

# Yüksek Doz Demir Uygulanmış Tavşan Karaciğerinde Meydana Gelen Yapısal Değişiklikler ve Buna E Vitamini ve Melatoninin Etkisi

## EFFECTS OF MELATONIN AND VITAMIN E ON STRUCTURAL CHANGES IN RABBIT LIVER TISSUES INDUCED BY HIGH DOSE OF IRON

Alpaslan GÖKÇİMEN\*, Erdal KARAÖZ\*\*, Özden ÇANDIR\*\*\*, Aliye SARI\*\*\*\*, Candan ÖZOĞUL\*\*\*\*\*, Meral ÖNCÜ\*\*\*\*\*

- \* Yrd.Doç.Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD,  
\*\* Doç.Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD,  
\*\*\* Doç.Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD,  
\*\*\*\* Uz.Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD, ISPARTA  
\*\*\*\*\* Doç.Dr., Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, ANKARA  
\*\*\*\*\* Araş.Gör.Dr., Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD, ISPARTA

### Özet

Bu çalışmada toksik doz demirin karaciğerde meydana getirdiği yapısal değişikliklere E vitamini veya melatoninin tedavi edici özelliğinin olup olmadığı amaçlandı. Ağırlıkları 600-800 g arasında 40 adet Yeni Zelanda türü erkek tavşan kullanıldı. Tavşanlar 4 gruba ayrıldı. I. grup (kontrol), II. grup (demir dekstran 500 mg/kg), III. grup (demir dekstran ve melatonin; 100 mg/kg), IV. grup (demir dekstran ve E vitamini olarak; alfa-tokoferol 100mg/kg). Tüm hayvanlar aç bırakıldıktan sonra demir dekstran intraperitoneal olarak uygulandı. Bu uygulamadan 3 saat önce grup III'e melatonin, grup IV'e E vitamini intraperitoneal olarak verildi. Demir uygulamasından 8 saat sonra tüm hayvanlar dekapite edildi. Karaciğer doku örnekleri ışık mikroskopisi için nötral formalinde tespit edildi. Parafinde bloklanarak 5-6 µm kalınlığında kesitler alınarak hematoksilin-eozin, Perl's Prussian Blue ile boyanarak değerlendirildi. Elektron mikroskopisi için de doku örnekleri alındı; araldit yarı ince kesitler elde edilerek metilen mavisi - azur II ile boyandı. İnce kesitler şato boyası (uranil asetat-kurşun sitrat) ile boyanarak değerlendirildi. Işık mikroskopik bulgularda, grup II de portal alanda fibrozis, karışık hücre infiltrasyonları, safra kanalı poliferasyonu ve papiller kist adenomlar saptandı. Melatonin uygulanan grupta parankim ve stromal yapılar demirin toksik etkisinden nispeten korunduğu gözlemlendi. Elektron mikroskopunda; demirli grupta hücreler nekroza giden hücre görünümündeydi. Melatonin uygulanan grupta kontrollere oldukça yakın görünüm izlendi. Sonuç olarak melatoninli grupta belirgin olmak üzere demirin toksik etkisinden korunmuştu fakat vitamin E'nin tedavi edici etkisi melatonin verilmiş hayvanlarınkinden düşüktü.

**Anahtar Kelimeler:** Karaciğer, Yüksek doz demir, Yapısal değişiklikler, Melatonin, E vitamini

T Klin Gastroenterohepatol 2000, 11:156-163

**Geliş Tarihi:** 24.01.2000

**Yazışma Adresi:** Dr.Alpaslan GÖKÇİMEN  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak.  
Histoloji ve Embriyoloji AD, ISPARTA

### Summary

In this study, we aimed to investigate possible treatment effects of melatonin or vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) on structural changes in liver tissue induced by high dose of iron. Forty New Zealand male rabbits, weighed between 600-800 g were divided into four experimental groups: Group I (control) [n=10] was treated with serum physiologic, group II [n=10] was intraperitoneally (i.p) injected with 500 mg/kg iron dextran, group III [n=10] was given 500 mg/kg iron dextran and 100 mg/kg melatonin (i.p), group IV [n=10] was given 500 mg/kg iron dextran and 100 mg/kg vitamin E (i.p). Melatonin and alfa-tocopherol treatment were intraperitoneally performed 3 hours before iron dextran administration. All animals were decapitated 8 hours followed by iron-dextran administration. Liver tissue samples for light microscopy were fixed in neutral formalin 10% and then blocked with paraffin, and 5-6 µm sections were obtained and stained with hematoxylin-eosine, Perl's Prussian Blue dye. Tissue samples were also taken for electron microscopic examinations. Semithin sections were obtained from tissues and stained with metilen blue - azur II. Ultrathin sections were then stained with sato dye (uranil acetate-lead citrate). Light microscopy showed fibrosis in portal area, mixed cell infiltrations, proliferation of bile ducts and papiller cystic adenomas in group II. Parenchymal and stromal structures observed was prevented partially from toxic effects of iron in group III. Electron microscopic examination disclosed necroses in parenchymal cells in group II treated by iron. Melatonin treated rats in group III had nearly similar tissue structures in electron microscopy as observed for control group (I). In conclusion, the effects of high dose of iron in liver tissue were significantly prevented by the treatment of melatonin in group III, whereas the preventing effect of vitamin E in group IV was of little importance compared with melatonin.

**Key Words:** Liver, High dose of iron, Structural changes, Melatonin and vitamin E

T Klin J Gastroenterohepatol 2000, 11:156-163

İnsanlarda kronik demir birikimi çeşitli genetik (herediter hemokromatozis) ve kazanılmış hastalıklar (homozigot beta-talasemi, Parkinson hastalığı gibi) neticesinde oluşur. Sonuçta, hepatik fibrozis, siroz, hepatosellüler karsinom, kardiyotoksisite, nefrotoksisite, eklem hastalıkları, diyabet ve nörotoksisite gibi klinik sonuçlar gözlenir (1-3).

İn vivo ve in vitro deneysel çalışmalar akut, subakut, kronik ve subkronik aşırı demir yüklenmesinin sonucu ortaya çıkan toksisitenin (hepatotoksisite, nefrotoksisite, kardiyotoksisite ve nörotoksisite gibi) patogenezinde demirin neden olduğu oksidatif hasar ve bu hasardan sorumlu olan lipit peroksidasyonu olduğu açıkça ortaya konuldu (4-7).

İnsanda klinik olarak demir yüklenmesiyle sonuçlanan çeşitli hastalıklarda (bu hastalıklar için model oluşturulan in vivo deneysel çalışmalarda karaciğer doku örneklerinde) lipit peroksidasyonun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyinin (immunohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle) artışı gösterildi (8). Diğer taraftan enzimatik antioksidan savunma elemanlarından superoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidazın artışı, alfa-tokoferol gibi enzimatik olmayan savunma elemanlarının azalması ve oksidatif DNA hasarı ve bunun paralelinde aşırı demir yüklenmesine, takiben E vitamini gibi antioksidanlarla tedavinin olumlu sonuçlarının gösterilmesiyle; demir yüklenmesinin patogenezinde oksidatif stres ve lipit peroksidasyonun rol aldığı anlaşıldı (9-19). İlâveten, primer sıçan hepatosit kültürlerinde (4,6) ve endotelial hücre kültürlerinde (20) demirin neden olduğu oksidatif hasarlar, çeşitli parametrelerle gösterilmiştir.

Bu çalışma, metabolizmada önemli rolü olan, fazla alınımında toksisite gösteren demirin, karaciğere etkisini deneysel bir model üzerinde incelemek ve buna E vitamini ile melatoninin etkisini göstermek amacıyla planlandı.

### Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada Yeni Zelanda türü, ortalama 600-800 gr ağırlığında 40 tane erkek tavşan kullanıldı. Tavşanlar çalışma boyunca 12 saat aydınlık ve karanlık siklusunda tutuldu, istedikleri kadar normal yem ve su ile beslendi.

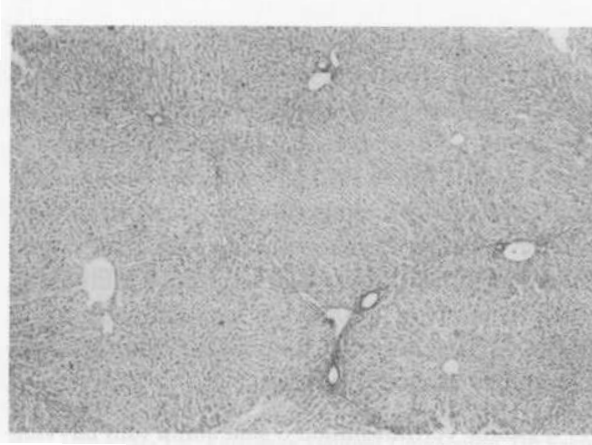
Tavşanlar dört eşit gruba ayrıldı. Grup I (kontrol), grup II (demir dekstran), grup III (demir dekstran ve melatonin) ve grup IV (demir dekstran ve E vitamini). Tüm hayvanlar 24 saat aç bırakıldıktan sonra grup II, III ve IV'deki hayvanlara demir dekstran (500 mg/kg) intraperitoneal olarak uygulandı. Demir dekstran uygulamasından 3 saat önce grup III'e melatonin (100 mg/kg) ve grup IV'e E vitamini (alfa-tokoferol; 100mg/kg) intraperitoneal uygulandı. Kontrol grubu hayvanlara eşit hacimde serum fizyolojik uygulandı.

Demir verilmesinden 8 saat sonra tüm hayvanlar dekapite edildi. Histolojik çalışmalar için karaciğer doku örnekleri çıkartıldı. Parafin ve araldit bloklama için rutun takipleri yapıldı. Elde edilen parafin kesitler (4-6 mikrometre) Hematoksilen-Eozin, Perl's Prussian Blue, araldit yarı ince kesitler (1-2 mikrometre) metilen mavisi-azur II ile boyandı. Işık mikroskopik incelemeye alındı. Elektron mikroskopik çalışmalar için, elde edilen 60 nanometre kalınlıktaki kesitler uranil asetat ve kurşun sitratla (şato boya) boyandıktan sonra Carl Zeiss 9S2 marka elektron mikroskopunda incelendi.

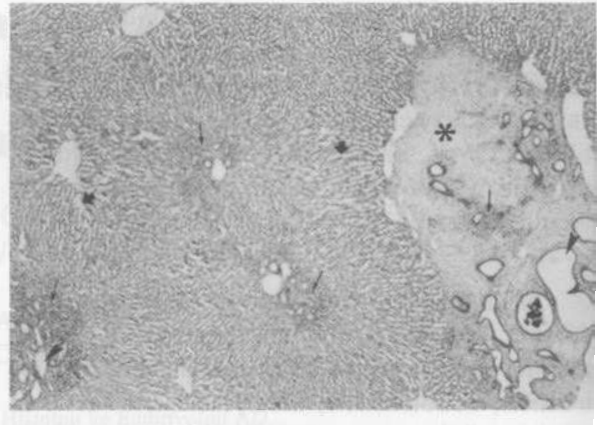
### Bulgular

Işık mikroskopunda; kontrol grubu olarak alınan ve intraperitoneal serum fizyolojik uygulanan hayvanlara ait karaciğer doku örneklerinin incelemelerinde bu organa özgü normal histolojik yapılar dışında herhangi bir bulguya rastlanmadı (Şekil 1a).

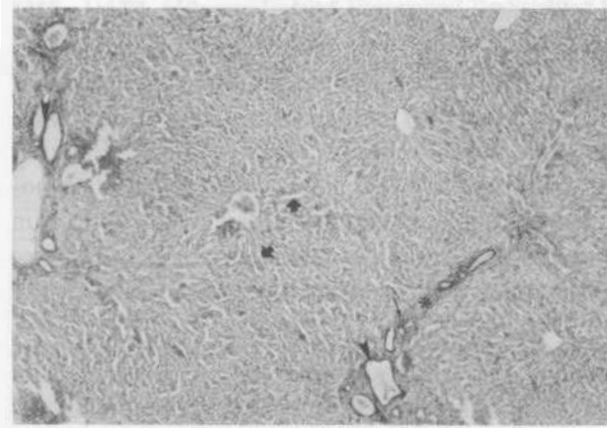
Yüksek doz (500 mg/kg) demir dekstran uygulanan deney hayvanlarına ait karaciğer doku örneklerinin incelemelerinde; portal alanlarda fibrozis, mono ve polimorfonükleer hücre infiltrasyonları ve multifokal periportal mesafede yerleşmiş safra kanalı proliferasyonu ile safra kanallarından köken aldığı düşünülen papiller kist adenomlar saptandı. Portal alanların yanısıra özellikle lobcukların portal alana komşu periferik bölgelerinde de fibrotik alanlar mevcuttu. Bu alanlar atipik hücreler tarafından doldurulmuştu (Şekil 1b). Daha büyük mikroskopik büyütmelelerde, karaciğer parankim hücrelerinde nekroz belirgindi ve hepatositlerin ışınal dizilim düzenleri bozulmuştu. Hücre membranlarının bütünlüğü bozulurken, benzer olarak çekirdek sınırlarında da çentiklerle karakterize bozukluklar (piknotik çekirdek) vardı. Hepatosit



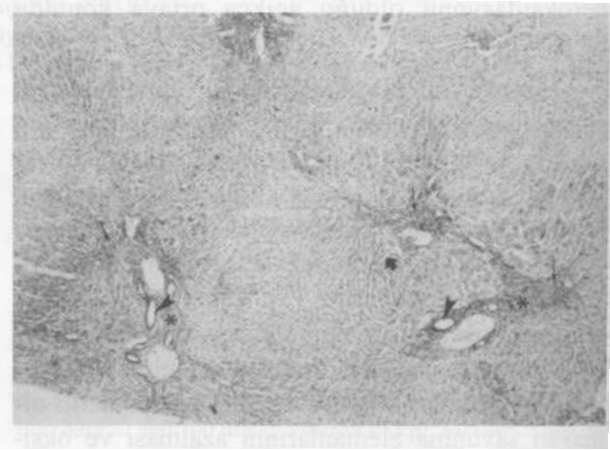
Şekil 1a.



Şekil 1b.



Şekil 1c.



Şekil 1d.

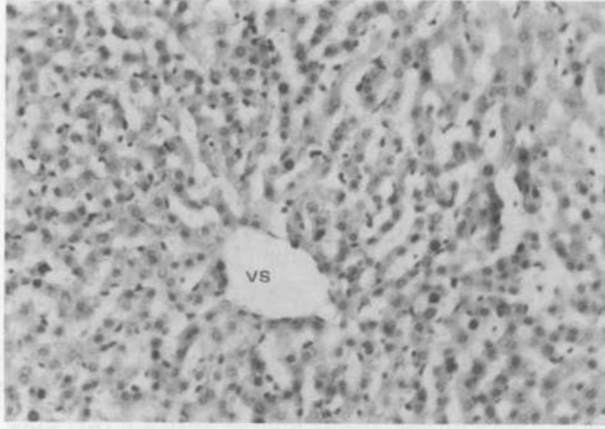
**Şekil 1.** Kontrol (a), demir (b), melatonin+demir (c), E vitamini+demir (d) deney grubuna ait karaciğer doku örneklerinin mikroskopik görünüşleri izlenmektedir. Yüksek doz demir dekstran uygulanmış grupta, portal alanda karışık hücre infiltrasyonu (ince oklar), safra kanalı proliferasyonu (ok ucu) ve bağ dokusu artışı (yıldız) görülüyor. Parankimde, sinuzoidal dilatasyonların (kalın ok) yanı sıra hepatositlerin ışınal dizilim düzenlerinin bozulmuş olduğu görülmektedir. Demir dekstrana ilaveten melatonin (c) ve E vitamini (d) tedavi gruplarında benzer bulgular gözlenmektedir, portal alanların bir miktar korunmuş oldukları görülmektedir (H-E; X48).

çekirdeklerinin heterokromatikleştiği ve belirgin çekirdekçik içerdiği saptandı. Karaciğer parenkim hücrelerinin sitoplazmalarında özellikle periferik yerleşimli vakuoller ve yaygın hidropik dejenerasyonlar mevcuttu (Şekil 4b).

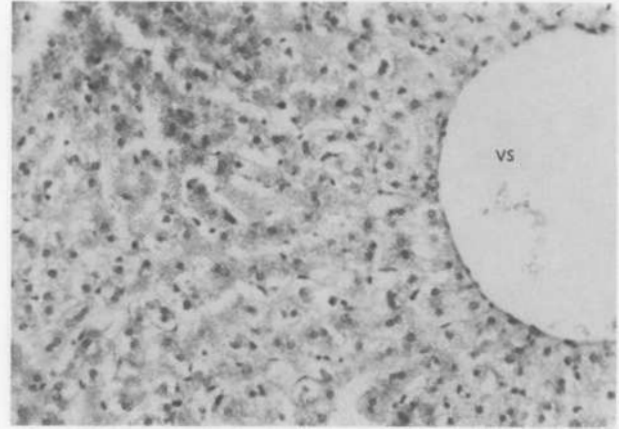
Perl's Prussian blue ile boyanmış preparatların incelemelerinde, sitoplazmaları ferritin molekülleriyle dolu Kupffer hücre proliferasyonu gözlemlendi. İlginç olarak, hepatosit sitoplazmalarında demir partikülleri saptanmadı (Şekil 3a).

Tek doz demir dekstran uygulamasıyla birlikte E vitamini ve melatonin ile tedavi edilen grupların

karaciğer doku örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, histopatolojik tablo hiçbir zaman demir uygulanan gruptaki kadar ağır değildi. Özellikle melatonin ile tedavi edilmiş grupta daha belirgin olmak üzere parankim ve stromal yapıların demirin toksik etkisinden nispeten korunduğu gözlemlendi. (Şekil 1c, d; 2a, b; 3b, c). İlaveten, ileri mikroskopik büyütmelemlerde ise, demir uygulanmış grupta gözlenen sitoplazma ve çekirdekteki yapısal değişiklikleri içeren hepatoselüler dejenerasyonlar özellikle melatonin tedavi grubunda belirgin olarak azaldı (Şekil 2a, b; 4c, d).



Şekil 2a.



Şekil 2b.

**Şekil 2.** Yüksek doz demir dekstran uygulamasından 3 saat önce melatonin (a) ve E vitamini (b) uygulanmış hayvanların karaciğer doku örneklerinin histolojik görünümü izlenmekte. Demir ve E vitamini grubunda belirgin parankim nekrozu görülürken, demir ve melatonin grubunda hepatositlerin demirin toksik etkisinden bir miktar korunduğu görülüyor (VS: Vena Sentralis) (H-E; X240).

Perl's Prussian blue ile boyanmış preparatların incelemelerinde ise, tüm deney grubunda ferritin moleküllerinin perisünizoidal hücrelerde depolandıkları ve Kupffer hücre proliferasyonu gözlemlendi (Şekil 3b, c).

### Elektron Mikroskopik Bulgular

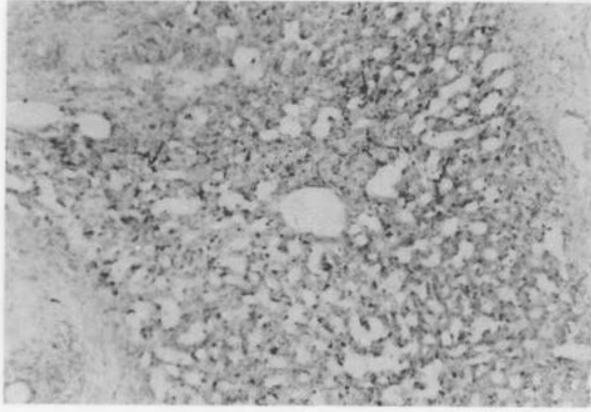
Elektron mikroskopu düzeyinde yapılan incelemede, demir dekstran uygulanan grubun karaciğer parankim hücresinin genellikle çekirdeğe komşu sitoplazma alanlarında, organel içermeyen homojen amorf bir materyalle dolu olduğu izlendi. Hücreler nekroza giden hücre görünümündeydi. Hepatosit çekirdekleri heterokromatikleşmiş ve çentiklenmeler gösteriyordu. İleri büyütmelerde granüler ve düz yüzümlü endoplazmik retikulum tubuluslarında genişlemeler ve koyu matriksli mitokondriyonlar dikkati çekmekteydi (Şekil 5). Karaciğer parankim hücrelerinin sitoplazmalarında ferritin molekülünün varlığı saptanmadı.

Vitamin E ile tedavi edilen grubun hücrelerinde endoplazma retikulum sisternalarında yer yer genişlemeler ve içlerinde az yoğun bir madde birikimi gözlemlendi. Mitokondriyal dejenerasyonlarla birlikte bazı mitokondriyonların mitokondriyogenezis aşamasında oldukları dikkati çekti. Hücreler arası aralıklar ve safra kanallıkları normal görünüyordu (Şekil 7). Melatonin ile tedavi edilen

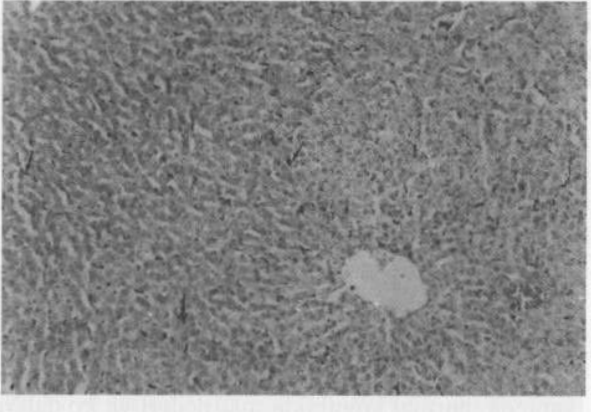
grupta ise, ince yapı düzeyinde kontrollere oldukça yakın görünüm izlendi. Hepatosit sitoplazmalarında önceki grupta (demir uygulanan) olduğu gibi homojen amorf materyalle dolu alanlar seçilmedi. Bunun paralelinde özellikle çekirdeğe komşu alanlarda organel kaybı gözlemlenmedi. Bunun yanında, normal koyulukta matriksleri ve kristalleri seçilebilen mitokondriyonların varlığı dikkati çekti. İncelenen tüm preparatlarda çekirdek yapıları oldukça düzenli olarak gözlemlendi. Bu grupta (melatoninli), sitoplazmada oldukça fazla sayıda peroksisomlar dikkati çekerken, granüler endoplazma retikulum (GER) tubuluslarının azalması protein sentezinin azalmış olacağı kanısını uyandırdı (Şekil 6).

### Tartışma

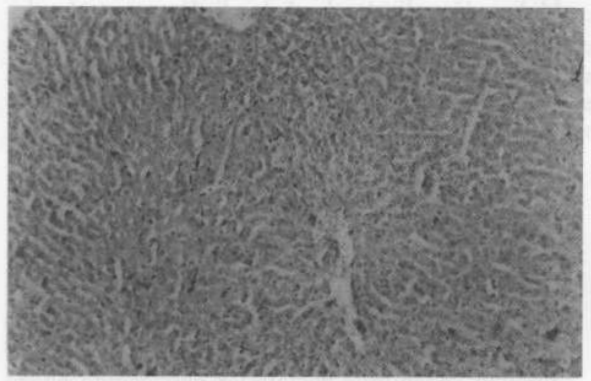
Demir yüklenmiş canlılarda yapılan çalışmalarda, demirin çeşitli doku ve organlarda toksisiteye neden olduğu ortaya konmuştur. İnsanlarda gelişen kronik demir yüklenmesi bazı kalıtsal ve sonradan kazanılmış hastalıklar neticesinde oluşabilir. Bunun klinik sonuçları hepatik fibrozis, siroz, hepatosellüler kanser, kardiyak hastalık, eklem hastalıkları, nefrotoksisite ve diyabettir (17,18,20, 21). Hepatotoksisite; aşırı demirin esas alıcısı karaciğer olduğundan dolayı demir yüklenmiş hastaların en yaygın bulgusudur (16,17). Demir yüklenmesinin patofizyolojisinde lipid peroksidasyonunun önemli bir mekanizma olduğu ileri sürüldü



Şekil 3a.



Şekil 3b.



Şekil 3c.

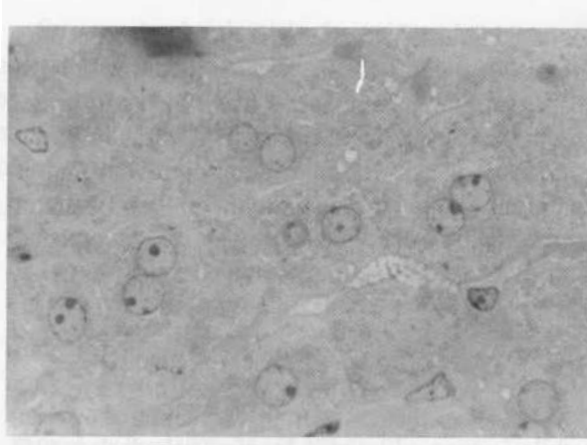
**Şekil 3.** Demir (a), melatonin+demir (b) ve E vitamini+demir (c) uygulanmış tavşanların Perl's Prussian Blue boyanmış karaciğer doku örneklerinin mikroskopik görünümü izlenmektedir. Yalnız demir dekstran uygulanmış grupta ve diğer iki deney grubunda ferritin moleküllerinin perisünizoidal hücrelerde depolandıkları izlenmektedir (oklar). İlâveten, Kupffer hücre proliferasyonu gözleniyor.

(10,13,16). Lipit peroksidasyonun ana ürünü olan MDA, mikrozomal proteinlere kovalent bağlanarak demirin neden olduğu hepatosellüler hasarda rol oynayabileceği belirtilmiştir (6). Deneysel demir yüklenmesi sonucunda lipit peroksidasyonu, hepatic mikrozomal fonksiyon bozuklukları yanında, artmış lizozomal frajilite ve mitokondrial bozukluklara da neden olmaktadır (11,18). Primer sıçan hepatosit kültürlerinde demirin oksidatif DNA hasarına neden olduğu bildirildi (4). Demir yüklenmiş sıçanlarda yapılan in-vitro çalışmalarda demir yüklenmesinin sıçan hepatositlerinde oksidatif strese duyarlılığın artmış olduğu saptandı (6). Yine, in-vitro şartlarda endotelial hücre kültürlerine demir yükleyerek yapılan bir çalışmada, demirin izole hücre organellerinde, plazma membranlarında ve DNA'da oksidatif hasarı teşvik ettiği belirlendi (20). Aktif demirin hücre hedeflerinden birisi DNA olmasından dolayı, fenilhidrazin ile tedavi edilmiş sıçanlardan elde edilen karaciğer DNA'sı elektroforez ile analiz edilmiş ve belirgin olarak fragmente olduğu tespit edildi (22).

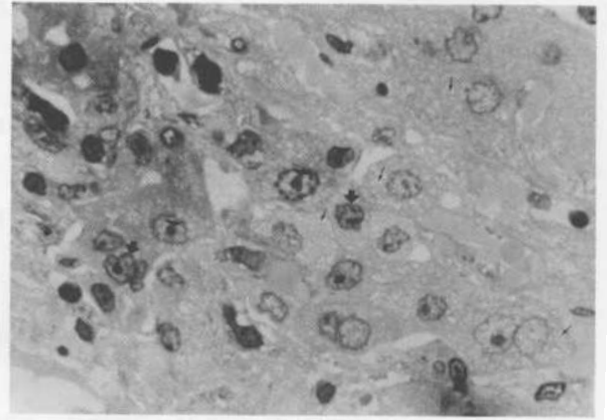
Kalıtsal hemokromatozis'li hastalardan elde edilen karaciğer biyopsi örneklerinde immünohistokimyasal tekniklerle MDA için kontrollerle karşılaştırıldığında artmış pozitif immün reaksiyonlar gözlemlendi (1). Benzer bir başka raporda, genetik hemokromatozis'li hastalarda hepatic MDA düzeylerinde artışla karakterize oksidatif stres artışı bildirildi (23). Bu hastalarda artmış lipit peroksidasyon ve transforming growth faktör (TGF) beta-1 ekspresyonu karaciğer hasarı ve fibrojenezisten sorumlu tutulmuştur.

İlave birçok in-vivo çalışmada da, çeşitli doz ve zaman aralıklarında parenteral yoldan yüklenen demirin değişik doku ve organlarda toksisiteye neden olduğu belirtildi (5,7,8,24-26). Bu in-vivo çalışmaların sonuçları göstermiştir ki, demirden zengin ortam, demirin katalizlediği lipit peroksidasyonu vasıtasıyla hasar oluşturabilmektedir.

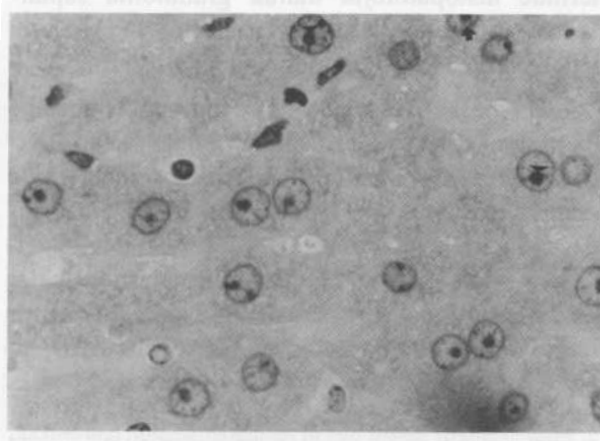
Mevcut çalışmada, tek doz demir dekstran (500 mg/kg) uygulanmasından 8 saat sonra incelenen tavşan karaciğer doku örneklerinin parankim ve stromasında fibrozis, karışık hücre infiltrasyonları, safra kanalı proliferasyonu, papiller kist adenomlar, parankim hücre nekroz bulguları ve Kupffer hücre proliferasyonu gözlemlendi. Tüm bu yapısal değişikliklerin aşırı demir yüklenmesine bağlı artmış peroksidatif hasardan kaynaklandığı



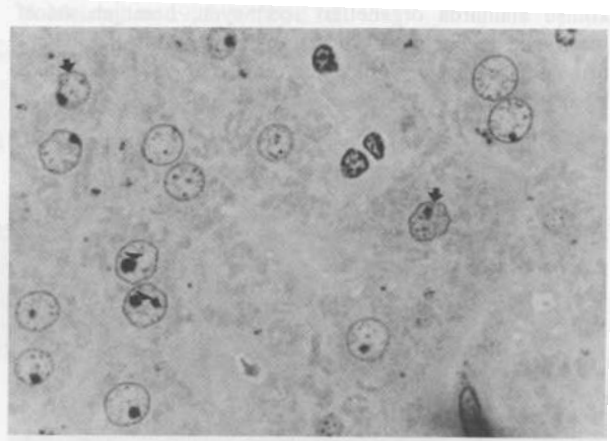
Şekil 4a.



Şekil 4b.



Şekil 4c.



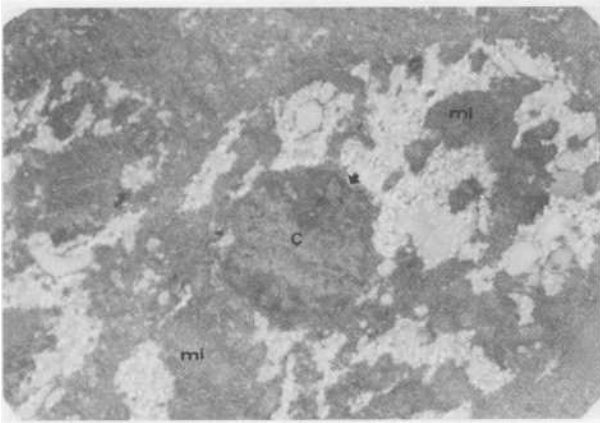
Şekil 4d.

**Şekil 4.** Kontrol (a), demir (b), melatonin+demir (c) ve E vitamini+demir (d) deney gruplarına karaciğer doku örneklerinden elde edilmiş yarı ince kesitlerin mikroskopik görünüşleri izlenmekte. Kontrol grubuna ait parankim hücreleri normal yapı özellikleri gösterirken, tek doz demir dekstran uygulanmış grubun hepatositlerinde vakuoler dejenerasyonlar (ince oklar), piknotik çekirdekler (kalın oklar), belirginleşmiş çekirdekçikler (ok uçları) ve çekirdek membranlarının altında kromatin birikimine bağlı çekirdek membran kalınlaşmaları izleniyor. Tüm bu yapısal bozukluklar melatonin+demir (c) ve E vitamini+demir (d) grubunda belirgin azalma gösteriyor (Metilen mavisi-Azur II; X1200).

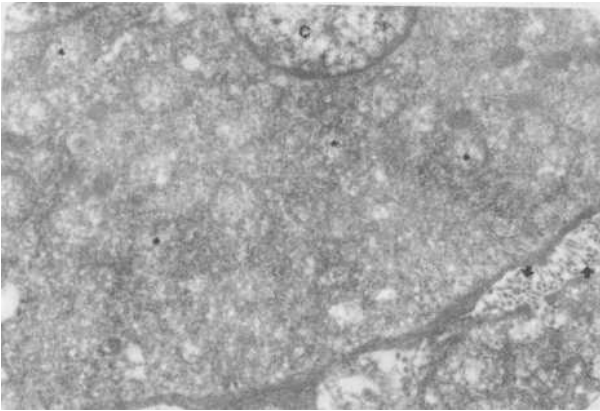
düşünüldü. Şöyle ki; demir yüklenmesi sonucu karaciğerde ilk etkilenen yapısal komponentler Kupffer hücreleri daha sonra da nötrofillerdir. Bu hücrelerde, demir metabolizmasının katalizlediği hücre içi oksidatif reaksiyonlar sonucu açığa çıkan peroksidatif ürünler, diğer hücresel elamanlarda bilinen toksik etkilere neden olabilir. Gerçekten de, çalışmamızda yüksek doz demir yüklenmiş tavşanların 8 saat sonraki karaciğer dokularının histopatolojik incelemelerinde hepatositlerde demir inklüzyonları gözlenmezken fagositik hücrelerin sitoplazmaları bol miktarda demir partikülleriyle

doluydu. Özellikle portal ve periportal alanlarda gözlenen yapısal bozuklukların (safra kanalı proliferasyonu, mononükleer ve polimorfonükleer lökosit infiltrasyonu ve parankim hücre hasarı gibi) doğrudan demirin etkisinin sonucu değil, demirin fagositik hücrelerde neden olduğu oksidatif hasarın, sekonder sonucu geliştiğini düşündürmektedir. Bununla birlikte; bu konunun tam olarak anlaşılabilmesi için daha ayrıntılı in-vitro çalışmalara gereksinim vardır.

Hücresel antioksidanlardan melatonin ve E vitamini demir yüklenmesine yanıt olarak gelişen



**Şekil 5.** Yüksek doz demir dekstran uygulanmış grubun karaciğer hücresinin ayrıntılı yapısı. Genellikle, çekirdek (ç) komşu alanlarda organelleri içermeyen, homojen amorf materyelle dolu bölgeler (yıldız), çok koyu matriksli mitokondriyonlar (mi) ve çentiklenme gösteren çekirdek (oklar) izleniyor (uranil asetat-kurşun sitrat; X3000).



**Şekil 6.** Demir toksisitesine karşı melatonin ile tedavi edilmiş gruba ait hepatositin ayrıntılı ince yapısı. Sınırları düzenli çekirdek (ç), bol mitokondriyon (yıldız) ile dolu sitoplazma izlenmekte. Kalın ok: safra kanalcıkları (uranil asetat-kurşun sitrat; X7000).

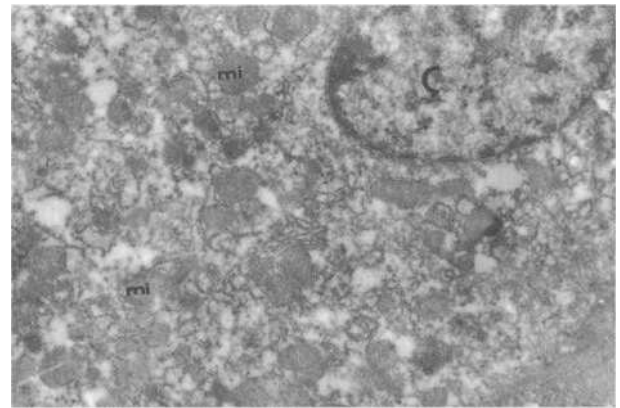
oksidatif hasara karşı önemli koruyucu mekanizmalar gösterebileceği düşünüldü.

Melatonin güçlü bir serbest radikal toplayıcıdır. Toksik hidroksil radikalleri ile reaksiyona girerek, bütün hücre kompartımanlarındaki biyomolekülleri, oksidatif hasara karşı bölgesel olarak yerinde korur. Çok reaktif olan hidroksil radikallerinin yıkıcı etkilerine karşı primer nonenzimatik savunma mekanizmasını oluşturur (27,28). Melatoninin doğrudan hidroksil radikali toplama yeteneğinin yanı sıra ekzojen melatonin verilmesinin

önemli bir antioksidatif enzim olan nötral glutatyon peroksidazı da artırma yeteneği vardır (28-30). E vitamini de enzimatik olmayan antioksidan savunma elamanlarından biridir. Çok güçlü bir antioksidan olan E vitamini hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. E vitamini zincir kırıcı bir antioksidan olarak bilinmektedir (31,32).

Önceki birkaç çalışmada aşırı demir yüklemesinin neden olduğu oksidatif hasara karşı birkaç antioksidan savunma elamanının koruyucu etkileri rapor edilmiştir. İnan ve arkadaşları (25), demir uygulanmış hayvanların %71'nin karaciğerlerinde histopatolojik olarak granüloma saptarlarken, E vitamini ile tedavi edilmiş hayvanların yalnızca %33'ünde granüloma gözlemişlerdir.

Bir başka çalışmada da, demir yüklenmesine bağımlı oksidatif hasar üzerine diyetle alınan E vitaminin etkisi çalışılmış ve sıçan karaciğerinde demir yüklenmesiyle artmış lipid ve protein oksidasyonunun E vitamini ile etkili bir şekilde engellendiği saptanmıştır (33). Bu çalışmaları destekler nitelikteki birkaç çalışmada ise, yüksek doz demir uygulanmış sıçanların plazmalarında (9,16) ve böbrek (16) homojenatlarında alfa-tokoferol miktarının önemli oranda azaldığı bildirilmiştir. Bundan başka, bir antioksidan olan flavonoid myricetin'in demirin neden olduğu genotoksitesiteye karşı sitoprotektif etkisi olduğu rapor edildi (4).



**Şekil 7.** Demir+E vitamini grubunda, hepatositin çekirdeği (ç) çentiklenmeler göstermiyor ve sitoplazmasının demirin toksik etkisinden bir miktar korunduğu izlenmekte. GER sisternalarında dilatasyonlar ve dejenere mitokondriyonlar (mi) görülmektedir (uranil asetat-kurşun sitrat; X4000).

Sonuç olarak, demirin karaciğer dokusunda meydana getirdiği yapısal değişikliklerin melatoninli grupta daha belirgin olmak üzere ve E vitamini grupta daha az olarak düzelmiş olduğunu söyleyebiliriz.

#### KAYNAKLAR

- Niemela O, Parkkila S, Britton RS, Brunt E. Hepatic lipid peroxidation in hereditary hemochromatosis and alcoholic liver injury. *J Lab Clin Med* 1999; 133 (5): 451-60.
- Nair J, Carmichael PL, Fernando RC, Phillips DH. Lipid peroxidation-induced etheno-DNA adducts in the liver of patients with the genetic metal storage disorders Wilson's disease and primary hemochromatosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7 (4): 435-40.
- Iancu TC. Biological and ultrastructural aspects of iron overload: an overview. *Pediatric Pathology* 1990; 10 (1-2): 281-96.
- Abalea V, Cillard J, Dubos MP, Sergent O. Repair of iron-induced DNA oxidation by the flavonoid myricetin in primary rat hepatocyte cultures. *Free Radical Biol Med* 1999; 26(11-12): 1457-66.
- Brunet S, Thibault L, Delvin E, Yotov W. Dietary iron overload and induced lipid peroxidation are associated with impaired plasma lipid transport and hepatic sterol metabolism in rats. *Hepatology* 1999; 29 (6): 1809-17.
- Hagen K, Zhu C, Melefors O. Susceptibility of cultured rat hepatocytes to oxidative stress by peroxides and iron. The extracellular matrix affects the toxicity of tert-butyl hydroperoxide. *Int J Biochem Cell Biol* 1999; 31 (3-4): 499-508.
- Tjalkens RB, Valerio LG Jr, Awasthi YC, Petersen DR. Association of glutathione S-transferase isozyme-specific induction and lipid peroxidation in two inbred strains of mice subjected to chronic dietary iron overload. *Toxicol Appl Pharmacol* 1998; 151 (19): 174-81.
- Valerio LG Jr, Peterson DR. Formation of liver microsomal MDA- protein adducts in mice with chronic dietary iron overload. *Toxicol Lett* 1998; 98 (1-2): 31-9.
- Dabbagh AJ, Mannion T, Lych SM. The effect of iron overload on rat plasma and liver oxidant status in vivo. *Biochemical Journal* 1994; 300 (Pt 3): 799-803.
- Galleano M, Puntarulo S. Hepatic chemiluminescence and lipid peroxidation in mild iron overload. *Toxicology* 1992; 76 (1): 27-38.
- Ceccarelli D, Gallesi D, Giovannini F. Relationship between free iron level and rat liver mitochondrial dysfunction in experimental dietary iron overload. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 1995; 209 (1): 53-9.
- Houglum K, Filip M, Witztum JL. Malondialdehyde and 4-hydroxynonenal protein adducts in plasma liver of rats with iron overload. *Journal of Clinical Investigation* 1990; 86(6): 1991-8.
- Younes M, Wess A. The role of iron in t-butyl hydroperoxide-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in rats. *Journal of Applied Toxicology* 1990; (10) 859: 313-7.
- Britton RS, Ferrali M, Magiera CJ. Increased prooxidant action of hepatic cytosolic low-molecular-weight iron in experimental iron overload. *Hepatology* 1990; 11 (6): 1038-43.
- Rice-Evans C, McCarthy P, Hallinan T, Green NA. Iron overload and the predisposition of cells to antioxidant consumption and peroxidative damage. *Free Radical Research Communications* 1989; 7 (83-6): 307-13.
- Galleano M, Puntarulo S. Dietary alpha-tocopherol supplementation on antioxidant defenses after in vivo iron overload in rats. *Toxicology* 1997; 124 (1): 73-8.
- Carhew P, Dorman BM, Edwards RE. A unique rodent model for both the cardiotoxic and hepatotoxic effects of prolonged iron overload. *Laboratory Investigation* 1993; 69 (2): 217-22.
- Britton RS, Ramm GA, Olynk J. Pathophysiology of iron toxicity. *Advances in Experimental Medicine & Biology* 1994; 356: 239-53.
- Antebi H, Pages N, Zimmermann L, Bourcier C. Resistance to oxidation of native lipoproteins and erythrocyte membrane lipids in rats with iron overload. *Annals of Nutrition & Metabolism* 1995; 39 (1): 63-8.
- Balla G, Vercellotti GM, Eaton JV. Iron loading of endothelial cells augments oxidant damage. *Journal of Laboratory & Clinical Medicine* 1990; 116 (4): 546-54.
- Logroscino G, Marder K, Graziano J. Altered systemic iron metabolism in Parkinson's disease. *Neurology* 1997; 49 (3): 714-7.
- Ferrali M, Signorini C, Sugherini L. Release of free, redox-active iron in the liver and DNA oxidative damage following phenylhydrazine intoxication. *Biochem Pharmacol* 1997; 53 (11): 1743-51.
- Ferrali M, Signorini C, Sugherini L. Release of free, redox-active iron in the liver and DNA oxidative damage following phenylhydrazine intoxication. *Biochem Pharmacol* 1997; 53 (11): 1743-51.
- Anghileri LJ, Esposito M, Fulcheri E, Zicca A. Iron-ethanol synergism and pathological liver transformation. *In Vivo* 1999; 13 (1): 13-20.
- Inan C, Kilinc K, Kotiloglu E, Akman HO. Antioxidant therapy of cobalt and vitamin E in hemosiderosis. *J Lab Clin Med* 1998; 132 (29): 157-65.
- Montosi G, Garuti C, Martinelli S. Hepatic stellate cells are not subjected to oxidant stress during iron-induced fibrogenesis in rodents. *Hepatology* 1998; 27 (6): 1611-22.
- Özgüner F, Özcankaya R, Delibaş N, Koyu A. Melatonin ve klinik önemi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 1995; 2 (4): 1-6.
- Karaca H, Özer ME, Özgüner F, Çalışkan S. Melatonin ve klinik yönleri. *PTT Hastanesi Tıp Dergisi* 1998; 20 (2): 118-21.
- Reiter RJ. Pineal function during aging; attenuation of the melatonin rhythm and its neurobiological consequences. *Acta Neurobiol Exp* 1994; 54: 31-9.
- Reiter RJ. Comparative Physiology: Pineal gland. *Annu Rev Physiol* 1973; 35: 305-28.
- Kovachova S, Ribarov S. Lipid peroxidation in lung of rats exposed to endotoxin: Effect of vitamin E supplementation. *Pharmacology and Toxicology* 1996; 79: 177-82.
- Karaöz E, Karaöz S. E vitamini biyolojik sistemlerdeki rolü. *Beslenme ve Diyet Dergisi* 1992; 21 (1): 101-16.



