler genelde kimyasal mediatörler ve toksik oksijen radikalleri nedeniyle inflamasyona ve buna bağlı doku hasarına neden olurlar. Membranlardaki lipid peroksidasyonu sonucu organellerin ve hücrenin hasarı söz konusudur. Matriks metalloproteinaz aktivitesinin artması ise fibroblast göçünün, fibronektin ve kollagen sentezinin artmasına neden olmaktadır [25].

Bizim çalışmamızda da CyA kullanımına bağlı akciğerde hücre hasarını gösteren histopatolojik bulgular mevcuttu. Hücre hasarının ilk bulgusu olan hücresel şişmeyi, inflamasyonu gösteren alveolar ödem ve konjesyon takip etmişti. Akut ve kroniğe giden inflamasyonun bir bulgusu olarak, bazı alanlarda peribronşial ve perivasküler hücre infiltrasyonu, hafif derecede parankimal fibrozis ve interalveolar septumda orta derecede bağ dokusu artışı söz konusuydu. Peribronşial ve perivasküler hücre infiltrasyonu lenfosit, plazmosit ve makrofaj gibi mononükleer hücreleri içeriyordu. Ayrıca bronşiolerde yer yer epitel hücre dökülmeleri, pulmoner intersisyumda hemosiderin yüklü makrofajlar ve hafif kanama alanları hücrelerin strese verdikleri morfolojik cevabın göstergeleriydi.

Organizmada herhangi fizyolojik ya da patolojik şartlarda oluşan serbest radikaller ile bunların süpürücüsü olan antioksidan sistem arasında bir denge olduğu düşünülmekte ve bu dengenin serbest radikaller lehine kaymasının oksidatif stresin bir göstergesi olduğu bilinmektedir. Canlıları bu durumdan koruyan sistemin antioksidan sistem olduğu ispatlanmıştır [17].

Hem in vitro, hem de in vivo çalışmalarda, melatoninin güçlü bir serbest radikal süpürücü ajan olduğu gösterilmiştir [10,27-29]. Melatoninin bu özelliği ile bilinen tüm antioksidanlardan daha güçlü olduğu düşünülmektedir. Dahası antioksidanların büyük çoğunluğunun aksine, hem suda hem de yağda çözünebildiğinden hücrenin tüm komponentlerine etki edebilmektedir [9,10]. Melatonin direkt olarak serbest radikalleri süpürerek, indirekt olarak spesifik melatonin reseptörleri aracılığı ile antioksidan enzimleri aktive ederek, ya da pro-oksidatif enzimleri inhibe ederek doku koruyucu özellik gösterebilir [10,28].

Çalışmamızda, tek başına melatonin verdiğimiz sıçanların histopatolojik değerlendirmesinde, akciğerlerin normal akciğer dokusuyla uyumlu olduğunu gözledik. Bu incelemeye dayanarak da melatoninin akciğer dokusuna herhangi bir zarar vermediği sonucuna vardık.

Son yıllarda yapılan çalışmalarla, melatoninin böbrek ve karaciğerde CyA tedavisiyle gelişen toksiteyi azalttığı saptanmıştır. Bununla birlikte aynı yazarlar, melatoninin CyA'ya bağlı zararlı etkileri tamamen ortadan kaldırmadığında da hemfikirdirler [3,30]. Diğer taraftan deneysel çalışmalarda, bazı oksidatif stres yaratıcı ajanlarla karşılaşan sıçan akciğerlerinde gelişen mononükleer hücre infiltrasyonu, Tip II pnömosit infiltrasyonu, bağ dokusu artışı ve interalveolar septum kalınlaşması gibi değişikliklerin melatonin verildiğinde azaldığı ya da tamamen kaybolduğu kanıtlanmıştır [14,15,31,32].

Bizim çalışmamızda CyA ile beraber melatonin verdiğimiz grupta; sadece CyA verdiğimiz sıçanlarda gözlediğimiz histopatolojik değişikliklerin büyük bir kısmının düzeldiğini, kalan kısmının da azaldığını ancak tamamen kaybolmadığını saptadık.

Sonuç olarak; bu doz ve sürede kullanılan CyA'nın yaptığı hasarın henüz geri dönüşümlü olduğunu ve verilen melatoninin etkisiyle hasarın azaltılabileceğini düşündük. Eğer CyA ve melatoninin birlikte kullanımıyla ilgili daha ileri çalışmalar yapılabilirse, ömür boyu çeşitli nedenlerde dolayı CyA kullanmak zorunda kalan hastalarda, CyA'nın akciğere olan zararlı etkilerinin azaltılabileceği fikrindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Grub S, Persohn E, Trommer WE, Wolf A. Mechanisms of cyclosporine-A induced apoptosis in rat hepatocyte primary cultures. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000; 163: 209-20.
2. Kwak CS, Mun KC. The beneficial effect of melatonin for cyclosporine hepatotoxicity in rats. *Transplant Proc* 2000; 32: 2009-10.
3. Rezzani R, Rodella L, Bianchi R. Melatonin antagonizes the cyclosporine A immunosuppressive effects in rat thymuses. *Int Immunopharmacol* 2001; 8: 1615-9.
4. Rezzani R, Giugno L, Buffoli B et al. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester against CyA induced cardiotoxicity in rats. *Toxic* 2005; 212: 155-64.
5. Stacchiotti A, Lavazza A, Rezzani R, Bianchi R. CyA induced kidney alterations are limited by melatonin in rats; an electron microscopy study. *Ultrastruc Pathol* 2002; 26: 81-7.
6. Rezzani R. Cyclosporine A and adverse effects on organs: histochemical studies. *Prog Histochem Cytochem* 2004; 39: 85-128.
7. Rezzani R. Exploring cyclosporine A-side effects and the protective role played by antioxidants: the morphological and immunohistochemical studies. *Histol Histopathol* 2006; 21: 301-16.
8. Rezzani R, Rodella LF, Bonomini F et al. Beneficial effects of melatonin in protecting against cyclosporine A-induced cardiotoxicity are receptor mediated. *J Pineal Res* 2006; 41: 288-95.
9. Rezzani R, Buffoli B, Rodella L et al. Protective role of melatonin in cyclosporine A-induced oxidative stress in rat liver. *Int Immunopharmacol* 2005; 5: 1397-405.
10. Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: A novel protective agent against oxidative injury of the ischemic-reperfused heart. *Cardiovascular Research* 2003; 58: 10-9.
11. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, El-Sawi MR. Melatonin reduced oxidant damage and promotes mitochondrial respiration. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 959: 238-50.

12. Arendt J. Melatonin. *Clin Endocrinol* 1988; 29: 205-9.
13. Kuş İ, Sarsılmaz M. Pineal bezin morfolojik yapısı ve fonksiyonları. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 2002; 22: 221-6.
14. İnci İ, İnci D, Dutly A et al. Melatonin attenuates posttransplant lung ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 2002; 73: 220-5.
15. Arslan SO, Zerin M, Vural H, Coskun A. The effect of melatonin on bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *J Pineal Res* 2002; 32: 21-5.
16. Topal T, Oter S, Korkmaz A et al. Exogenously administered and endogenously produced melatonin reduce hyperbaric oxygen-induced oxidative stress in rat lung. *Life Sci* 2004; 75: 461-7.
17. Zararsız İ, Kuş İ, Çolakoğlu N ve ark. Formaldehit maruziyeti sonucu sıçan akciğerinde oluşan oksidatif hasara karşı melatonin hormonunun koruyucu etkisi: ışık mikroskopik ve biyokimyasal çalışma. *Van Tıp Dergisi* 2004; 11: 105-12.
18. Yazıcı C, Köse K, Gökalp S, Canöz Ö. CyA nefrotoksitesi için rat modeli: Wistar soyu ratlar üzerine bir çalışma. *Nefroloji Dergisi* 2004; 13: 144-51.
19. Olyaei AJ, Mattos AM, Bennett WM. Immunosuppressant-induced nephropathy: pathophysiology, incidence and management. *Drug Saf* 1999; 21: 471-88.
20. Thomas S, Andoh TF, Pichler RH et al. Accelerated apoptosis characterizes cyclosporine-associated interstitial fibrosis. *Kidney Int* 1998; 53: 897-908.
21. Belitsky P, Ghose T, Givner M et al. Tissue distribution of cyclosporine A in the mouse: a clue to toxicity? *Clin Nephrol* 1986; 25 Suppl 1: 27-9.
22. Porter GA, Andoh TF, Bennett WM. An animal model of chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Ren Fail* 1999; 21: 365-8.
23. Grive DJ, Shah AM. Oxidative stress in heart failure. More than just damage. *Eur Heart J* 2003; 24: 2161-3.
24. Rezzani R, Rodella L, Corsetti G, Bianchi R. Does methylene blue protect the kidney tissues from damage induced by CyA treatment? *Nephron* 2001; 89: 329-36.
25. Cotran RS, Kumar V, Collins T. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. Saunders Company. Pres, New York 1999: 1-88.
26. Wyllie A, Duvall E. Cell injury and death. In: Mc-Gee JOD, Isoocson PG, Wright NA. *Oxford textbook of pathology*. Oxford University Pres, New York 1992; 147-8.
27. Şahna E, Deniz E, Aksulu EH. Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı ve melatonin. *Anadolu Kardiyol Derg* 2006; 6: 163-8.
28. Reiter RJ, Tan DX, Kim SJ, Wenbo QI. Melatonin as a pharmacological agent against oxidative damage to lipids and DNA. *Proc West Pharmacol Soc* 1998; 41: 229-36.
29. Reiter RJ. Cytoprotective properties of melatonin: Presumed association with oxidative damage and aging. *Nutrition* 1998; 14: 691-6.
30. Rezzani R, Rodella L, Buffoli B et al. Cyclosporine A induces vascular fibrosis and heat shock protein expression in rat. *Int Immunopharmacol* 2005; 5: 169-76.
31. Yıldırım Z, Kotuk M, Erdogan H et al. Preventive effect of melatonin on bleomycin-induced lung fibrosis in rats. *J Pineal Res* 2006; 40: 27-33.
32. Karaoz E, Gultekin F, Akdoğan M et al. Protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on lung toxicity induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2002; 54: 97-108.