

Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarı ve melatonin

Myocardial ischemia-reperfusion injury and melatonin

Engin Şahna, Esra Deniz, Hakkı Engin Aksulu

Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

ÖZET

Miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarının özellikle reperfüzyon periyodu sırasında artmış serbest radikal üretimi ve hücre içi aşırı kalsiyum yüklenmesi ile ilişkili olduğuna inanılmaktadır. Pineal bezden salgılanan hormon olan melatonin, güçlü bir serbest radikal yakalayıcı ve antioksidan olarak bilinir ve hücre içi aşırı kalsiyum yüklenmesini inhibe edebilir. Bu derlemede, miyokardiyal iskemi-reperfüzyon hasarının temelinin ve melatoninin iskemi-reperfüzyon ile ilişkili miyokardiyal hasar üzerindeki etkilerini özetledik. İnsan total antioksidan kapasitesi serum melatonin düzeyi ile ilişkilidir. Ani kardiyak ölüm insidansı sabah saatlerinde yüksektir ve bu saatlerde melatonin düzeyi anlamlı bir şekilde düşüktür. Koroner kalp hastalığı olanlarda normal bireylere göre melatonin düzeyi azalmıştır. Bu bulgular; melatoninin iskemik kalp hastalıklarının önlenmesi ve tedavisinde, baypas, koroner arter spazmı, anjiyoplasti ve trombolitik süreçler sonrası gelişen reperfüzyon hasarının ve özellikle de hayatı tehdit eder nitelikteki aritmilerin ve ileriki yaşam kalitesini etkileyebilen infarkt alanının önlenmesi gibi durumlarda klinik olarak test edilebileceğini düşündürmektedir. (*Anadolu Kardiyol Derg 2006; 6: 163-8*)

Anahtar kelimeler: İskemi, reperfüzyon, melatonin

ABSTRACT

It is believed that myocardial ischemia-reperfusion injury is related to increased free radical generated and intracellular calcium overload especially during the period of reperfusion. The pineal secretory product, melatonin, is known to be a potent free radical scavenger, antioxidant and can inhibit the intracellular calcium overload. In this review, we have summarized the fundamental of cardiac ischemia-reperfusion injury and the effects of melatonin on myocardial damage that related to cardiac ischemia-reperfusion injury. The total antioxidant capacity of human serum is related to melatonin levels. Incidence of sudden cardiac death is high in the morning hours. It has been shown that melatonin levels are significantly low at these times and patients with coronary heart disease have lower than normal individuals. These findings thought that melatonin would be valuable to test in clinical trials for prevention of possible ischemia-reperfusion-induced injury, especially life threatening arrhythmias and infarct size, effecting life quality, associated with thrombolysis, angioplasty, coronary artery spasm or coronary bypass surgery. (*Anadolu Kardiyol Derg 2006; 6: 163-8*)

Key words: Ischemia, reperfusion, melatonin

Giriş

İskemik kalp hastalığı, en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biri olarak güncelliğini korumaktadır. Gelişmiş ülkelerde her yıl meydana gelen ölümlerin yaklaşık yarısı kalp-damar sistemi ile ilgili sorunlardan kaynaklanmaktadır (1). En sık görülen şekli "koroner aterosklerotik kalp hastalığı" denilen ve aterosklerotik plaklara ve vazospazma bağlı olarak miyokardı besleyen koroner kan akımının klinik ve patolojik belirti verecek kadar azalmış olduğu durumdur (2). İskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarı; miyokard infarktüsü, serebral iskemi, inme, hemorajik şok ve organ transplantasyonu gibi cerrahi girişimler ve trombolitik tedaviye bağlı oluşan patofizyolojinin temelidir

Miyokardiyal iskemide dokuya giden kan akımının ani azalması nedeniyle bölgeye substrat'ların gelmesi ve oluşan metabolit-

rin temizlenmesinin aksaması, oksidatif metabolit yollarının inhibe olması sonucu miyokardiyal fonksiyon kaybı ve hücre ölümüne (nekroz) neden olan bir dizi olaylar zinciri başlamış olur. İskemi terimi, besleyici ürünlerin azlığı ve metabolik artıkların temizlenmesi kavramlarını gösterse de oksijen yetmezliği temel kriter faktördür. Olayın genellikle ölümcül aritmiler ve miyokard infarktüsü gibi ciddi patolojik durumlarla sonuçlanması konunun önemini bir kat daha artırmaktadır. Miyokardiyal iskemi ve komplikasyonlarında tedavide gerekli girişimlerin zamanlama ve sırasının ve uygun ajanların belirlenmesinin hayati öneme sahip olabileceği düşünülmektedir.

İskemi sonrası kan akımının yeniden sağlanmasına reperfüzyon adı verilir. Reperfüzyon iskemik dokunun canlılığını koruyabilmesi için çok önemlidir. Bununla beraber, reperfüzyon, paradoksik olarak bazı morfolojik değişikliklere, enzim yıkımının ve miyokardın

istirahat geriliminin artması gibi hasarlara, ventriküler fibrilasyon gibi ciddi ventriküler aritmilere ve hatta henüz canlı ve kurtarılabılır durumda olan bazı hücrelerin ölümüne yol açabilir (3). Reperfüzyonda oluşan aritmilerin bir kısmının çok tehlikeli olduğu cerrahi operasyonlar sırasında (örneğin kardiyopulmoner baypas sırasında meydana gelen reperfüzyon aritmileri) daha iyi anlaşılmıştır. Son zamanlarda akut miyokard infarktüsü hastalara uygulanan trombolitik tedavi nedeniyle konu daha da önem kazanmıştır. Verma ve ark.ları (4) reperfüzyon hasarının temeli adlı derlemelerinde "reperfüzyon hasarı nedir, niçin önemlidir?", diye sorgulamış ve olgu örnekleriyle (48 yaşında erkek, akut anterior MI geçirmiş, fibrinolitik tedaviye başlanmış, reperfüzyondan 12 saat sonra ölmüş; 68 yaşında diyabetik kadın, koroner arter greft ameliyatı geçirmiş; postoperatif olarak reperfüzyondan sonra düşük kardiyak debi gelişmiş) konunun önemine dikkat çekerken; reperfüzyonun anjina, koroner vazospazm, balon anjiyoplasti, trombolizis, perkütan koroner müdahale (PCI), koroner arter baypas greft ameliyatı (CABG) ve kardiyak transplantasyon da sık karşılaşılan bir durum olduğunu bildirmişlerdir. Kalp hastalıklarında İ/R aritmileri, özellikle iskemiye bağlı ventriküler taşikardi ve fibrilasyonlar ve reperfüzyonun indüklediği ventriküler fibrilasyon ani ölümlerin çoğundan sorumlu tutulmaktadır. Benzer şekilde uzun süreli İ/R sonucunda meydana gelen hücre ölümü de geniş bir infarkt alanı oluşturabileceğinden hastanın prognozunu ve ilerdeki yaşam kalitesini belirlemesi açısından hayati önemi olan bir yere sahiptir. Akut koroner sendromlarda miyokardiyal nekrozu önlemek acil tedavi hedeflerindedir (5).

Pineal bezden salınan bir hormon olan melatoninin (5-met-hoxy-N-acetyl-tryptamine) birçok biyolojik etkisinin yanı sıra, hücre içi kalsiyum düzeyini düzenleyebilmesi (6), güçlü bir radikal süpürücü (hidroksil radikali, süperoksit anyon radikali, peroksil radikali, singlet oksijen ve peroksinitrit anyonu) ve antioksidan (süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz stimülasyonu ve nitrik oksit sentaz (NOS) inhibisyonu) özelliğinin olması, İ/R hasarında etkili bir koruyucu olabileceğini düşündürmektedir (1,7). Kardiyovasküler sistemle ilgili olarak melatoninin arteriyel tonusu regüle ettiği rapor edilmiştir (8). Bunun yanı sıra, yaşlanma ile kalp hastalıkları insidansının artması ve melatonin düzeyinin azalması (9), ani kardiyak ölüm insidansının sabah saatlerinde yükselmesi ve bu saatlerde melatonin seviyesinin anlamlı bir şekilde düşük olması (10), koroner kalp hastalığı olanlarda normal bireylere göre melatonin seviyesinin düşük bulunması (11) gibi bulgular; kardiyovasküler hastalıkların patofizyolojisinde melatoninin rol alabileceğini düşündürmektedir.

İskemi-Reperfüzyon Hasarı

İ/R'a bağlı miyokardiyal hasar, kalbin kasılma fonksiyonunun kaybı, aritmiler, apoptozis ve irreverzibl miyosit hasarını içerir (12). Bu İ/R hasarının nedeni hala spekülatif olmakla birlikte iskemideki elektrofizyolojik anormallikler (özellikle, kalsiyum (Ca²⁺) ve potasyum (K⁺) için iyonik dengesizlik) ve reperfüzyonda aşırı serbest radikal üretimi, geçerli hipotezler olarak kabul edilmektedir (1,13). Bunlara paralel olarak koroner endotelial hücreler, lökositler, plateletler, ve kardiyak miyositler de hasar oluşumunda önemli rol oynar. Reperfüzyon nötrofil adezyonu ve agregasyonunu stimüle eder (14). Ayrıca meydana gelen endotelial fonksiyon kaybı, plateletler, pro-inflamatuvar sitokinler ve lökosit aktivasyonu oksidanların üretimine neden olur (9-15).

Oksidatif Stres

Reaktif oksijen türleri (ROS), İ/R sırasında miyokardda hızlı bir şekilde oluşmaktadır ve İ/R hasarının en önemli nedeni olarak kabul edilmektedir (2,12,13). Reperfüzyonun başında mitokondriyal solunum hızı ve serbest radikal üretimi belirgin derecede artar. Bu radikaller hücre intrinsik serbest radikal yakalayıcı sistemlerin kapasitesini aşabilir ve hücre fonksiyon kaybına yol açabilirler. Dokuların tükettiği oksijenin büyük bir kısmı (%95) aerobik metabolizma için kullanılırken, %5'inin ROS'a çevrildiği tahmin edilmektedir. Oksijenden üretilen en önemli reaktif türler arasında süperoksit anyonu (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil radikali (OH[•]), peroksinitrit anyonu (ONOO⁻) vardır. Bu radikaller membran hasarı, DNA yıkımı, proteaz aktivasyonu, lipid ve protein peroksidasyonu, takiben apoptozis ve nekrozla sonuçlanan hücre ölümü meydana getirmektedirler (1,4,7).

Mitokondriler, ksantin oksidaz (XO) enzimi, prostaglandin (PG) biyosentezi ve inflamatuvar cevapta rol oynayan fagositler (nötrofil ve monosit) serbest radikallerin kaynağı olarak bilinirler. Bakır, demir, mangan ve molibden gibi geçiş metalleri de reaksiyonları katalize ettikleri için serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Reaktif oksijen ürünleriyle reaksiyona giren endojen bileşikler olan antioksidanlar SOD, katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GRd) ve inflamatuvar hücrelerin serbest radikal üretimini engelleyen ekzojen ajanlar (ibuprofen ve allopurinol gibi) doku hasarını azaltabilirler. Pentoz monofosfat yolağı da NADPH sağlayarak redükte glutatyon oluşumuna ve lipid peroksidlerin detoksifikasyonunda rol alan GPx' a yardım eder. Ayrıca A, C, E vitamini ve GPx' in kofaktörü olan selenyumun da hücredeki antioksidan mekanizmalarda rolü vardır.

İyon Pompaları

Reperfüzyon sırasında miyokardiyal dokularda üretilen ROS; proteinler, membran lipidleri ve nükleik asitlerin oksidasyonuna yol açar, membran iyon kanallarının K⁺, Ca²⁺ ve sodyum (Na⁺) geçirgenliğini değiştirir. Oksidatif strese maruz kalan dokuda Na⁺ / K⁺ATPaz, Ca²⁺ATPaz gibi iyon pompalarının aktivitesi azalmıştır (16). İ/R da hücre içine Ca²⁺ girişi artıp, çıkışı azaldığı için hücre içi Ca²⁺ homeostazı bozulur. Bu etki, L-tipi Ca²⁺ kanalları aracılığıyla sarkolemal Ca²⁺ girişinin artmasıyla ya da sekonder olarak sarkoplazmik retikulum-Ca²⁺ siklusundaki değişikliklerle ilişkilidir. Fizyolojik koşullarda hücre içinde biriken fazla Ca²⁺ dışarı atılarak ya da hücre içinde depolanarak tolere edilir. İskemi sırasında hücrede enerji tükendiğinden sitoplazma ve mitokondride aşırı miktarda Ca²⁺ birikmekte ve Ca²⁺'un toksik etki göstermesine neden olmaktadır. Enerji eksikliği nedeniyle pompalar ve depolama mekanizmaları iflas eder ve artan Ca²⁺ düzeyi fosfolipazları, proteazları aktive ederek radikal ve yağ asitleri oluşumunu artırır ve hücreyi ölüme sürükleyebilirler (17). Hücrenin sürekli K⁺ kaybetmesi, yüksek enerjili fosfatların tüketimi, hücre içi Ca²⁺ konsantrasyonunun artması, sistolik kan basıncının azalması, diyastolik kan basıncının artması, metabolik fonksiyonların depresyonu, aritmiler ve nekroz kapsayan reperfüzyon hasarına neden olabilir (16,17).

Hücre İnfiltrasyonu ve Kompleman Sistem

Reperfüzyonda oksijenden başka kan hücreleri ve kompleman sisteminin aktivasyonu gibi diğer bazı faktörler de doku hasarına yol açar. Yapılan çalışmalar tam kan reperfüzyonundaki

polimorfonükleer (PMN) lökositlerin de bu hasarın oluşmasında önemli bir rolü olduğunu göstermiştir (18). Reperfüzyon başlangıcında meydana gelen olaylar inflamatuvar cevabın en önemli komponentleri olan nötrofiller ve endotelium arasındadır ve erken reperfüzyon hasarı olarak ifade edilir. Lökositlerin doku içine migrasyonu için mutlaka endotel ile temas etmeleri gerekir. İnfiltrasyon olan aktif nötrofiller reaktif oksijen radikalleri ve proteazları salgırlar. Hücre içi savunma mekanizmalarında kullanılan serbest radikal süpürücü SOD ve peroksit yıkıcı KAT ve GPx enzimleri, lökositlerin salgıladıkları bu sitotoksik reaktif oksijen metabolitleri tarafından oluşturulan hasarı azaltabilme kapasitesine sahiptir (18). Fakat bu radikal süpürücü ajanlar hücre içinde buldukları için, hücre dışı mekanizmalarla olan bir hasarı önlemede yetersiz kalabilecekleri düşünülmektedir. Bu nedenle serbest radikal süpürücü ajanların dışarıdan vücuda verilmesi uygun bir tedavi seçeneği olabilir.

Nötrofiller dokuya gelebilmeleri için gerekli kemotaktik maddeler arasında C3a ve interlökin-1 (IL-1), lökotrien B4 (LT-B4), platelet aktive edici faktör (PAF), PG türleri vardır. Aktif lökositler nükleer transkripsiyon faktörlerinin (NF-κB) aktivasyonuna ve tümör nekrozis faktör (TNF-α) sentezine yol açar. Lökositlerin ürettiği serbest radikallerle etkileşen bu maddeler mast hücrelerinden selektin ve hücre içi adezyon molekülü (ICAM) gibi adezyon moleküllerinin mobilize eden inflamatuvar mediyatörlerin salınımını uyarır (19-20). Nötrofillerin saldıkları maddelerle yol açtıkları hasarın yanı sıra, aktif nötrofillerin damar içinde oluşturdukları hücre toplulukları (agregatlar) ve aktif plateletlerle birlikte damar endoteline yapışarak mikrovasküler tıkanmaya neden olmalarından dolayı I/R hasarının önemli mediyatörleri olarak kabul edilmektedir. Yapılan son çalışmalarda; nötrofillerin aktivasyon ve dokuya infiltrasyon derecesi ile reperfüze dokudaki nekroz ve apoptozis derecesi arasında bir korelasyon olduğu bulunmuştur (21). Programlı hücre ölümü olarak bilinen apoptozis normal insan gelişiminin, immün sistemin ve vücut homeostazının vazgeçilmez bir bileşenidir. Bu hücre ölüm yolağındaki düzensizlikler; kanser, otoimmün hastalıklar, immün sistem bozuklukları, iskemik epizodu takiben reperfüzyon hasarı ve nörodejeneratif hastalıklara yol açabilir.

Nitrik Oksit (NO)

Hem iskemi hem de reperfüzyonu takiben zarar gören endoteliumda nitrik oksit (NO) sentezi belirgin derecede azalır. Nitrik oksit gibi inhibitör etkisi çok kuvvetli bir ajanın eksikliği nötrofil aktivasyonunun kolaylaşmasına ve doku hasarının artmasına yol açabilir. Reperfüzyondan önce NO ve NO donörlerinin uygulanması ile infarkt alanı ve endotelial fonksiyon kaybı gibi I/R'un neden olduğu miyokardiyal hasar azaltılabilir (22). Reperfüzyonun geç fazında üretilen NO ve ONOO'in reperfüzyonun erken fazına oranla çok daha fazla olduğu ve bu durumun uyarılabilir NOS (iNOS) "up"-regülasyonu ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (23). Nitrik oksit düzeyindeki bu gecikmiş artış, doku hasarının daha da artmasına neden olur (23). Aynı zamanda iNOS blokörü aminoguanidinin hem kardiyak (24) hem de renal (25) I/R hasarında yararlı etkileri bildirilmiştir. Yüksek konsantrasyondaki NO'in kardiyak miyosit fonksiyonunu deprese etmesi, I/R'u takiben inflamatuvar süreçleri uyarması, mitokondriyal solunumu bozması, nekroza ve apoptozise neden olması gibi birçok zararlı etkisi vardır. Ancak düşük konsantrasyonlardaki NO kardiyak miyositlerin fonksiyonunu artırır, I/R'u takiben platelet agregasyonunu ve nötrofil-endotelium etkileşimlerini azaltabilir. Endotelial nitrik oksit sentez

(eNOS) knock-out (eNOS-KO) farelerle yapılan deneylerde; I/R da ilk olarak eNOS'un aktive olduğu ve I/R süresince kalp için koruyucu rol oynadığı gösterilmiştir (23).

Melatonin

Beyinde bulunan nöroendokrin bir organ olan pineal bez dış çevrenin aydınlık ve karanlık olmasına göre organizmanın başta endokrin sistem olmak üzere bir çok sistemin fonksiyonundaki değişiklikleri düzenler. Pineal bezin suprakiazmatik nükleus (SCN) ile birlikte aktivitelerimizi doğa ile senkronize bir şekilde yapmamızı sağlayan biyolojik saat olduğu düşünülmektedir (26). Üç yüzyıl önce, Fransız filozof Rene Descartes, pineal bezi "ruhun sandalyesi" olarak tanımlamıştır. Buradan salgılanan ana maddenin melatonin olduğu ise, ancak 1950'li yılların sonlarına doğru gösterilmiştir. Melatoninin sirkadiyen ritimler, uyku, ruhsal durum, üreme, tümör gelişimi ve yaşlanma gibi birçok olayın biyolojik regülasyonunda rolü olabileceğine dair kanıtlar bulunmaktadır (27).

Melatonin sentezi, salıverilmesi ve metabolizması

Melatonin salgılanma hızını belirleyen en önemli faktör çevrenin ışık düzeyidir. Genel olarak, ışık melatonin yapımını azaltırken, karanlık artırır. Melatonin sentezinde başlangıç maddesi, plazmadan alınan ve bir indol aminoasit olan "triptofan" dir. Triptofan, esansiyel bir aminoasit olup, besinlerle dışarıdan alınması gerekmektedir. Triptofan, pinealositlerde, triptofan hidroksilaz enzimi ile 5-hidroksitriptofana hidroksillenir, 5-hidroksitriptofan, aromatik-L-aminoasit dekarboksilaz ile 5-hidroksitriptamine (serotonin) dekarboksillenir. Serotonin N-asetil transferaz (NAT) enzimi ile N-asetil serotonin ve bu da, hidroksiindol-o-metil transferaz (HOMT) etkisi ile melatonine (N-asetil-5-metoksitriptamin) dönüşür. Serotoninin melatonin dönüşümünü sağlayan NAT ve HOMT aktivitelerinin geceleri daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Melatonin sentezi için gerekli enzimlerin, pinealositler dışında, SCN, retina ve ince bağırsakta da bulunduğu, immünohistokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir. Dolaşımdaki melatonin konsantrasyonu pineal bezdeki melatonin üretimini yansıtır (27-29).

Melatonin, pineal bezde sentezlenip depolanmadan hızlı bir şekilde komşu kapiller damarlara geçer. Lipofilikliğin çok yüksek olmasından dolayı, tüm biyolojik doku ve sıvılara dağılır. Plazmada yaklaşık %70'i albumine bağlı olarak taşınır. Çoğu karaciğerde olmak üzere, böbrekte de metabolize edilir. Karaciğerde 6-hidroksimelatonine dönüşür; bu da, böbrekte sülfat ve glukuronik aside bağlanarak idrarla atılır. Karanlık başladığında melatonin seviyesi yükselmeye başlar. Gece yarısından sonra (02.00-04.00) pik seviyesine ulaşır ve sonra giderek düşer. Serum melatonin konsantrasyonu, yaşa göre de anlamlı olarak değişir. Yaşlanma ile birlikte melatonin düzeyinin de giderek azaldığı bilinmektedir (9,26,27).

Oksidatif Stres ve Melatonin

Hem in vitro, hem de in vivo çalışmalarda, melatoninin güçlü bir serbest radikal süpürücü ajan olduğu gösterilmiştir (1,7,30). Oldukça toksik olan hidroksil radikalleri başta olmak üzere, diğer serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasardan makromolekülleri özellikle de DNA'yı koruyabilir. DNA hasarı oluşturan radikaller hücrede nükleer bir enzim olan poli ADP-riboz sentazı (PARS) aktive ederler. Bu enzim, DNA tek zincirinin kırılması ile aktive olur ve hücrelerde şiddetli enerji tüketimine yol açarak sonuçta nekrotik tipte hücre ölümüne neden olur.

Melatoninin PARS aktivitesini inhibe ederek; şok, inflamasyon ve İ/R da organ hasarını önleyebileceği bildirilmektedir (31). Serbest radikal yakalayıcı etkisi bakımından, bilinen tüm antioksidanlardan (mannitol, glutatyon ve vitamin E gibi) daha güçlüdür. Dahası; melatonin, antioksidanların büyük çoğunluğunun aksine; hem suda, hem de yağda çözünebildiğinden; hücrenin tüm komponentlerine etki eder. Ayrıca, indirekt olarak, spesifik melatonin reseptörleri aracılığı ile, antioksidan enzim seviyelerini artırarak da doku koruyucu etki gösterir. Oksijen radikallerinin miyokarddaki toksik etkileri direkt ve indirekt yöntemlerle saptanmış ve GPx, SOD, KAT gibi endojen antioksidanların primer savunma mekanizmaları olduğu da gösterilmiştir (1,12).

Melatoninin, birçok biyolojik etkisinin yanı sıra, güçlü bir radikal süpürücü (hidroksil radikali, süperoksit anyon radikali, peroksil radikali, singlet oksijen ve peroksinitrit anyonuna güçlü etkili) ve antioksidan (SOD, GPx, GRd, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz (G-6-PD) stimülasyonu ve NOS inhibisyonu) özelliğinin olması, İ/R hasarında etkili bir koruyucu olabileceğini düşündürmektedir (1,7). Melatonin direkt radikal süpürerek, indirekt spesifik melatonin reseptörleri aracılığı ile antioksidan enzimleri aktive ederek ya da pro-oksidatif enzimleri inhibe ederek doku koruyucu özellik gösterir (1,7). Süperoksit radikale en önemli etkisi süperoksitin dismutasyonunda en büyük rol oynayan SOD'un mRNA'sını artırmasıdır. H₂O₂ hücrelerde KAT ve GPx ile toksik olmayan ürünlere dönüştürülür. GPx ve GRd aktivitesi melatonin ile uyarılmaktadır. Melatonin, H₂O₂'in hücre içi konsantrasyonunu azaltır. GRd aktivitesinde ko-faktör olan NADPH, G-6-PD ile oluşturulur. Melatonin G-6-PD aktivitesini de uyarır. Melatonin, indol nükleusun yan zincirindeki metoksi ve asetil grupları O[•]Ho radikalının giderilmesinde rol oynar. Melatonin bir elektron vererek hidroksili nötralize eder ve toksik olmayan indolil katyon radikale (melatonil) dönüşür. Bu nitrojen merkezli melatonil radikalinin de süperoksit anyon radikali ile etkileşim 5-acetyl-N-formyl-5-methoxykynuramine (5-MAFK) oluştururken bu radikali de süpürdüğü bildirilmektedir (30). Melatonin singlet oksijeni direkt olarak nötralize edebilmektedir (7,30).

Nitrik oksit tek başına değil O₂ varlığında peroksinitrite dönüşerek toksik etkilere aracılık eder. ONOO⁻, peroksinitroz asit ve hidroksil radikale dönüşebilmektedir. NO inhibisyonunun ONOO⁻ oluşumunu engelleyeceği ve kardiyak performansı artırabileceği gösterilmiştir (31,32). Bu nedenle, NO sentezini güçleştiren NOS'un (özellikle iNOS) pro-oksidatif bir enzim olabileceği düşünülmektedir. Melatoninin iNOS aktivitesini inhibe edebileceği bildirilmiştir (1,7).

Serbest radikal süpürücü etkisine ek olarak, melatonin membran Ca²⁺ pompası aktivitesini etkileyip, aşırı Ca²⁺ yüklenmesini önleyerek hücre içi Ca²⁺ düzeyini ayarlayabilir (5, 33). Hücre içi Ca²⁺'un aşırı artması ve diğer iyon dengesizlikleri miyokardiyal elektriksel instabilite, kardiyak aritmiler ve miyokardiyal nekroz gibi hasarlarla sonuçlanabilir. Na⁺/H⁺ değiş-tokuş sistemi de hücrede aşırı Ca²⁺ yükünden sorumlu tutulmaktadır. Müteakibinde hücre şişmesi ve nekroz oluşmaktadır. Bu sistemini bloke edilmesiyle de nekroz oluşumu engellenebilmektedir (5).

İskemi reperfüzyon hasarında melatoninin etkinliği

Melatoninin fizyolojik ve farmakolojik konsantrasyonlarının İ/R'un neden olduğu miyokardiyal hasarı (mortalite, aritmiler, infarkt alanı ve apoptozis) azaltabildiği bildirilmiştir (33-41).

Tan ve ark.ları (34) melatoninin kalpteki etkilerini araştırdıkları

in vitro bir çalışmada; 10 dakikalık miyokardiyal iskemiye takiben 10 dakika reperfüzyon uygulamışlar ve reperfüzyon sırasında kalplerde prematüre ventriküler kontraksiyonlar (PVC) ve ventriküler fibrilasyonlar (VF) gözlemlemişlerdir. İskemi sırasında ve reperfüzyon başlangıcında uyguladıkları melatoninin hem PVC hem de VF'ü önemli derecede azalttığını belirtmişlerdir. Otuz dakika iskemi, 30 dakika reperfüzyon uygulayan Kaneko ve ark.ları (35) yapmış olduğu benzer bir çalışmada; melatoninin hem ventriküler taşikardiyi hem de VF azalttığı ve sol ventrikül fonksiyonunu önemli derecede düzelttiğini saptamışlar ve melatoninin bu koruyucu etkilerinin serbest radikal süpürücü aktivitesi (melatoninin hidroksil radikali süpürür, lipid peroksidasyonunu azaltır) ile ilgili olduğu sonucuna varmışlardır (35).

Melatoninin farmakolojik dozlarının İ/R uygulanan kalplerdeki etkilerinin araştırılmasından sonra Şahna ve ark.ları da (36) ilk defa fizyolojik konsantrasyonlardaki melatoninin etkilerini in vivo olarak araştırmış ve endojen melatonin düzeyinin azalmasını sağlamak amacıyla sıçanlara pinealektomi uygulamışlardır. Pinealektomi sonrası 2 ay beklenen sıçanlarda (pinealektominin hipertansiyona neden olduğu ve 2 ay sonrası kan basıncının normale döndüğü bildirilmektedir) in vivo 7 dakika iskemi, 7 dakika reperfüzyon uygulamışlar ve pinealektomili sıçanlarda kardiyak aritmilerin derecesinin ve mortalitenin kontrol grubuna oranla anlamlı olarak yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Takip eden çalışmalarında (37); in vivo sol ana koronere 30 dakika iskemi, 120 dakika reperfüzyon uygulamış ve pinealektomili rat'ların kalplerinde infarkt alanının anlamlı olarak artmış olduğunu göstermişlerdir. Bütün bu bulgular, endojen melatonin düzeyinin iskemi ve reperfüzyon süresince kalp için koruyucu etkilere sahip olduğunu düşündürmüştür. Bu çalışmalarda rat'lara dışardan verilen melatoninin (4 mg/kg) de pinealektomili rat'larda hasarı anlamlı azaltırken; pinealektomi yapılmamış rat'larda hasarı azaltma eğiliminde olmakla beraber sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Son çalışmalarda daha yüksek doz (10 mg/kg) melatoninin in vivo İ/R da infarkt alanını ve miyokardda oksidatif hasarın göstergesi malondialdehit (MDA) düzeyini anlamlı azalttığını, antioksidan savunma sisteminde önemli rolü olan GSH seviyesini artırdığını belirlemişlerdir (38).

Lee ve ark.ları (39) melatoninin iskemik kalpteki koruyucu etkilerini in vivo olarak araştırmışlar; iskemi öncesinde i.v. bolüs enjeksiyonla uygulanan melatoninin ventriküler taşikardiyi ve fibrilasyonu baskıladığı ve total PVC sayısını düşürdüğünü gözlemlemişlerdir. Melatoninin İ/R sırasında O₂- üretimini ve miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesini önemli düzeyde azalttığını bildirmişler ve melatoninin hem İ/R uygulanan dokularda nötrofil aktivasyonunu azalttığı hem de indol'ün antioksidan özelliklerine bağlı olarak koruyucu etkilerinin ortaya çıktığı sonucuna varmışlardır.

Programlı hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozis oluşumunda da önemli mekanizmalar arasında serbest radikal oluşumu ve aşırı Ca²⁺ birikimi öne çıkmaktadır. Miyokardiyal İ/R neticesinde oluşan serbest radikaller ve artan Ca²⁺ apoptozis kaskadını tetikleyerek hücre sel hasar oluşturabilir. Şahna ve ark.ları (40), melatoninin miyokardiyal İ/R'un tetiklediği apoptotik değişiklikler üzerindeki etkisini araştırmışlar. Bu amaçla sol koroner arterin inen dalına (LAD) 30 dakika iskemiye takiben 2 saat reperfüzyon uygulanmış, apoptotik DNA kırıklarının tayininde sıkça kullanılan bir yöntem olan TdT-mediated X-dUTP nick end labeling (TUNEL) karışımı yapılmıştır. TUNEL boyama sonuçlarına göre; İ/R grubunda özellikle sol ventrikül serbest duvarı ve apekse yakın bölgeler yoğun boyanma alanları gösterirken, melatonin (10 mg/kg) uygulamasının İ/R grubuna göre aynı kesit düzleminde önemli ölçüde TUNEL pozitifliğini azalttığını bildirmişlerdir (40).

Kalpde de melatonin spesifik reseptörlerin varlığı (memelilerde varlığı bilinen M1 ve M2 ye ilave olarak putatif M3) gösterilmiş ve yapılan bir çalışmada spesifik M3 reseptör analogu 5-methoxy-carbonylamino-N-acetyl-tryptamine (5MCA-NAT) melatonine oranla daha fazla koruyucu etki göstermiştir (41).

Melatoninin hipoksik/reoksijenize kardiyak miyositler üzerindeki etkilerinin in vitro araştırmasını Salie ve ark.ları (33) yapmıştır. Oluşturulan kimyasal hipoksi kardiyak miyositlerde ciddi morfolojik değişikliklere neden olurken, H₂O₂, ROS, ve [Ca²⁺] birikiminde önemli artışlara neden olmuştur. Uygulanan melatonin ile bu değişikliklerinin önemli derecede azalması hipoksi/reoksijenasyona karşı melatoninin koruyucu etkilerini ve antioksidan özelliklerini desteklemektedir (33).

Melatoninin, iskemik dokudaki diğer bir koruyucu etkisi de, lökosit adezyonunu azaltmasıdır. Melatonin, adezyon molekülleri P-selektin ve ICAM sentezini azaltarak; nükleustaki NF-KB'ün aktivasyonunu baskılayarak I/R süresince kardiyak hasarın azalmasında yararlı etkiler gösterir (1). Miyokardiyal iskemi nötrofil migrasyonuna neden olur ve yoğun nötrofil infiltrasyonu serbest radikal üretir. Bunlar lipid peroksidasyonu ve beraberinde hücreyi nekroza götüren olaylara yol açarlar. Melatoninin platelet agregasyonunu ve lipid peroksidasyonunu azaltabilir (7).

Melatoninin I/R hasarını önleyici etkisi sadece kalpte değil karaciğer (42), böbrek (43) ve beyin (44) gibi diğer birçok organda da belirlenmiştir. Şahna ve ark.ları sağ nefrektomi yaptıkları sıçanların sol böbreklerine klemp ile 60 dakika iskemi 24 saat reperfüzyon uygulamış ve morfolojik değişiklikleri incelemiştir. Melatonin hem I/R'un indüklediği yapısal değişiklikleri azaltırken, hem de lipid peroksidasyonunun göstergesi MDA düzeyini anlamlı olarak azaltmıştır (43).

Melatonin sadece I/R hasarında değil oksidatif stresin olduğu diğer birçok durumda da O₂ kaynaklı reaktanları zararsız ya da daha az toksik maddelere dönüştürebilir. Toksisitesi yüksek ajanların kullanılmasıyla meydana gelen oksidatif stres, melatonin uygulaması ile azalmıştır (45,46). Oldukça sık kullanılan ve oluşturdukları radikaller aracılığıyla toksik etkilere neden olan kemoterapötiklerin yan etkilerinin önlenmesinde de melatoninin oldukça yararlı etkileri bildirilmiştir (45,46). Doksorubisinin radikaller aracılığıyla miyokarda oluşturduğu lipid peroksidasyonunun melatonin ile önlenebildiği ve yapısal değişikliklerin de azaldığı gösterilmiştir (46). Ayrıca bu çalışmalarda pinealektomi sonrası doksorubisinin ile indüklenen hasarın pinealektomi yapılmamış rat'lara oranla daha fazla olduğu görülmüştür. Pinealektomi sonrası hasarın artması endojen melatoninin önemini vurgulamaktadır.

Melatonin hem yağda, hem de suda çözünebildiğinden vücudun her hücresine ve hücre içindeki diğer yapılara kolaylıkla girebilir (47). Bu nedenle de vitamin ve mineral antioksidanlara göre çok daha fazla etkilidir. Sahip olduğu bu özelliklere bağlı olarak dejeneratif ve proliferatif değişikliklere neden olan hastalıklara karşı nükleer DNA, membran lipidleri ve sitozolik proteinleri koruyabilir (1,7,30). Melatoninin hücre içine hızlıca girebilme özelliği VF gibi klinik acillerde oldukça önemli olabilir. Yapılan çalışmalarda; reperfüzyonun hemen başında melatonin uygulamasının reperfüzyonun indüklediği VF, mortalite ve infarkt alanı üzerine koruyuculuğu rapor etmişlerdir (34,36,37).

Melatoninin kan basıncı düşürücü etkisi de I/R hasarına karşı koruyuculuğunda etkili olabilir. Ancak yapılan çalışmalarda melatonin, hemodinamik parametreleri değiştirmeden kalpte koruyucu olmuştur (36-38). Melatoninin antihipertansif etkisi; hipotalamus üzerindeki direkt etkisine, antioksidan olarak kan basıncını düşür-

rücü etkisine, katekolamin düzeyini düşürmesine, aorta duvarındaki düz kasları gevşetmesine bağlı olarak ortaya çıkabilir (48,8). Bu faktörler I/R hasarında melatoninin koruyuculuğunu açıklamaya katkıda bulunabilir. Kardiyak aritmiler ve reperfüzyon hasarının katekolaminler ve adrenerjik reseptörler tarafından etkilendiği bilinmektedir. Bütün bu çalışmalarda melatoninin antihipertansif etkisi gösterilmiş olmasına rağmen nifedipinle birlikte kullanıldığı bir çalışmada melatoninin ters etki ederek kan basıncını artırabileceği bildirilmektedir (49).

Sabah saatlerinde kan basıncı, kalp hızı, kan viskozitesi, trombosit kümeleşmesi, plazma kortizolü, sempatik aktivitede artış söz konusu olduğu için ani kardiyak ölüm, geçici miyokard iskemisi gibi olaylar bu saatlerde daha fazla olmaktadır (10). Koroner kalp hastalığı olan bireylerde melatonin düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu bildirilmiştir (11). Bu çalışmaların sonuçları değerlendirildiğinde; fizyolojik düzeylerdeki melatoninin I/R'a bağlı olarak meydana gelen kardiyak hasarın azalmasında önemli rolünün olabileceği düşünülebilir. İnsanda serum antioksidan kapasitesinin melatonin düzeyi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (7). Pinealektomi sonrası miyokard, ve böbrekte yapısal değişikliklere ek olarak artmış MDA düzeyi, azalmış glutatyon düzeyi gözlemlenmiştir. Melatonin ilavesi bu değişiklikleri engellemiştir (38,45,46). Pinealektominin düşük melatonin kan seviyesine paralel olarak radikaller ve oksidatif değişikliklerden dolayı I/R gibi patolojilerde doku hasarını artırabileceği, düşük toksisiteli melatonin uygulamasının oksidatif hasarı engelleyerek miyokardiyal fonksiyonu koruyabileceği düşünülmektedir.

Melatonin kardiyovasküler sistemde hiçbir yan etkisi olmayan, son derece güvenli, koruyucu bir hormondur (1,50). Melatoninin insandaki rolü, son dönemlerde giderek daha iyi belirlenmeye başlamıştır. Vücut ısısı ve uyku regülasyonundaki açık etkileriyle birlikte, puberte ve üreme sistemi üzerinde de etkinliği muhtemel olan melatoninin, insan sirkadiyan ritmi için de önemli olduğu ortaya konulmaktadır. Jet lag'de normal fizyolojik ritim için olumlu etkilerinin olduğu; klinik çalışmalarda, uyku problemi olan şahıslarda, uyku süresi ve kalitesinde başarı ile kullanıldığı bildirilmiştir (26,27). Bunun yanında, diğer önemli etkilerini gösteren bulgular da artmaktadır.

Bu derlemede melatoninin miyokardiyal I/R ile ilişkili hasar üzerindeki etkilerini belirten verileri özetledik. İskemi ve reperfüzyon hasarında önemli bir kardiyoprotektif ajan olabileceği rapor edilen melatoninle ilgili yapılan deneysel çalışmalar; farmakolojik dozlarda hem akut hem de kronik olarak verilen melatoninin toksisite oluşturmadığını, oral verildiğinde çok hızlı absorbe edildiğini, i.v. uygulamasının çok kolay ve güvenli olduğunu belirtmektedir. Ayrıca ekzojen verilen melatoninin endojen salgılanmaya engel olmadığı da bildirilmiştir (1).

Ani kardiyak ölüm insidansının sabah saatlerinde yükselmesi ve bu saatlerde melatonin seviyesinin anlamlı bir şekilde düşük olması (10), koroner kalp hastalığı olanlarda normal bireylere göre melatonin seviyesinin düşük bulunması (12), melatoninin arteryel tonusu regüle edebilmesi, kan basıncını düşürebilmesi (8,48) gibi bulgular ve daha ileri çalışmalara gereksinim olmakla beraber, yapılan deneysel çalışmalarda miyokardiyal iskemi ve reperfüzyon hasarında önemli koruyucu etkileri olduğu rapor edilen melatoninin, iskemik kalp hastalıklarının önlenmesi ve tedavisinde, baypas, koroner arter spazmı, anjiyoplasti ve trombolitik süreçler sonrası gelişen reperfüzyon hasarının ve özellikle de hayatı tehdit eder nitelikteki aritmilerin ve ileriki yaşam kalitesini etkileyebilen infarkt alanının önlenmesi gibi durumlar için klinik olarak test edilebileceğini düşündürmektedir.

Kaynaklar

- Reiter RJ, Tan DX. Melatonin: A novel protective agent against oxidative injury of the ischemic-reperfused heart. *Cardiovascular Research* 2003; 58: 10-9.
- Lefer DJ, Granger DN. Oxidative stress and cardiac disease. *Am J Med* 2000; 109: 315-23.
- Aksulu HE, Ercan ZS, Türker RK. Further studies on the antiarrhythmic effects of iloprost. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1985; 277: 223-34.
- Verma S, Fedak PW, Weisel RD, Butany J, Rao V, Maitland A, et al. Fundamentals of reperfusion injury for the clinical cardiologist. *Circulation* 2002; 105: 1332-6.
- Theroux P. Protection of the myocardial cell during ischemia. *Am J Cardiol* 1999; 83:3-9.
- Vanecek J. Melatonin inhibits increase of intracellular calcium and cyclic AMP in neonatal rat pituitary via independent pathways. *Mol Cell Endocrinol*. 1995; 107: 149-53.
- 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.
- Nishiyama K, Yasue H, Moriyama Y, Tsunoda R, Ogawa H, Yoshimura M, et al. Acute effects of melatonin administration on cardiovascular autonomic regulation in healthy men. *Am Heart J* 2001; 141: 9.
- Reiter RJ. The aging pineal and its physiological consequences. *BioEssays* 1992; 14: 169-75.
- Muller JE, Ludmer PL, Willich SN, Tofler GH, Aylmer G, Klangos I, et al. Circadian variation in the frequency of sudden cardiac death. *Circulation* 1987; 75: 131-8.
- Brugger P, Markt W, Herold M. Impaired nocturnal secretion of melatonin in coronary heart disease. *Lancet* 1995; 345: 1408.
- Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 446-56.
- Gross GJ, Kersten JR, Warltier DC. Mechanisms of postischemic contractile dysfunction. *Ann Thorac Surg* 1999; 68: 1898-904.
- Jordan JE, Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 1999; 43: 860-78.
- Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol*. 2000; 190: 255-66.
- Xu KY, Zweier JL, Becker LC. Hydroxyl radical inhibits sarcoplasmic reticulum Ca21-ATPase function by direct attack on the ATP binding site. *Circ Res* 1997; 80: 76-81.
- Harman AW, Maxwell MJ. An evaluation of the role of calcium in cell injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1995; 35: 129-44.
- Lucchesi BR. Reperfusion injuries and clinical capillary leak syndrome. Armonk, NY: Futura Publishing Company; 1994.
- Fontana L, Giagulli C, Minuz P, Lechi A, Laudanna C. 8-iso-PGF (2 α -ha)-induces beta (2)-integrin-mediated rapid adhesion of human polymorphonuclear neutrophils: a link between oxidative stress and ischemia/reperfusion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:55-60.
- Frangogiannis NG, Lindsey ML, Michael LH, Youker KA, Bressler RB, Mendoza LH, et al. Resident cardiac mast cells degranulate and release preformed TNF-alpha, initiating the cytokine cascade in experimental canine myocardial ischemia/reperfusion. *Circulation* 1998; 98: 699-710.
- Zhao ZQ, Nakamura M, Wang NP, Wilcox JN, Shearer S, Ronson RS, et al. Reperfusion induces myocardial apoptotic cell death. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 651-60.
- Johnson GI, Tsao PC, Lefer AM. Cardioprotective effects of authentic nitric oxide in myocardial ischemia with reperfusion. *Crit Care Med* 1991; 19: 244-52.
- Sumeray MS, Rees DD, Yellon DM. Infarct size and nitric oxide synthase in murine myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32: 35-42.
- Parlakpınar H, Ozer MK, Sahna E, Acet A. Attenuation of ischemia-reperfusion-induced myocardial infarct size in rats by aminoguanidine. 6th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics, June, 24-28, 2003, Istanbul/TURKEY.
- Sahna E, Parlakpınar H, Cihan O.F, Türköz Y, Acet A. Effects of aminoguanidine against renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Cell Biochem Funct* 2006; 24: 137-41.
- Ölmez E, Sahna E, Ağkadir M, Acet A. Melatonin: Emeklilik Yaşı 80 olur mu? *Turgut Özal Tıp M Derg* 2000; 7: 177-87.
- Brezinski A. Mechanisms of disease: Melatonin in humans. *N England J Med* 1997; 336: 186-95.
- Vanecek J. Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiol Rev*. 1998; 78: 687-721.
- Manev HT, Kharlamov A, Joo JY. Increased brain damage after stroke or excitotoxic seizures in melatonin deficient rats. *FASEB* 1996; 10: 1546-51.
- Reiter RJ. Cytoprotective properties of melatonin: Presumed association with oxidative damage and aging. *Nutrition* 1998; 14: 691-6.
- Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol* 2001; 426: 1-10.
- Schulz R, Wambolt R. Inhibition of nitric oxide synthesis protects the isolated working rabbit heart from ischaemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 1995; 30: 432-9.
- Salie R, Harper I, Cillie C, Genade S, Huisamen B, Moolman J, et al. Melatonin protects against ischemic-reperfusion myocardial damage. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 343-57.
- Tan DX, Manchester LC, Reiter RJ, Qi W, Kim SJ, El-Sokkary GH. Ischemia/reperfusion-induced arrhythmias in the isolated rat heart: Prevention by melatonin. *J Pineal Res* 1998; 25: 184-91.
- Kaneko S, Okumura K, Numaguchi Y, Matsui H, Murase K, Mokuno S, et al. Melatonin scavenges hydroxyl radical and protects isolated rat hearts from ischemic reperfusion injury. *Life Sci* 2000; 67: 101-12.
- Sahna E, Ölmez E, Acet A. Effects of physiological and pharmacological concentrations of melatonin on ischemia-reperfusion arrhythmias in rats: Can the incidence of sudden cardiac death be reduced? *J Pineal Res* 2002; 32: 194-8.
- Sahna E, Acet A, Ozer MK, Ölmez E. Myocardial ischemia-reperfusion in rats: Reduction of infarct size by either supplemental physiological or pharmacological doses of melatonin. *J Pineal Res* 2002; 33: 234-8.
- Sahna E, Parlakpınar H, Türköz Y, Acet A. Effects of melatonin on myocardial ischemia-reperfusion-induced infarct size and oxidative stress. *Physiol Res* 2005; 54: 491-5.
- Lee YM, Chen HR, Hsiao G, Sheu JR, Wang JJ, Yen MH. Protective effects of melatonin on myocardial ischemia / reperfusion injury in vivo. *J Pineal Res* 2002; 33: 72-80.
- Parlakpınar H, Sahna E, Özgen U, Mızrak B, Acet A. Protective role of melatonin on myocardial ischemia-reperfusion-triggered apoptosis. Proceedings of the Turkish Pharmacological Society, 17th National Congress of Pharmacology, 1st Clinical Pharmacology Symposium, Joint Meeting of the Turkish & Dutch. Pharmacological Societies; Oct 17-21, 2003, Antalya, Turkey.
- Lagneux C, Joyeux M, Demende P, Ribant C, Godin-Ribuot D. Protective effect of melatonin against ischemia-reperfusion injury in the isolated rat heart. *Life Sci* 2000; 66: 503-9.
- Sewerynek E, Reiter RJ, Melchiorri D, Ortiz GG, Lewinski A. Oxidative damage in the liver induced by ischemia-reperfusion: protection by melatonin. *Hepatogastroenterology* 1996; 43: 898-905.
- Sahna E, Parlakpınar H, Öztürk F, Cigremis Y, Acet A. The protective effects of physiological and pharmacological concentrations of melatonin on renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Urol Res* 2003; 31: 188-93.
- Kilic E, Ozdemir YG, Bolay H, Kelestimur H, Dalkara T. Pinealectomy aggravates and melatonin administration attenuates brain damage in focal ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999; 19: 511-6.
- Parlakpınar H, Sahna E, Ozer MK, Ozugurlu F, Vardi N, Acet A. Physiological and pharmacological concentrations of melatonin protect against cisplatin-induced acute renal injury. *J Pineal Res* 2002; 33: 161-6.
- Sahna E, Parlakpınar H, Öztürk F, Ozer M.K., Ozugurlu F, Acet A. Melatonin protects against myocardial doxorubicin toxicity in rats: Role of physiological concentrations. *J Pineal Res* 2003; 35: 257-61.
- Costa EJ, Shida CS, Biaggi MH, Ito AS, Lamy-Freund MT. How melatonin interacts with lipid bilayers: A study by fluorescence and ESR spectroscopies. *F.E.B.S. Lett* 1997; 416: 103-6.
- Sewerynek E. Melatonin and the cardiovascular system. *Neuroendocrinol Lett* 2002; 23: 79-83.
- Lusardi P, Piazza E, Fogari R. Cardiovascular effects of melatonin in hypertensive patients well controlled by nifedipine: A 24-hour. *Br J Clin Pharmacol* 2000; 49: 423-7.
- Jan JE, Hamilton D, Seward N, Fast DK, Freeman RD, Laudon M. Clinical trials of control released melatonin in children with sleep-wake cycle disorders. *J Pineal Res* 2000; 29: 34-9.