

**T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TENOKSİKAMIN SEBEP OLDUĞU KARACİĞER  
HASARLANMASININ İMMUNOHİSTOKİMYASAL  
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dilek ULUSOY KARATOPUK**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN**

**Tez. No: 39  
2007-İSPARTA**

**T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TENOKSİKAMIN SEBEP OLDUĞU KARACİĞER  
HASARLANMASININ İMMUNOHİSTOKİMYASAL  
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Dilek ULUSOY KARATOPUK**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından  
1494-YL-07 Proje numarası ile desteklenmiştir.**

**Tez. No: 39  
2007-İSPARTA**

**KABUL VE ONAY SAYFASI**

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı**  
Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve  
Embriyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Meral ÖNCÜ  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve  
Embriyoloji Anabilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mehmet Kaya ÖZER  
Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji  
Anabilim Dalı

ONAY : Bu yüksek lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen  
yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Halis KÖYLÜ  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Tez konumun belirlenmesinden basılmasına kadar geçen sürede yardımlarını esirgemeyen Danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Doç. Dr. Alpaslan GÖKÇİMEN ve Sayın Doç Dr. Meral ÖNCÜ' ye,

Gerek deneylerin yapılması sırasında gerekse çalışmalarım da beni destekleyen anabilim dalımız araştırma görevlileri; Hakan DARICI, Dilek BAYRAM, İ. Aydın CANDAN, Gülsüm KAHVECİ, Ahmet KOÇAK, Kanat GÜLLE ve Özgür FEDAKÂR' a içtenlikle teşekkür ederim.

Tezimin biyokimyasal parametrelerin çalışılması için Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı olanaklarından faydalanmamızı sağlayan Sayın Prof. Dr. Hüseyin VURAL' a ve Arş. Gör. Dr. Hicran HİÇYILMAZ' a teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren ve eğitim hayatım boyunca her koşulda yanımda ve olan anneme, babama ve ablama,

Çalışmamın ilk aşamasından itibaren sabrını, desteğini ve özverilerini hep hissettiğim değerli eşim Ali KARATOPUK' a teşekkürü bir borç bilirim.



## İÇİNDEKİLER

<b>KABUL VE ONAY</b> .....	<b>ii</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER, TABLOLAR DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. NSAİ İlaçların Tarihçesi</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2. NSAİ İlaçların Etki mekanizmaları</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2.1. Lipoksijenaz Yolu</b> .....	<b>4</b>
<b>2.2.2. Siklooksijenaz Yolu</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2.2.1. Siklooksijenaz-1</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2.2.2. Siklooksijenaz-2</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3. NSAİ' lerin Genel Özellikleri</b> .....	<b>6</b>
<b>2.4. NSAİ' lerin Sınıflandırılması</b> .....	<b>7</b>
<b>2.4.1. Kimyasal Yapılarına Göre</b> .....	<b>7</b>
<b>2.4.2. Yarı Ömürlerine Göre</b> .....	<b>8</b>
<b>2.5. NSAİ' lerin Etkileri</b> .....	<b>8</b>
<b>2.5.1. Antiinflamatuvar Etkileri</b> .....	<b>8</b>
<b>2.5.2. Analjezik Etkileri</b> .....	<b>9</b>
<b>2.5.3. Antipiretik etkileri</b> .....	<b>9</b>
<b>2.5.4. Diğer etkileri</b> .....	<b>9</b>
<b>2.6. NSAİ' lerin Yan Etkileri</b> .....	<b>10</b>
<b>2.6.1. Hastalığa Özgü Yan Etkiler</b> .....	<b>11</b>
<b>2.6.2. Gastrointestinal Yan Etkiler</b> .....	<b>11</b>
<b>2.6.3. Böbreğe Ait Yan Etkiler</b> .....	<b>12</b>
<b>2.6.4. Karaciğere Ait Yan Etkiler</b> .....	<b>12</b>
<b>2.6.5. Hematolojik Yan Etkiler</b> .....	<b>14</b>

2.6.6. Gebelik İle İlgili Yan Etkiler .....	14
2.6.7. Fetüs ve Yeni Doğan ile İlgili Yan Etkiler.....	15
<b>2.7. Yaygın Kullanılan NSAİİ' ler .....</b>	<b>16</b>
2.7.1. Aspirin ve Diğer Salisilatlar .....	16
2.7.2. Fenilbütazon .....	16
2.7.3. İndometazin .....	16
2.7.4. İbuprofen.....	17
2.7.5. Naproksen.....	17
2.7.6. Ketoprofen .....	17
2.7.7. Nabumeton .....	17
2.7.8. Tioprofenik Asit.....	18
2.7.9. Diklofenak .....	18
2.7.10. Piroksikam .....	18
<b>2.8. Tenoksikam .....</b>	<b>21</b>
2.8.1. Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri.....	21
2.8.2. Farmakolojisi .....	22
2.8.2.1. Tedavi Etkinliği .....	22
2.8.2.2. Farmakodinamik Özellikleri .....	23
2.8.2.3. Farmakokinetik Özellikleri .....	24
2.8.2.4. Kontrendikasyonları.....	25
2.8.2.5. Yan Etkileri.....	25
2.8.3. Metabolizması.....	26
2.8.4. Tedavi Dozu .....	27
2.8.5. Preparatları .....	27
<b>2.9. Serbest Radikaller .....</b>	<b>27</b>
<b>2.10. Nitrik Oksit.....</b>	<b>29</b>
2.10.1. Nitrik Oksit Sentaz.....	30
2.10.1.1. İndüklenebilir NOS (iNOS) .....	31
2.10.1.2. Yapısal NOS (cNOS) .....	31
2.10.1.3. Etki Mekanizması .....	33
<b>2.11. Kupffer Hücreleri ve Hepatositler.....</b>	<b>35</b>

2.12. Nitrik Oksit ve Lipid Peroksidasyonu .....	37
<b>3. MATERYAL VE METOD .....</b>	<b>39</b>
<b>3.1. Materyal.....</b>	<b>39</b>
3.1.1. Deney Hayvanları .....	39
3.1.2. Kullanılan İlaç .....	39
3.1.3. Biyokimyasal Çalışma İçin Kullanılan Malzemeler .....	39
3.1.4. Kullanılan Çözeltiler .....	40
<b>3.2. Metod.....</b>	<b>41</b>
3.2.1. Deney Planı .....	41
3.2.2. Doku Takip Çalışmaları .....	44
3.2.3. İmmunohistokimyasal Çalışmalar .....	45
3.2.3.1 Değerlendirme .....	48
3.2.4. Biyokimyasal Çalışmalar .....	48
3.2.4.1. Dokuların Biyokimyasal Ölçümlere Hazırlanması .....	48
3.2.4.2. SOD (Total Süperoksit Dismutaz) Aktivitesinin Ölçümü .....	49
3.2.4.3. Lipit Peroksidasyon (TBARS=Tiyobarbitürik Asit Reaktif Substans) Ölçümü .....	50
3.2.5. İstatistiksel Çalışmalar .....	51
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>52</b>
4.1. Histolojik Bulgular.....	52
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular .....	58
4.3. Biyokimyasal Bulgular.....	63
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>66</b>
<b>ÖZET .....</b>	<b>70</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>71</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>72</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Kısaltma</b>	<b>Açılımı</b>
ACE	Anjiyotensin konvertirgen enzim
ADMA	Asimetrik dimetil arginin
AST	Aspartataminotransferaz
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
cNOS	Yapısal NOS
COX	Siklooksijenaz
EDHF	Endothelium derived hyperpolarising factor
EDRF	Endotel kaynaklı gevşeme faktörü
eNOS	Endoyelyal NOS
GFR	Glomerüler filtrasyon
GIS	Gastrointestinal sistem
GMP	Guanozin monofosfat
HETE	Hidroksieikozatetraenoik asit
HPETE	Hidroperoksieikozatetraenoik asit
iNOS	Uyarılabilir nitrik oksit
KC	Karaciğer
LPS	Lipopolisakkarit
MDA	Malondialdehit
NADPH	Nikotinamin adenin dinükleotid fosfat
NANC	Nonkolinerjik
nNOS	Nöronal NOS
NO	Nitrik oksit
NSAİİ	Non steroidal antiinflamatuvar ilaçlar
ONOO <sup>-</sup>	Peroksinitrit
PBS	Fosfat tampon solüsyonu
PDE-5	Fosfodiesteraz
PG	Prostaglandin
PGHS	Prostoglanin endoperoksit sentetaz
PGI <sub>2</sub>	Prostasiklin
sGC	Siklik guanilat siklaz
SLE	Sistemik lupus eritromosus
SOD	Süper oksit dismutaz
SSS	Santral sinir sistemi
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiobarbitürik asit reaktif substans
TCA	Trikloroasetik asit
TCA	Trikarboksilik asit
TXA <sub>2</sub>	Tromboksan A <sub>2</sub>

## TABLOLAR, ŞEKİLLER, GRAFİKLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
<b>TABLolar</b>	
<b>Tablo 1:</b> NSAİİ'lerin yarı ömürlerine göre sınıflandırılması.....	8
<b>Tablo 2:</b> NSAİİ'lerin yan etkileri.....	15
<b>Tablo 3:</b> Nitrik oksit sentaz enzimleri.....	32
<b>Tablo 4:</b> Sıçanların deney süresince ağırlık değişimleri.....	42
<b>Tablo 5:</b> Hayvanlara ait ağırlık ortalama değerleri.....	43
<b>Tablo 6:</b> Hayvan ağırlıklarının istatistiksel karşılaştırması.....	43
<b>Tablo 7:</b> Deney planı.....	43
<b>Tablo 8:</b> Gruplar arasında gözlenen yapısal değişikliklerin Ki – kare testine göre “p” değerleri.....	53
<b>Tablo 9:</b> iNOS boyanma düzeyleri.....	58
<b>Tablo 10:</b> Karaciğer dokusunda SOD ve MDA düzeyleri ile gruplar arası “p” değerleri.....	63
<b>ŞEKİLLER</b>	
<b>Şekil 1:</b> NSAİİ'lerin etkileri ve yan etkileri.....	10
<b>Şekil 2:</b> Tenoksikamın kimyasal yapısı.....	22
<b>Şekil 3:</b> Nitrik oksit sentaz enzimleri ve fonksiyonları.....	33
<b>GRAFİKLER</b>	
<b>Grafik 1:</b> Grupların karaciğer dokusunda SOD aktivite değerleri.....	64
<b>Grafik 2:</b> Grupların karaciğer dokusunda lipit peroksidasyon (TBARS = MDA) düzeyleri.....	64

**RESİMLER DİZİNİ**

<b>Resim 1:</b> Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu (Hematoksilen-eozin) .....	54
<b>Resim 2:</b> 10 mg/kg grubuna ait karaciğer dokusu (Hematoksilen-eozin) .....	55
<b>Resim 3:</b> 20 mg/kg grubuna ait karaciğer dokusu (Hematoksilen-eozin) .....	56
<b>Resim 4:</b> 40 mg/kg grubuna ait karaciğer dokusu (Hematoksilen-eozin) .....	57
<b>Resim 5:</b> Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu (iNOS immun boyama) .....	59
<b>Resim 6:</b> 10 mg/kg grubuna ait karaciğer dokusu (iNOS immun boyama) ...	60
<b>Resim 7:</b> 20 mg/kg grubuna ait karaciğer dokusu (iNOS immun boyama) ...	61
<b>Resim 8:</b> 40 mg/kg grubuna ait karaciğer dokusu (iNOS immun boyama) ...	62

## 1. GİRİŞ

Bazı hastalıkların tedavisinde ilaç kullanımı vazgeçilmez bir yöntemdir. Burada önemli olan nokta ilaç seçimi konusudur. Bunlardan non-steroid antiinflamatuar ilaçlar (NSAİİ), dünyada en çok kullanılan ilaçlardandır (1-3). ABD'de yapılan bir araştırmada, NSAİİ kullanımına bağlı gastrointestinal sistem (GİS) komplikasyonları nedeniyle her yıl 200.000–400.000 hastaneye yatış olduğunu ve bunun için 0,8–1,6 milyar dolar harcandığı belirtilmiştir. Ülkemizde ise bu grup ilaçların toplam ilaç tüketimindeki yeri %25'dir (4).

Karaciğer vücudun en büyük organlarından birisidir. Metabolitlerin bir araya getirilmesi, dönüştürülmesi, biriktirilmesi ve toksik maddelerin zararsızlaştırılması ve atılımı gibi pek çok işlevlere sahiptir. Çeşitli ilaçlar ve maddeler karaciğer tarafından etkisiz hale getirilir. Bu nedenle de karaciğer ilaç kaynaklı toksisite de hedef organ haline gelmektedir (5). İlaçlar akut şekilde gelişen karaciğer yetmezliği vakalarının yüzde ellisinden fazlasından sorumludur. Duyarlılığa bağlı olarak görülen ilaç reaksiyonlarının yaklaşık %75'inde karaciğer nakli gerektiği bildirilmiştir (6).

NSAİİ'lerin hemen hemen hepsi karaciğer üzerinde etkiye sahiptir. Bu etki de, ileri yaş, yüksek doz NSAİİ kullanımı, tedavi süresinin uzaması, alkolizm, siroz, geçirilmiş hepatit öyküsü, kronik aktif hepatit, konjestif kalp yetmezliği, renal fonksiyonların bozulmuş olması, NSAİİ'lerin hepatotoksisiteyi açısından risk grubunu oluşturur (7).

Tenoksikam oksikam türevi bir NSAİİ'dir. Aynı zamanda atılımı çok geç ve uzun süre etkili analjeziklerden birisidir. Ortalama eliminasyon yarı ömrü 70–72 (49–81) saattir (7,8). Etkisini siklooksijenaz enzimini baskılayarak gösterir. Tenoksikam analjezik ve antiinflamatuar etkilidir. Yarılanma esas olarak karaciğerde olur (9–11).

Nitrik oksit (NO), karaciğerdeki parankim ve destek hücrelerinde L- arjinin amino asiti üzerinden uyarılabilir nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimi aracılığıyla üretilen ve yüksek oksitleme kapasitesine sahip bir bileşendir (12–19). iNOS reseptör artışı ve paralelinde NO sentezinin artması karaciğer hasarıyla pozitif ilişki içindedir. Karaciğer hasarının tespitinde iNOS ekspresyonu ve lipit peroksidasyonu belirteç olarak kabul edilebilir. Endotoksik şokta, karaciğerin iltihabi reaksiyonunda ve hasarlanmaya ilişkin modellerde NO' in karaciğerde fazla miktarda üretilmesinin rol oynadığı düşünülmektedir (20–24).

Bu çalışmanın amacı tenoksikamın karaciğerde bir hasarlanmaya yol açıp açmadığını belirlemek için rutin boyama olan hematoksilen-eozin, hasarlanma belirteci olan NO' la ilgili iNOS reseptörlerini ve lipit peroksidasyonu ile olan bağlantısını tespit etmektir.



## **2. Genel Bilgiler**

### **2.1. NSAİ İlaçların Tarihçesi**

NSAİ' lerin keşfedilmesi M.Ö. 3500'e kadar uzanır. Mısır papirüslerinde, karın ve eklem ağrıları için mersin ağacı kabuklarının kullanıldığı görülmektedir (25). M.S.30'larda ise inflamasyonun ölçütleri tanımlanmış ve söğüt ağacı yaprakları bunları yok etmede kullanılmıştır (26). NSAİ terimi ise ilk defa 1949'da fenilbutazon için kullanılmıştır (25). NSAİ' lerin çeşitli hastalıklarda kullanılması çalışmaları hızlandırmış ancak 1971'e kadar bu ilaçların etki mekanizması ile ilgili kesin bir açıklama yapılamamıştır. 1971'de Sir John Vane araziidonik asit mekanizmasını ve bu mekanizmada antiinflamatuvarların yerini göstermiştir (27). 1976 yılında ise prostaglandin endoperoksit sentetaz (PGHS) veya siklooksijenaz (COX) adı ile adlandırılan enzim bulunmuştur (3, 27). Antiinflamatuvarların tümü aynı etkiye sahip değildir. 1990'da Needleman siklooksijenaz enzimlerinin birden fazla olduğunu bildirerek COX' un izoenzimlerinden bahsedilmiştir, 1991'de ise Xie ve arkadaşları tarafından COX-2 tanımlanıp klonlandı (3, 26, 28, 29). Son yıllarda ise COX-3 izoenziminden bahsedilmektedir. COX enziminin birden fazla izoenziminin olması etki farklılığı ve yan etki sıklığının değişikliğini açıklamaya yardımcı olmaktadır (30).

### **2.2. NSAİ İlaçların Etki Mekanizmaları**

NSAİ ilaçların çoğu etkilerini prostaglandin sentezini azaltarak gösterirler (3, 28, 31, 32). Prostaglandinler, yapılarında bir halka taşıyan 20 karbonlu doymamış yağ asiti türevleridir. Bu bileşikler bazen eikozanoitler olarak da adlandırılırlar; "eikoza" 20 karbon atomlu anlamına gelmektedir (33). Prostaglandinler ve ilgili bileşikler hemen hemen her doku tarafından az miktarlarda sentezlenir. Genellikle sentezlendikleri dokuda lokal olarak

etkilidirler ve etki bölgelerinde hızla etkin olmayan metabolitlere çevrilirler. Bu nedenle kan dolaşımında yüksek konsantrasyonlarda bulunmazlar. TXA<sub>2</sub> (tromboksan A<sub>2</sub>), lökotrienler ve hidroperoksiieikozatetraenoik asit ve hidroksiieikozatetraenoik asit (HPETE-HETE) prostaglandinlere benzeyen lipitlerdir ve benzer öncü maddelerden, ortak yollardan geçerek sentezlenirler (33).

Prostaglandinler çoğu etkilerini hücre yüzeyindeki reseptörlerine bağlanarak sağlarlar. Endojen olarak dokuda üretilen prostaglandinler ve metabolitleri belirli bir hücre tipinin verdiği yanıtların ince ayarını yapan lokal sinyaller olarak davranırlar. Fonksiyonları dokudan dokuya çok büyük farklılıklar gösterebilir. Örneğin; TXA<sub>2</sub>'nin trombositlerden salgılanması yeni trombositlerin toplanmasını sağlamaktadır. Ancak diğer dokularda TXA<sub>2</sub>'nin yüksek konsantrasyonları daha farklı bir sinyal taşır; örneğin belirli bazı düz kas hücrelerinde TXA<sub>2</sub> kasılmaya neden olur. Prostaglandinler allerjik ve inflamatuvar reaksiyonlarda salgılanan kimyasal mediyatörlerin bir grubunu oluşturmaktadır (33, 34). Prostaglandinler 20 karbonlu bir yağ asiti olan araşidonik asitten sentezlenirler (33). Araşidonik asit hücre zarlarında fosfolipitlerin yapısında bulunmaktadır (30, 35, 36). Serbest araşidonik asit doku fosfolipitlerinden fosfolipaz A<sub>2</sub> ve diğer açil hidrolazların etkisiyle açığa çıkar. Bu olay hormonların ve diğer uyarıların kontrolü altındadır (33). Eikozanoitlerin araşidonik asitten sentezlenmesinde rol oynayan iki önemli yol vardır (3, 33).

### **2.2.1. Lipoksijenaz yolu**

Çeşitli lipoksijenazlar araşidonik asitten 5-HPETE, 12-HPETE ve 15-HPETE sentezlenmesini sağlarlar. Bunlar araşidonik asitin dayanıklı bir yapıya sahip olmayan peroksitlenmiş türevleridirler ve sentezlendikleri dokuya bağlı olarak hidroksillenmiş türevleri olan HETE'lere, lökotrienlere veya lipoksinlere dönüştürülürler (31, 33).

## 2.2.2. Siklooksijenaz yolu

Prostaglandinler, tromboksanlar ve prostasiklinler gibi halka yapısı taşıyan tüm eikozanoitler siklooksijenaz yoluyla sentezlenirler. Siklooksijenaz enziminin iki farklı gen tarafından ve farklı fizyopatolojik olaylarca uyarılan iki alt grubu bulunmaktadır (28, 31, 33, 37).

### 2.2.2.1. Siklooksijenaz-1

COX-1 enzimi genelde homeostazisi düzenleyici özelliktedir (37, 38) ve aktivitesi genelde sabittir (29). COX-1 70 kd ağırlığındadır (30) ve dokuzuncu kromozomda bulunan bir gen tarafından kodlanmaktadır (29).

Enzim etkinliği genel olarak dört farklı bölgede bulunmaktadır (31).

—*Trombositlerde:* Araşidonik asitin TXA<sub>2</sub>'ye dönüşmesini sağlar. Trombositlerdeki TXA<sub>2</sub> yapımındaki azalma sonucu trombosit toplanması ve vazokonstriktif etki, dolayısı ile tromboza olan eğilim azalır (2, 28, 31, 39).

—*Mide mukozasında:* Yaygın olarak bulunur (37). Hücre koruyucu prostaglandinlerin oluşumundan sorumludur. Baskılanması sonucu mide mukozasında koruyucu etki sağlayan prostaglandinlerin sentezi azalır ve ülser oluşumu kolaylaşır (2, 28, 31, 39, 40).

—*Vasküler entotelde:* Özellikle aterosklerotik bölgelerdeki prostasiklin (PGI<sub>2</sub>) üretiminde rol oynadığı deneysel çalışmalarda gösterilmiştir (2, 28, 30, 31).

—*Böbrek ve vasküler yapıda:* Toplayıcı kanallarda ve Henle kulpunda yaygın olarak bulunmaktadır. Bu bölgelerde prostaglandin E sentezini uyararak böbrek kan akımını arttırarak su ve tuz tutulumunu azaltır (2, 28, 39, 40).

### 2.2.2.2. Siklooksijenaz–2

Ağırlığı COX–1 ile eşit olup birinci kromozomdaki bir gen tarafından kodlanmaktadır. Aminoasit dizilimi yaklaşık %60 oranında COX–1 ile benzerlik gösterir (2, 28, 30). COX–2 geni inflamasyon başta olmak üzere birçok durumda uyarılabilir (41). Sitokinler ve büyüme faktörleri bu enzimin işlevini arttırmalar (2, 29, 30, 40, 42). İnflamatuvar süreçlerde COX–2 aktivitesinde belirgin artış olmaktadır (43).

*Günümüzde 3 tip COX inhibitörü mevcuttur: (31,34)*

*Aspirin:* Hem COX–1 hem de COX-2'yi baskılar (28). Ancak COX–1 enzimine daha seçicidir. Özellikle düşük dozlarda trombositlerdeki COX–1 enzimini geri dönüşümsüz olarak durdurur (39). Bu etkisi nedeniyle kalp koruyucu olarak sıklıkla tercih edilir. Yüksek dozlarda endoteldeki COX–2 enzimini baskılaması nedeniyle  $PGI_2$  sentezini azalttığı için kalp koruyucu etki göstermesi amacıyla 300 mg ve altındaki dozlar tercih edilir (31).

*Nonspesifik NSAİİ' ler:* Hem COX–1 hem de COX–2 enzimini değişik derecelerde, düşük seçicilikle baskırlar (44).

*Selektif COX–2 inhibitörleri (koksibler):* Bu grup ilaçlar NSAİİ' ler ile aynı analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar etkinlikte olan fakat COX–1 üzerine etkileri olmadığı için midede yan etkileri düşük derecede olan ilaçlardır (31). Son zamanlarda kalp krizi riskleriyle gündeme oturmuş ve toplatılmışlardır. (34)

### 2.3. NSAİİ' lerin Genel Özellikleri

NSAİİ' lerin çoğu organik asit yapısındadır. PH azaldıkça ilaçların lipitte çözünen non-iyonize miktarları artıp, ilacın hücre zarının lipit yapısıyla birleşimi fazlaşacağından, NSAİİ' ler seçici olarak mide, böbrek medullası

ile iskemik ve inflamasyonlu bölgeler gibi asiditesi fazla olan dokularda daha fazla birikirler (2).

## 2.4. NSAİİ' lerin Sınıflandırılması

Pek çok sınıflandırma şekli vardır. Çoğu kaynakta NSAİİ' ler iki şekilde sınıflandırılmıştır (3, 30).

### 2.4.1. Kimyasal Yapılarına Göre:

#### 1-Asitik NSAİİ' ler ( NSAİİ' ler çoğu asitik yapıdadır).

#### **A-** Arilkarboksilik asitler:

1. Salisilik Asit: Aspirin, diflunisal, sodyum salisilat vb.
2. Antranilik Asitler (Fenamatlar): Flufenamik asit, mefenamik asit, meklofenamik asit, niflumik asit

#### **B-** Arilalkonoik Asitler:

1. Arilasetik Asitler: Diklofenak, fenklofenak, alklofenak, fentiazak
2. Arilpropionik Asitler: İbuprofen, flurbiprofen, ketoprofen, naproksen, fenoprofen, suprofen, fenbufen, indoprofen, tioprofenik asit, benoksoprofen vb.
3. Heteroarilasetik Asitler: Tolmetin, zomeprak, kloprak vb.
4. İndol ve İnden Asetik Asitler: İndometazin, sulindak vb.

#### **C-** Enolik Asitler:

1. Pirazolidin Türevleri: Fenilbutazon, oksifenbutazon, azapropazon, feprazon
2. Oksikamlar: Piroksikam, **tenoksikam**

#### 2- Nonasitik NASİİ' ler

Prokuazon, fluprokuazon, tiamid, bufeksamak, flunizol, epirazol, tinoridin, nabumeton (2, 3, 26).

### 2.4.2. NSAİ İlaçların Yarı Ömürlerine Göre:

1- Uzun Yarı Ömürlü İlaçlar: Bu ilaçların yarı ömrü 10–12 saat ve üzerindedir. Günde 1–2 kez uygulanır.

2- Kısa Yarı Ömürlü ilaçlar: Bu ilaçların yarı ömürleri 6 saat ve altındadır (2, 3, 26).

**Tablo 1:** NSAİİ' lerin yarı ömürlerine göre sınıflandırılması (1).

<b>Uzun yarı ömürlü ilaçlar</b>	<b>Kısa yarı ömürlü ilaçlar</b>
Azapropazon	Diklofenak
Diflunisal	Etodolak
Fenbufen	Fenoprofen
Fenilbutazon	Flufenamik asit
Nabumeton	Flurbiprofen
Naproxen	İbuprofen
Oksaprazosin	İndometazin
Piroksikam	Ketoprofen
Sulindak	Pirprofen
Tenoksikam	Tiaprofenik asit
Prokuazon	Tolmetin

### 2.5. NSAİİ' lerin Etkileri:

NSAİİ' ler aspirin de dâhil olmak üzere tedavide inflamasyon (antiinflamatuvar) ve ağrıyı azaltırlar (analjezi), ateşi düşürmek (antipiretik) üzere 3 temel tedavide kullanılır (10, 45). NSAİİ' lerin güçleri bu üç etki açısından birbirlerinden farklıdır.

#### 2.5.1. Antiinflamatuvar etkileri

NSAİİ' ler siklooksijenazı engellediklerinden prostaglandinlerin yapımını baskılayarak prostaglandinlerin rol oynadığı inflamatuvar reaksiyonları kontrol altına alır (Şekil: 1) (41, 45).

### 2.5.2. Analjezik etkileri

Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) inflamatuvar süreçte hücrelerden bölgesel olarak salgılanan bradikinin, histamin ve diğer kimyasal mediyatörler sinir uçlarının daha duyarlı hale gelmesine neden olmaktadır (26).

### 2.5.3. Antipiretik etkileri

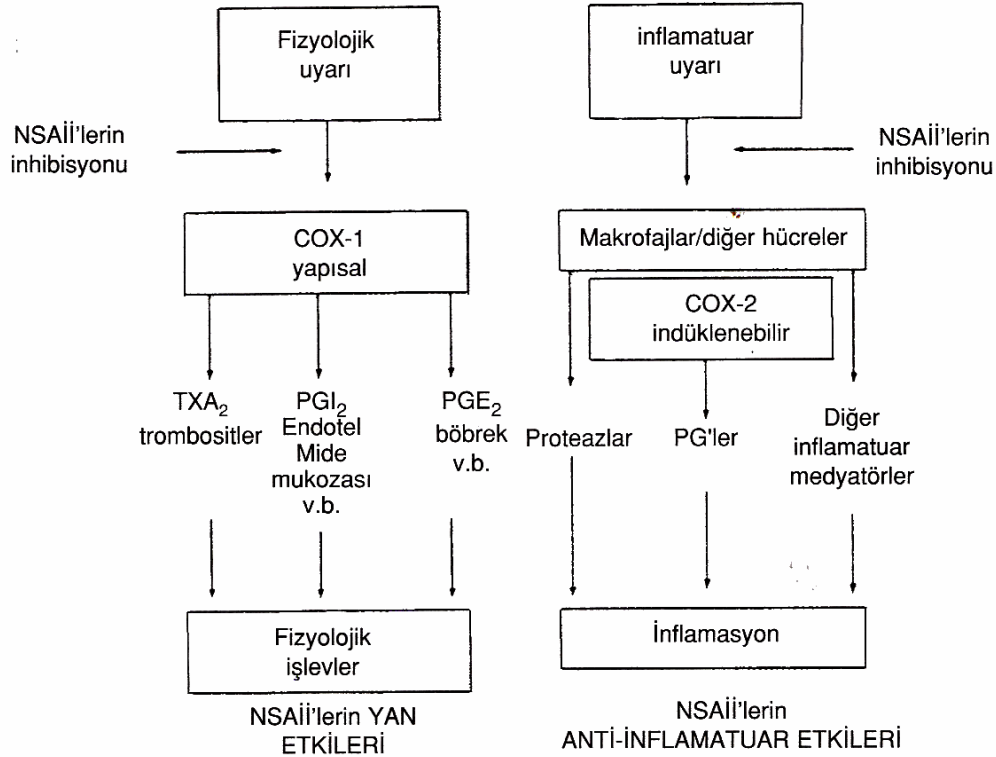
Ön hipotalamusta yer alan termoregülatuar merkezin uyarılmasına bağlı olarak ateş ortaya çıkar (33). İnfeksiyon, aşırı duyarlılık reaksiyonları, malignite veya inflamasyon nedeniyle uyarılan lökositlerden salgılanan pirojenik (vücutta ateş oluşmasına neden olan) etkili sitokinler tarafından uyarılan PGE<sub>2</sub> sentezi termoregülatuar merkezin ayar noktasını (set-point) yükseltmektedir (45). NSAİİ' ler PGE<sub>2</sub>'nin sentezini ve salınımını azaltarak vücut ısısını düşürmektedir (30). NSAİİ' ler ısı merkezinin hızla normale dönmesini sağlamaktadır. Periferik vazodilatasyon ve terleme ile ısı kaybını artırarak ateşli hastaların vücut ısısını düşürmektedir (39).

### 2.5.4. Diğer etkiler

Menstrüel krampları azaltır (30, 39, 46). Etki mekanizmaları kandaki prostaglandin düzeyini azaltmaya dayanır. İlaça ağrı başlar başlamaz veya menstrüasyonun başlamasıyla birlikte başlanır ve 48–72 saat devam edilir. Ortalama tedavi yanıtı %67–95 arasındadır (47). NSAİİ' lerin bir gurubuna yanıt vermeyen hasta başka bir gruptaki NSAİİ' ye cevap verebilir (48). Patent duktus arteriosus'un kapanmasına yardımcı olur (49, 10). Oküler inflamasyon, şok, periodontal hastalık ve spor travmasının tedavisinde, kanser kemoterapisinde, cerrahi girişimlerde kullanılır (30).

## 2.6. NSAİ İlaçların Yan Etkileri

Klasik NSAİİ' ler (ibuprofen, naproksen, diklofenak, indometazin, piroksikam, tenoksikam vb.) plazma eliminasyon yarılanma sürelerine, doz ve kullanım sürelerine bağlı olarak değişik düzeylerde etkinlik ve yan etkiye sahiptirler (50). İlaç yan etkilerinin % 25'den fazlasından NSAİİ' ler sorumludur (4). GİS, böbreğe ait yan etkiler, platelet agregasyon baskılanması ve bronkospazm PG sentez azalmasına bağlı iken, dermatit, santral sinir sistemi etkileri, hepatotoksisite ve akut intersitisyel nefrit idiyosenkratik reaksiyonlar olarak kabul edilir (2).



**Şekil 1:** NSAİ İlaçların etkileri ve yan etkileri (1)



### 2.6.1. Hastalığa Özgü Yan Etkiler

Bazı yan etkiler hastalıkla ilişkili gibi görünmektedir. Örneğin, naproksenle tedavi edilen osteoartritli hastalarda romatoid artritli hastalara göre karaciğer fonksiyon testleri bozulmaları daha siktir. Bir seride osteoartritli ve romatoid artritli 1616 olguda aspirin, diklofenak ve plasebo kullanılmıştır. Osteoartritli diklofenak alan hastalarda aspartataminotransferaz (AST) seviyelerinde 6–12 haftalık bir sürede %12'lik; romatoid artritli hastalarda %7'lik bir değişme olmuştur. Aspirin için ise tam tersi bir sonuç ortaya çıkmıştır (romatoid artrit için %6 ve osteoartrit için %2) (26).

### 2.6.2. Gastrointestinal Yan Etkiler

NSAİİ'lerin gastrointestinal etkileri hastaların büyük çoğunluğunda görülür. Bunlar ülserasyon, kanama veya perforasyon, ince ve kalın barsak mukoza zedelenmesi gibi ciddi yan etkilerdir (28, 45). Bunlardan mide ülseri %12-30, on iki parmak ülseri %2–19 oranında görülür. Geis ve arkadaşları NSAİİ kullanan hastalarda %14 mide ve %9 on iki parmak barsağı lezyonu saptamışlar ve bunun yaşla ve dozla arttığını bildirmişlerdir (26). NSAİİ'ler rektal veya intravenöz verilmesi ile de gastrointestinal hasar yapar; başka bir deyişle mukoza ile doğrudan temas olmasa da mukozal hasar ortaya çıkmaktadır (38). Normalde PGI<sub>2</sub> mide asiti salgısını azaltır. PGE<sub>2</sub> ve PGF<sub>2a</sub> ise mide ve ince bağırsakta koruyucu etkili olan mukus salgısını arttırırlar (28, 32, 33, 38). NSAİİ bu prostaglandinlerin sentezlenmesini engelleyerek mide - asiti salgısının artmasına ve koruyucu etkili mukusun sentezinin azalmasına neden olur (33, 38).

NSAİİ'lere bağlı belirtiler dispepsi, epigastrik ağrı, hazımsızlık, bulantı ve kusma şeklinde gelişebilir (51). NSAİİ'lerin yol açtığı alt barsak sitemine ait yan etkileri son zamanlarda ortaya konuldu. NSAİİ'ler sessiz inflamatuvar bağırsak hastalıklarını aktive edebilirler ve uzun süreli kullanımdan sonra bağırsak hasarına, kan ve protein kaybına yol açabilirler (52).

### 2.6.3. Böbreğe Ait Yan Etkiler

NSAİİ'lerin bu sistemdeki yan etkileri temel olarak böbrek kan akımını destekleyen PGE<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub>'nin baskılanmasıyla gelişir (30, 53). Konjestif kalp yetmezliği, glomerülonefrit, asit ile beraber karaciğer yetmezliği ve diüretik kullanımı gibi böbrek fonksiyonlarının azaldığı durumlarda risk artmıştır (34, 28). Prostaglandin metabolizmasını etkilemelerine bağlı böbrekte oluşturulan yan etkiler, NSAİİ'lerin en belirgin özelliklerindedir (54) ve özellikle intrinsik renal hastalık, hipoalbuminemi ve hipovolemide önemlidir (55). Bazı şüpheler bulunmakla beraber sulindak ve non-salisilik asetik asit diğerlerine göre prostaglandinlerin sebep olduğu yan etkiler daha seyrekdir (26).

NSAİİ'ler kan basıncını 10 mm/Hg kadar yükseltebilirler (55) ve bazı antihipertansif ilaçların etkisini azaltabilirler (26, 45, 46). Başta indometazin olmak üzere tüm NSAİİ'ler özellikle tiyazid diüretikleri, beta blokörler ve ACE (Anjiyotensin konverting enzim) inhibitörleri kullananlarda hipertansiyonun farmakolojik kontrolünü bozarak da hipertansiyona neden olabilirler (55). ACE inhibitörleri ile birlikte kullanıldıklarında hiperkalemi riski artar (56) ve serum potasyum düzeylerinin izlenmesi gerekir. NSAİİ'ler ayrıca sıvı birikimi ve hipertansif etki ile konjestif kalp yetersizliğine sebep olabilir (2).

### 2.6.4. Karaciğere Ait Yan Etkiler

NSAİİ ilaçlarının hemen hemen hepsi karaciğer enzim düzeylerinde hafif de olsa bir artışa neden olabilmektedir. Hepatosellüler toksik etkileri, serum transaminaz düzeylerinde artış ile birlikte dir. Kolestatik toksik etkileri ise bilirubin ve alkalin fosfataz düzeylerinde artış ile seyretmektedir. Bazen hem hepatosellüler hem de kolestatik toksik etkiler birlikte olabilir (7).

İleri yaş, yüksek doz NSAİİ kullanımı, tedavi süresinin uzaması, alkolizm, siroz, geçirilmiş hepatit öyküsü, kronik aktif hepatit, konjestif kalp yetmezliği, böbrek fonksiyonların bozulmuş olması, bu ilaçların hepatotoksisiteleri açısından risk grubunu oluştururlar (7).

Juvenil romatoid artrit ve SLE (sistemik lupus eritromosus) gibi sistemik tutulum ile seyreden hastalığı olanlarda NSAİ ilaç kullanımına dikkat edilmeli, karaciğer fonksiyon testleri ile sıkı takip edilmelidir.

Karaciğer enzim düzeylerinin yükselmesi, hiperbilirubinemi, protrombin zamanının uzaması gibi durumlarda NSAİ ilaçların kesilmesi gerekmektedir. Çünkü ölümcül olabilen karaciğer nekrozu, progressif karaciğer hastalıklarına neden olabilmektedir. Yaşlı hastalarda özellikle karaciğer toksisitesi daha az olan NSAİ ilaçlar verilmelidir. Fenilbutazon ve benoksapofen yüksek doz kullanımının yaşlı hastalarda ölüme neden olduğu gösterilmiştir. Yapılan araştırmalarda diklofenak, sulindak ile de toksisite görüldüğü, ibuprofen ve ketoprofen ile daha az yan etki geliştiği bildirilmektedir (7).

Karaciğere ait toksisite bütün NSAİİ' lerle izlenirken (46) asetaminofen, diklofenak, sulindak ve fenilbutazonda daha fazla ibuprofen ve ketoprofende biraz daha azdır. Hastalar genellikle belirti yoktur ve doz azaltıldığında veya ilaç bırakıldığında transaminaz seviyeleri normale döner (57). İleri yaş azalmış böbrek fonksiyon, çoklu ilaç kullanımı, yüksek ve uzun süreli kullanım, juvenil romatoid artrit, sistemik lupus eritematosus hepatik toksisite riskini artırır.

Karaciğer enzimlerinde geçici yükselmeler NSAİİ kullanımı sırasında yaygın olarak görülür (57, 58). Ancak tedavi sürerken düşer. Reye sendromu viral infeksiyonlu çocuklarda aspirinle ortaya çıkan hepatitle birlikte (10). Sulindak ve diklofenak ile hafif seyirli kolestaz görülmüştür. NSAİİ' ler hepatite de neden olabilirler, fakat aralarında bazı farklılıklar vardır. Hepatitli hastalarda yapılan bir çalışmada isoksikam, sulindak ve piropfenin en fazla

etken olduğu (1/50- 100.000); indometazin, ketoprofen ve ibuprofenin bunları izlediği; diklofenak ve piroksikamın ise nadiren hepatit sebebi (<1/500.000) olduğu gösterilmiştir (26, 59). Diğer taraftan 1984–89 yılları arasındaki verilere dayanan, bir raporda NSAİİ' lerin yol açtığı klinik hepatit ve karaciğer sebebi ölümle değerlendirilmiştir. Bu raporda diklofenak ve sulindak, klinik hepatit ve karaciğer sebebi ölüm insidansında birinci sırayı alırken; diflünisal, fenoprofen, piroksikam ve tolmetin bunları takip etmektedir. İbuprofen, indometazin, ketoprofen ve naproksen ise en düşük insidansa sahiptir (26). Ancak, bütün NSAİİ' lerin bu tür komplikasyonları son derece nadir olarak bildirilmiştir (57).

### **2.6.5. Hematolojik Yan Etkiler**

Anemi, trombositopeni, nötrofopeni birçoğunda görülmekle birlikte bu yan etkilerden iki tanesi çok önemlidir (30). Bunlardan agranülositozis ve aplastik anemidir (26). Aspirin trombosit agregasyonunu geri dönüşümsüz baskımlarken, diğer NSAİİ' ler sadece trombosit ile temasta olduğu süre içerisinde baskımlarlar (26). NSAİİ' lerin cerrahi girişimden yarı ömürlerinin 4–5 katı kadar bir süre önce kesilmeleri gerekir (2).

### **2.6.6. Gebelik ile İlgili Yan Etkiler**

- Gebeliğin uzaması,
- Doğum eyleminin uzaması,
- Doğum öncesi, doğum anında ve doğum sonrası kan kaybında artma,
- Kansızlık,
- Preeklemtik toksemi (10, 49).

### 2.6.7. Fetüs ve Yeni Doğan ile İlgili Yan Etkiler

- Hemostaz anormallikleri,
- Kafa içi kanama insidansında artma,
- Duktus arteriozusun erken kapanması,
- Sürekli pulmoner hipertansiyon (10, 49).

**Tablo 2:** NSAİİ' lerin yan etkileri (1)

<b>Mide- Barsak</b>	Dispepsi	<b>Psikolojik</b>	Başağrısı
	Gastrik erozyon		Baş dönmesi
	Peptik ülser		Huzursuzluk
	Üst GIS kanaması		Sara tetiklenmesi
	Barsak inflamasyonu		Aseptik menenjit
<b>Böbrek</b>	GFR azalması	<b>Deri</b>	Ürtiker
	Akut böbrek yetmezliği		Lökositoklastik vaskülit
	Ödem		Eritema multiforme
	İnterstisyel nefrit		Fiks ilaç erupsiyonu
	Hiperkalemi	<b>Kan</b>	Kanamaya eğilim
	Hipertansif etki		Aplastik anemi
	Papiller nekroz		Trombositopeni
<b>Akciğer</b>	Astım provakasyonu		Agranulositoz
	Bronkospazm	<b>Karaciğer</b>	Toksik hepatit
	Pnömoni		Kolestatik sarılık
			Ağır KC yetmezliği

## **2.7. Yaygın Kullanılan NSAİİ' ler**

### **2.7.1. Aspirin ve diğer salisilatlar**

Aspirin zayıf bir organik asittir ve siklooksijenazı geriye dönüşümsüz olarak işlevsiz hale getirdiği için diğer NSAİİ' lerden farklıdır (33). Salisilatlar ve diğer NSAİİ' ler siklooksijenazı geri dönüşümlü şekilde asetillerler (39). Aspirin vücuttaki esterazlar tarafından hızla asetilesyon bozularak salisilata çevrilir (45). Salisilat antiinflamatuvar, antipiretik ve analjezik etkilerden sorumludur. Aspirinin düşük dozları geçici iskemik atakların, dengeli olmayan anjinaların ve koroner arter trombozunun görülme sıklığını azaltmak amacıyla profilaktik olarak kullanılır (46). Aspirin aynı zamanda patent duktus arteriyozusun kapanmasını da sağlar. (Duktus arteriyozusun açık kalmasında PGE<sub>2</sub> sorumludur) (10, 60).

### **2.7.2. Fenilbutazon**

Güçlü antiinflamatuvar, analjezik ve antipiretik etkili bir ilaçtır. 30 yıldan daha fazla süredir kullanılmasına karşın ölümcül aplastik anemi ve agranülositoz yapması nedeni ile birçok ülkede klinik kullanımdan kaldırılmıştır (1).

### **2.7.3. İndometazin**

Romatoid artrit, gut, ankilozan spondilit ve reaktif artritler gibi inflamatuvar romatizmal hastalıklar yanında PG sentezi üzerine olan güçlü baskılayıcı etkisi nedeniyle perikardit, prematür eylem ve infantlarda patent duktus arteriozus tedavisinde kullanılır. Kıkırdak yıkımını artırdığını bildiren çalışmalar nedeni ile osteoartritte önerilen bir NSAİİ değildir. En önemli yan etkileri GİS (ülser, kanama) ve SSS' inde (baş ağrısı, baş dönmesi, vertigo) gözlenir (4, 26).

#### **2.7.4. İbuprofen**

Propionik asit türevi bir NSAİİ' dir (26). Düşük dozlarda yalnızca analjezik etki gösterirken, 2100–2400 mg/gün dozlarında antiinflamatuvar etki gösterir. Düşük dozlarda yan etkilerinin diğer NSAİİ' lerden daha az olduğu söylenmesine karşın, yüksek dozlarda yan etkisi diğer NSAİİ' lere benzer (1, 26).

#### **2.7.5. Naproksen**

Yaygın kullanılan NSAİİ' lerden biridir. Alımından sonra tamamına yakını emilir. Yarı ömrü erişkinlerde ve çocuklarda 12–15 saat arasındadır. Yan etkileri indometazinle aynıdır. Antiinflamatuvar etkisi indometazinden biraz daha zayıftır (1).

#### **2.7.6. Ketoprofen**

Propionik asit türevi bir NSAİİ' dir. Yarı ömrü yaklaşık olarak 2 saattir. Yaşlılarda plazma klirensi % 22–50 oranında azalır. % 99 oranında proteinlere bağlı olarak taşınır. Yan etkileri diğer NSAİİ' lere benzer ve esas olarak GİS' dedir (1).

#### **2.7.7. Nobumeton**

Non-asidik bir NSAİİ' dir ve hayvan modellerinde zayıf siklooksijenaz enzim inhibisyonu yaptığı gösterilmiştir. % 99 oranında proteine bağlı olarak taşınır. Antiinflamatuvar etkisi diğer NSAİİ' lere benzerse de analjezik etkisinin daha az olduğu düşünülmektedir (1).

### **2.7.8. Tioprofenik Asit**

Asitik yapıda bir propionik asit türevidir. 1.5–2.1 saat gibi kısa bir serum eliminasyon yarı ömrü vardır. Yaşlılarda yarı ömrü % 50 oranında artar. İn-vitro çalışmalarda indometazin ve naproksenin aksine kıkırdakta proteoglikan sentezini azaltmadığı gösterilmiştir. Etki ve yan etkileri açısından diğer NSAİ'lere benzer. Ayrıca hemorajik sistite yol açabilir (1).

### **2.7.9. Diklofenak**

İn-vitro ve in-vivo güçlü, fakat geri dönüşümlü siklooksijenaz baskınlığı yapan bir fenil-asetik asit türevidir. Alımından sonra tamamen absorbe olur ve % 99,7 oranında albumine bağlanır. Yaklaşık 75 dakika kadar bir yarı ömrü vardır. Etkileri ve yan etki profili diğer NSAİ' lere benzer (1).

### **2.7.10. Piroksikam**

Enolik asit türevidir (3). Siklooksijenaz yanında lipooksijenaz enzimini, nötrofil fonksiyonlarını, lizozomal enzimleri, serbest oksijen radikallerini ve lenfosit fonksiyonlarını da etkiler (1). Piroksikam içeren preparatlar analjezik ve antipiretik özelliklere de sahip bir antiinflamatuvar ajandır. Laboratuvar hayvanlarına piroksikam içeren preparat uygulanmasıyla ödem, eritem, doku proliferasyonu, ateş ve ağrının tümü baskılanabilir. Etki şekli tamamen anlaşılacakla beraber, bağımsız invitro ve invivo çalışmalar piroksikam içeren preparatların bağışıklık ve inflamasyon reaksiyonlarının bazı basamaklarında aşağıdaki mekanizmalar vasıtasıyla etkileştiğini göstermiştir.



- Siklooksijenaz enziminin geriye dönüşebilir baskılanmasıyla prostaglandinler dâhil prostanoit sentezinin baskılanması
- Nötrofil agregasyonunun baskılanması
- İnflamasyon bölgesine polimorfonükleer hücre ve monosit göçünün önlenmesi
- Uyarılmış lökositlerden lizozomal enzim salınımının baskılanması
- Nötrofiller tarafından süperoksit anyon üretilmesinin baskılanması
- Seropozitif romatoid artritli hastalarda hem sistemik hemde sinovial sıyıda romatoid faktör üretiminin azaltılması (61, 62).

Primer dismenorede endometriyal prostaglandinlerin düzeyinin artışı, uterus iskemisi ve ağrı ile sonuçlanan uterus hiperkontraktilitesine sebep olur. Prostaglandin sentezinin güçlü bir engelleyicisi olan piroksikam içeren preparatların uterus hiperkontraktilitesini azalttığı ve primer dismenore tedavisinde etkin olduğu gösterilmiştir (63). Plazma proteinlerine bağlanma oranı yüksektir (yaklaşık %99) (10). Piroksikam sinoviyal membranı hızlı geçer; sinoviyal sıvı düzeyleri kan düzeylerinin %45–50' sidir. Sinoviyal sıvı proteinlerine bağlanma plazmadaki gibidir (61).

Antiinflamatuvar ve/veya analjezik etki gerektiren romatoid artrit, osteoartrit (artroz, dejeneratif eklem hastalığı) ve ankilozan spondilitin akut ağrılı dönemlerinde, akut muskuloskeletal hastalıklar, akut gut, cerrahi girişimlerden sonraki ve akut travma sonucu ağrı gibi durumlarda kullanılır (61).

Taç ve ark, deneysel peritonit oluşturulmuş sıçanlarda 5 gün süre ile 0,250mg/kg piroksikam uygulanmış 15. günde ameliyat yerinde piroksikamın yapışıklıkları önlemedeki etkisini olumlu yönde bulunmuştur (64).

Nadir durumlarda, NSAİ ilaçlar interstisyel nefrit, glomerülit, papiller nekroz nefrotik sendroma sebep olabilir (63). NSAİ ilaçlar renal kan akımı kan volümü azalmış hastalarda böbrek perfüzyonunun devamına destek rolü

oyनayan renal prostaglandin sentezini baskılar. Bu hastalarda NSAİ ilaçların verilmesi belirgin böbrek yetmezliğini hızlandırır. Böyle bir reaksiyon için en büyük risk grubu kalp yetmezliği, karaciğer sirozu, nefrotik sendrom ve aşikar böbrek hastalığı olan hastalardır (2, 26). Diğer NSAİ ilaçlar gibi piroksikam içeren preparatlar trombosit agregasyonunu azaltır (64) ve kanama zamanını uzatır. Tromboferez yapılacak ise son dozun alımından 72 saat sonra kan bağışı alınabilir. Bunun dışında piroksikam kullanmak kan vermeye engel oluşturmaz (65).

Hayvan deneylerinde teratojenik bir etki görülmemişse de hamilelikte piroksikam kullanımı önerilmez. Piroksikam siklooksijenaz enziminin geriye dönüşebilir baskılanması ile prostaglandin sentez ve salınımını baskılar. Bu etki, diğer NSAİ İlaçlarda da olduğu gibi, gebeliğin son dönemine kadar ilaç uygulaması sürdürülen gebe hayvanlarda distosi ve doğum zamanında gecikme insidansında artış ile ilişkilidir. NSAİ ilaçların bebeklerde duktus arteriosusun kapanmasını indüklediği de bilinmektedir (10, 65, 39). Piroksikam içeren preperat kullanımında anne sütünde piroksikam mevcudiyeti başlangıç ve uzun dönem doz koşullarında (52 gün) belirlenmiştir. Bu miktar anne plazma konsantrasyonunun %1, %3'ü kadardır. Tedavi sırasında plazmadakine göre sütte piroksikam birikmesi olmamıştır. Emziren annelerde klinik emniyeti henüz kanıtlanmadığından piroksikam önerilmez (63).

Piroksikam içeren preparat kullanımı ile gastrointestinal hemoraji, perforasyon ve ülserasyon bildirilmiştir. Ciddi yan etkiler çoğunlukla doza bağımlı olmaktadır. Düşük etkili doz kullanımı minimize yan etki oluşturur (63). Piroksikam içeren preperat kullananlarda baş dönmesi, baş ağrısı, uyuklama, uykusuzluk, depresyon, sinirlilik, halüsinasyonlar, mizaç değişiklikleri, rüya anormallikleri, mental konfüzyon, parestezi ve vertigo gibi santral sinir sistemi etkileri çok seyrek olarak bildirilmiştir (61, 63).

Deri döküntüsü ve kaşıntı şeklinde deride aşırı duyarlılık reaksiyonları bildirilmiştir. Cuerda Colinda E ve ark. 2004 yılında piroksikam'a bağlı iki fikse ilaç döküntüsü rapor etmiştir (66). Anafilaksi, bronkospazm, ürtiker, anjiödem, vaskülit ve serum hastalığı gibi aşırı duyarlılık reaksiyonları nadiren bildirilmiştir (10).

Karaciğer fonksiyon testlerinde değişiklikler gözlenmiştir. Diğer NSAİ ilaçlarda olduğu gibi, piroksikam içeren preperat ile tedavi sırasında bazı hastalarda serum transaminaz düzeyleri artabilir. Sarılık ve fatal hepatit vakaları gibi ciddi karaciğer reaksiyonları bildirilmiştir (59).

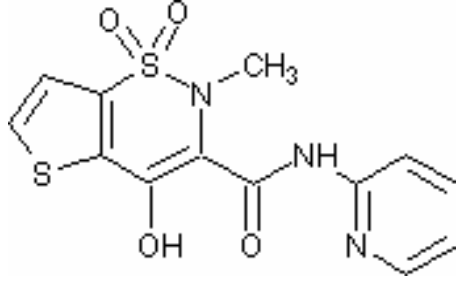
Piroksikamın erken kolon kanserinde kemoterapide koruyucu amaçlı kullanılması gündemdedir (60).

## **2.8. Tenoksikam**

Yapısal olarak piroksikama benzeyen, ancak daha az lipofilik olan bir karboksamindir. Siklooksijenaz enzim baskınlığı yapar, ancak in-vitro çalışmalarda lipooksijenaza ve kondrosit fonksiyonlarına etkisi olmadığı gösterilmiştir. Romatroid artrit, Osteoartrit, gut ve birçok kas-iskelet sistemi hastalığında diğer NSAİ' lerle benzer etkinlikte olduğu düşünülmektedir (1).

### **2.8.1. Kimyasal ve fiziksel özellikleri**

Tenoksikam, 4-hidroksi -2-metil-N-2-piridinil 2H-tieno 1,2,3-el-1,2-tiazin-3-karboksamit 1,1dioksit yapısındadır. Kapalı formülü  $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$  şeklinde olup, açık formülü aşağıda gösterilmektedir (67).



**Şekil 2:** Tenoksikamın kimyasal yapısı

Oksikam türevi, steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (non steroidal antiinflammatory drugs-NSAİİ) olarak adlandırılan bir kimyasal grubuna ait olan tenoksikam bir tienotiazin türevidir. Oksikam grubundan prioksikam, tenoksikam ile biyolojik etkinlik ve yapı açısından çok benzerlik gösterir. Piroksikamdaki benzo halkası, tenoksikamda tiyofen halkası ile yer değiştirmiştir. Bu bileşiklerde antiinflamatuvar etki ülserojenik etki ile paralellik gösterir (68).

Tenoksikamın molekül ağırlığı 337,37, erime derecesi 209–213 °C' dir (69).

Tenoksikam zayıf enolik asit yapıda bir madde olduğu saptanmıştır (70).

## 2.8.2. Farmakolojisi

### 2.8.2.1. Tedavi Etkinliği

Oksikam türevi bir NSAİİ' dir. Yapıca diğer narkotik-olmayan analjeziklere benzemez. Vücuttan en yavaş elimine edilen ve en uzun etki süreli analjeziklerden biridir (10). Güçlü bir siklooksijenaz enzimi inhibitörüdür. Tenoksikam analjezik ve antiinflamatuvar olarak kullanılan oksikam türevi bir ilaçtır. Oral yoldan günlük 10 ve 20 mg' lık dozlarda, akut durumlarda ise 40 mg dozlarda verilir (10, 71, 72).

Romatoid artrit, osteoartrit, anklizan spondilit, gut ve artiküler olmayan romatizmada günlük 20 mg'lık dozda kullanılır. Etkisi günlük 20 mg'lık piroksikam dozuyla eşdeğerdir. En sık görülen yan etkiler mide-barsak sistemine ait yan etkilerdir ve ilk incelemelere göre %8 oranında görüldüğünü bildirilmiştir. Günde 40 mg dozunda verildiğinde daha fazla antiinflamatuvar etki göstermekle beraber yan etkilerinin yaklaşık iki katına çıktığı görülmüştür (10, 71).

### **2.8.2.2. Farmakodinamik Özellikleri**

Tenoksikamın analjezik ve antiinflamatuvar aktivitesi en az, diğer NSAİİ'ler kadar etkin olmakla beraber antipiretik etkisi çok güçlü değildir. NSAİİ'ler içinde lipofilitesi en düşük olanıdır. Yapısındaki tionetazin halkası piroksikam ve diklofenaktan daha hidrofilik bir özellik sağlar. Zayıf asidik olması ve enterohepatik dolanımına girmemesi nedeniyle gastrointestinal sistemde iyi tolere edilir ve zayıf asidik özelliğiyle inflamasyonlu dokuya penetre olur (73).

Sıçanlarda antiinflamatuvar doz ile ülserojenik dozların oranından hesaplanan terapötik indeks diğer NSAİİ'lerden üstündür (71). Tenoksikamın araşidonik asitten siklik endoperoksidazın oluşumunu katalizleyen siklooksijenazı inhibe ederek prostoglandin sentezini inhibe ettiği, ayrıca aktif oksijen radikallerini tutarak ve lökosit kemotaksis ve fagositozunu inhibe ederek etki gösterdiği kayıtlıdır (71).

Tenoksikam sıçanlarda yapılan bir çalışmada piroksikam ve indometazinle karşılaştırılarak farmakolojik ve biyokimyasal aktivitesi araştırılmıştır. Tenoksikam ve piroksikam inflamasyonu azaltmada eşit derecede etkin bulunmuşlardır. İndometazine göre daha az ülserojenik yan etki göstermişlerdir, daha iyi tolere edilmişlerdir. Sıçanlar 10mg/kg tenoksikam ve piroksikamın tekrarlanan dozlarını tolere edebilmişler ama 3mg/kg indometazinin tekrarlanan dozlarının toksik olduğu bulunmuştur. Ayrıca oksikamların prostoglandin sentezini inhibe etmede indometazine göre 100 kat daha az etkin oldukları belirtilmiştir (74).

### 2.8.2.3. Farmakokinetik Özellikleri

Tenoksikam fizyolojik pH da iyonize olur. Bu da diğer dokulara dağılma yeteneğini sınırlar. Lipofilik özellikleri minimumdur. Plazma proteinine yüksek oranda bağlanır, yağlı doku ve deride birikmez. Bu nedenle dağılma hacmi küçüktür. Dağılım hacmi sağlıklı kişilerde 0.15 l/kg dır. Biyoyararlanım intravenöz verilışı ile karşılaştırıldığında oral alımdan sonra yaklaşık %100, rektal kullanımdan sonra ise yaklaşık %80' dır. Ortalama eliminasyon yarı ömrü 70–72 (49–81) saattir. Bu değer oksikam grubu içerisinde görülen en yüksek değerdir. Eliminasyon esas olarak karaciğerde olur (9–11) Oral alımdan sonra dozun %100' ü hızla sistemik dolaşıma absorbe olur ve en yüksek plazma konsantrasyonuna yarım saat ile iki saat arasında ulaşır (71, 75).

Plazma klirensi 0.1-0.25 l/sa' dır. Kanda ilacın %99' undan fazlası serum albumine bağlanır. Tenoksikam sinoviyal sıvıya çok iyi penetre olur. Günde 20 mg' lık tek oral doz uygulamasıyla 10–12 günde, plazmada 10–15 µg/ml' lik konsantrasyonlarda ve 8,8 saatte yarı ömrüne (76) birikme olmaksızın kararlı duruma ulaşır. Alınan ilacın 2/3 si idrarla, 1/3 i safra ile metabolitleri şeklinde atılır. Dokularda 6,1 saatte bağırsaklarda, 10,6 saatte beyinde bulunmaktadır (76).

Tenoksikamın değişmemiş olarak safrada enterohepatik dolaşıma girmediğini göstermektedir. Kısa süreli çalışmalarda tenoksikamın farmakokinetiğinin yaş (77) böbrek bozuklukları, karaciğer veya romatik hastalıklardan etkilenmediği bildirilse de hepatite bile neden olduğuna dair yayınlar vardır (71, 75, 78).

Tenoksikam tek ve çok dozda oral olarak alımından sonra plazma konsantrasyonları yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile saptanmıştır. Eliminasyon yarı ömrü çok doz uygulanmasında tek doza göre % 12 daha uzun bulunmuştur (78).

Tenoksikamın farmakokinetiğinin 10–20–40 mg lık tek oral doz uygulamasından sonra incelenmesi sonucu bu dozlarda lineer olduğu, kinetik parametrelerin dozdan bağımsız olduğu bildirilmiştir (79).

Sıçanlarda farklı dokularda tenoksikamın dağılım ve eliminasyon incelenmesi amacıyla bir fizyolojik farmakokinetik model geliştirilmiştir. İlaç alındıktan sonra 24 saat içinde bu şekilde elde edilen verilerle deneysel veriler arasında iyi bir ilişki bulunmuştur. Bu çalışmanın hayvan denemelerinde ve klinik çalışmalardaki önemi belirtilmiştir (76).

Tenoksikamın farmakokinetiğine yiyecek ve antiasit etkisini anlamak üzere yapılan bir çalışmada yiyecek ve antiasit varlığında absorpsiyon hızının azalttığı bununla birlikte absorpsiyon derecesi ve diğer farmakokinetik parametrelerde bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir (80).

#### **2.8.2.4. Kontrendikasyonları**

Tenoksikam, bu ilaca aşırı duyarlı olduğu bilinen, salisilat veya diğer NSAİİ'lerin astım, rinit veya ürtiker gibi semptomların oluşturduğu bilinen, gastrit, mide ve duodenum gibi üst gastro-intestinal sistem hastalıkları olan veya daha önce bu hastalıkları geçirmiş kişilerde kullanılmamalıdır. Tenoksikama karşı aşırı duyarlılığı olduğu bilinen hastalarda tenoksikam kullanımı sakıncalıdır (81).

#### **2.8.2.5. Yan etkileri**

Tenoksikamın yan etki profili diğer NSAİİ'lere benzer. İlaç önerilen dozlarda iyi tolere edildiği kanıtlanmıştır. Dozdaki artış yan etkilerin de artmasına neden olur. En sık görülen yan etkiler kusma, epigastrik ağrı, dispepsi gibi gastrointestinal yan etkilerdir. Baş ağrısı, baş dönmesi gibi santral sinir sistemi şikâyetleri ve daha az olarak kızarıklık, ürtiker, ödem gibi yan etkilerde gözlenmiştir (71).

Bugüne kadar bildirilen yan etkiler şunlardır:

Görülme sıklığı %1'den yüksek;

Mide-barsak kanalı: Gastrik, epigastrik ve abdominal rahatsızlık, dispepsi, yanma, bulantı.

Merkezi sinir sistemi: Baş dönmesi ve baş ağrısı

Görülme sıklığı %1'den düşük;

Mide- barsak kanalı: Konstipasyon, diyare, stomatit, gastrit, kusma, ülser, hematemez ve mide-barsak kanaması, mide-barsak perforasyonu

Merkezi sinir sistemi: Yorgunluk, uyku bozukluğu, iştah kaybı, ağız kuruluğu, vertigo, görme bozuklukları

Deri: Kaşıntı, eritem, ekzantem, döküntü, ürtiker, Stevens-Johnson ve Lyell sendromu, fotosensitivite reaksiyonları, vaskülit

Üriner sistem ve böbrekler: BUN ve kreatininde yükselme, ödem.

Karaciğer ve safra yolları: Karaciğer enzim aktivitesinde artış, hepatit (izole vakalarda)

Kardiyovasküler sistem: Çarpıntı özellikle kardiyovasküler ilaç tedavisi gören hastalarda kan basıncında artma.

Kan: Anemi, agranülositoz, lökopeni, trombositopeni.

Aşırı duyarlılık reaksiyonları: Dispne, astım, anafilaksi, anjiyoödem (82).

### **2.8.2.1. Metabolizması**

Oksikamlar sudoksikam, piroksikam, izoksikam ve tenoksikam olup sadece amid substitüentleri farklıdır. Oksikamlar büyük ölçüde metabolize olur ve metabolizma yollarında önemli farklılıklar vardır. Tenoksikam vücuttan atılmadan önce oksidasyon ve konjugasyonla tamamen metabolize olur (83).



#### **2.8.4.Tedavi Dozu**

Standart doz, oral veya supozitivar olarak, akut gut dışındaki tüm endikasyonlarda günde tek doz 20 mg' dır. Günlük doz 20 mg' ı geçtiğinde yan etki oranının arttığı bildirilmiştir (71).

#### **2.8.5. Preparatları**

Piyasa preparatları 20 mg tenoksikam içeren Tilcotil tablet (Roche), Oksamen-L flakon (Mustafa Nevzat İlaç) şeklindedir.

#### **2.9. Serbest Radikaller**

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Serbest radikaller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de ilaçlar ve diğer zararlı kimyasal maddelerin etkisi ile oluşabilmektedir (84, 85).

Serbest oksijen radikallerinin, ilaç ve toksinle oluşan reaksiyonlar, kurşun zehirlenmesi, karbon tetraklorüre bağlı karaciğer hasarı, hepatitis B, iskemi ve reperfüzyon ve pek çok hastalığın patogenezisinde etkili oldukları öne sürülmektedir (86, 87).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler, oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerin iyonları ve hidroksil radikalleridir (88).

Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlardan dolayı oldukça reaktiftir (88).

Serbest radikallerdeki çiftleşmemiş elektronlar kararlı duruma geçme eğiliminde oldukları için, kararlı halde bulunan bir bileşikten elektron alarak, bu bileşiği yeni bir serbest radikal haline dönüştürür. Bu olay, bir zincir

reaksiyon olarak ya da bir başka molekül üzerinde bulunan çiftleşmemiş elektronla, serbest radikal üzerindeki çiftleşmemiş elektronla, serbest radikal üzerindeki çiftleşmemiş elektron birleşene kadar ya da zincir reaksiyonu, antioksidanlar tarafından kırılana kadar devam eder (85).

Serbest radikaller, savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştukları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküllerin tüm büyük sınıfları serbest radikaller tarafından etkilenirler, fakat lipitler en hassas olanlarıdır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlerler. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (88).

Süper oksit radikali tüm aerobik hücrelerde oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu, süperoksit radikal anyonu ( $O_2^-$ ) meydana gelir. SOD süperoksitin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Enzimin fonksiyonu serbest radikalın zararlı etkilerine karşı hücreleri korumaktır. Böylece lipit peroksidasyonunu baskılar. (88)

Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyobarbitürik asitle (TBA) ölçülebilen malondialdehit (MDA) meydana gelir. Bu metod lipit peroksit seviyelerinin ölçülmesinde sıklıkla kullanılır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, fakat lipit peroksidasyonunun derecesiyle paralellik gösterir. Lipit peroksidasyonu hücre için çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Doğrudan membran yapısına ve dolaylı olarak reaktif aldehitler üreterek diğer hücre bileşenlerine hasar verir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanma ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinogenik olduğunu açıklar (89).

## 2.9. Nitrik Oksit (NO)

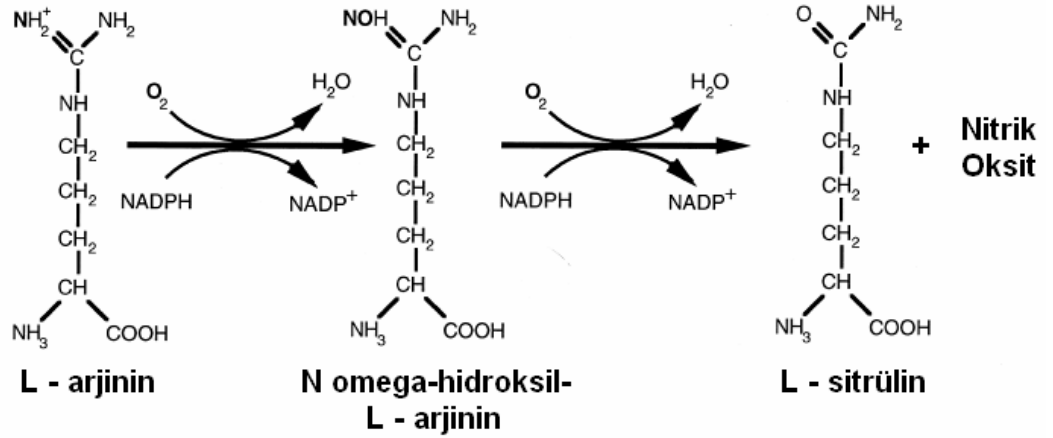
Atmosferde yaygın bulunan azot (N) ve oksijen (O) gazlarının birleşimi ile oluşturulmuş bir azot monoksit gazıdır. Moleküler orbitalinde eşlenmemiş elektron ( $e^-$ ) çifti içerdiği için serbest radikal olarak yarı ömrü çok kısa (2–30 sn.) ve kimyasal etkinliği oldukça yüksektir. NO, gaz fazında renksiz, standart, ısı ve basınçta suda çözülebilen bir moleküldür. Memeli hücrelerin bioaktif salgı ürünleri içinde en düşük moleküler ağırlığa sahip ve hücre membranından kolaylıkla diffüze olabilen lipitte çözülebilir bir moleküldür (90, 91,92).

Basit bir gaz molekülü olan NO' nun doğada varlığı çok eskiden beri bilinmektedir. NO atmosferin üst tabakalarında bulunmasının yanı sıra; taşıt egzozlarında, elektrik trafolarında ve asit yağmurlarında da zehirli bir gaz olarak ortaya çıkabilmektedir. Organizmadaki rolü 1980'lerde ortaya konabilmiştir. İlk olarak Furchgott ve Zawatzki asetilkolinin yol açtığı endotele bağımlı damar gevşemelerinden EDRF (Endotel kaynaklı gevşeme faktörü)' nin sorumlu olduğunu göstermişlerdir. Damar endotelinden salıverilen bu faktörün, daha sonra yapılan çalışmalarda NO olduğu anlaşılmıştır. Ancak EDRF' nin sadece NO' den ibaret olmadığı, EDHF' nin (Endothelium-Derived Hyperpolarising Factor) de, EDRF içinde yer aldığına dair bulgular bulunmaktadır (93, 94).

NO hem bazal şartlarda salgılanarak sürekli damar tonusunu düzenlemektedir, hem de çeşitli eksojen ve endojen uyarılarla salgılanabilmektedir. Asetilkolin, ADP, ATP, anjiyotensinII, noradrenalin, araziidonik asit, substans P, histamin, bradikinin, serotonin, endotelin, trombin, vazopressin, NO salgılanmasını uyaran etkenlerdendir. NO'in yarı ömrü oldukça kısadır. Saniyeler içinde (2–30 sn) inaktive olması nedeniyle etkisi lokaldir ve kısa sürmektedir. NO'in birçok etkisi bildirilmiştir. Vasodilatatör, venodilatatör, (-) inotrop, antiagregan, hücre koruyucu, düz kas

proliferasyonunun engelleyici, nörotransmitter, nöromodülatör, immün modülatör, mikroorganizma ve tümör hücresi öldürücü etkileri ortaya konmuştur (93, 94).

### Nitrik Oksitin Sentezi



**Şekil 3:** Nitrik oksidin L-arginin amino asidinden sentezlenmesi (95).

L-arginin amino asidinin bir guanido azotun, 5 e<sup>-</sup> luk oksidasyona uğrar ve N<sup>W</sup>-L arg ara ürününün oluşumundan sonra gaz formunda bir radikal olan NO sentezlenir. Nikotinamin adenin dinükleotid fosfat (NADPH) bu ara ürünün oluşumu için 2e<sup>-</sup> ve ileri oksidasyon içinde bir e<sup>-</sup> verir (12–19).

#### 2.10.1. Nitrik Oksit Sentaz

NO organizmada, L-argininin L-sitrüline dönüşümü sırasında açığa çıkmakta ve bu reaksiyonu nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi gerçekleştirmektedir. Tepkimeyi katalizleyen NOS'un üç izoformu bulunmaktadır. Tip 1 formu; nöronal NOS (nNOS), tip 2 indüklenebilir NOS (iNOS) ve tip 3 endotelial NOS (eNOS). Bazen nNOS ve eNOS'a beraber

yapısal (cNOS) da denilebilmektedir. Kalsiyuma bağımlı olan nöronal ve endotelial NOS, sürekli olarak az miktarda sentezlenmektedir. Makrofajlar, miyositler, düz kas hücreleri ve hepatositlerde bulunan iNOS, belirli sitokinlerin uyarısıyla NO üretmektedir (20–24, 93–94).

#### **2.10.1.1. İndüklenebilir NOS (iNOS)**

iNOS, endotoksin ve sitokinlerin uyarısı ile özellikle makrofaj, endotel, hepatosit, nötrofil, mezenşiyal hücrelerin aktivasyonundan sonra saatler içinde sentezlenmektedir. Uyarımından sonra iNOS geninin transkripsiyonu ve 'de novo' protein sentezi ile ekspresyonu gerçekleşmektedir. Daha sonra uzun süreli olarak nanomol düzeyinde NO sentezi yapılmaktadır. Enzim sitosoliktir ve  $Ca^{++}$ 'dan bağımsızdır. Kalmodulin, iNOS'a tek başına bağlanmakta ve enzim serbest  $Ca^{++}$  değişikliklerine duyarlılık göstermemektedir (20–24).

#### **2.10.1.2. Yapısal NOS (cNOS)**

Kalsiyum/ kalmodulin bağımlı sitozolik bir enzimdir. Reseptör veya fiziksel uyarılar sonucunda birkaç dakika veya saniyeler içinde aktive olmaktadır. Daha önceden hücre içinde bulunduğu için ajanların indüksiyonu ile hemen aktif hale geçmektedir. cNOS'un protein düzeyinde ekspresyonu, katalitik fonksiyonların yetersiz olduğu durumlarda gerçekleşmektedir. Bu yol ile sentezlenen NO, kısa süreli olarak pikomol düzeyde salınmakta ve glukokortikoidlerden etkilenmemektedir. cNOS'un nöron ve endotelial hücrelerden izole edilmiş iki formu bulunmaktadır. Endotelial hücrelerde bulunan eNOS; vasküler düz kas gevşemesini ve trombosit agregasyon ve adhezyon inhibisyonunu sağlamaktadır (96). Nöronal hücrelerde bulunan nNOS ise, santral sinir sistemi ve periferik sinir sisteminin nonkolinerjik (NANC) sinirlerinde, nörotransmitter ve nöromodülatör olarak rol oynamaktadır.

**Tablo 3:** Nitrik oksit sentaz enzimleri

<b>iNOS</b>	<b>eNOS</b>	<b>nNOS</b>
Tip II NOS	Tip III NOS	Tip I NOS
İndüklenebilir	Yapısal	Yapısal
Ca <sup>2+</sup> /CaM bağımsız	Ca <sup>2+</sup> /CaM bağımlı	Ca <sup>2+</sup> /CaM bağımlı
Aktivitesi yüksektir	Aktivitesi düşüktür	Aktivitesi düşüktür
Aktiviteleri glukokortikoidler tarafından engellenebilir	Aktiviteleri glukokortikoidler tarafından engellenmez	Aktiviteleri glukokortikoidler tarafından engellenmez
Aktivitesi transkripsiyonla belirlenir	Hücrelerde normal şartlarda da bulunmaktadır	Hücrelerde normal şartlarda da bulunmaktadır
Genellikle sitoplazmada bulunur	Hücre zarında bulunur	Genellikle sitoplazmada bulunur
Makrofajlar, nötrofiller, fibroblastlar, mast hücreleri, hepatositler gibi pek çok hücre tipinde sentezlenebilir	Mast hücrelerinde, plateletlerde, pankreasın $\beta$ -hücrelerinde, damar düz kas hücreleri ve endotelinde bulunurlar	Sinir sistemi, adrenal bez, nonadrenerjik-nonkolinerjik nöronlar ve astrositlerde bulunurlar
LPS, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , IL-1, IL-2, lipoteikoik asit ve pikolinik asit tarafından aktive edilebilir	Serotonin ve trombin tarafından aktive edilebilir	Ca <sup>2+</sup> iyonları, Asetil kolin, bradikinin, histamin, lökotrinler ve PAF tarafından aktive edilebilir
7. kromozomdan sentezlenir	12. kromozomdan sentezlenir	17. kromozomdan sentezlenir



polimorf çekirdekli lökosit kemotaksisini baskılar. cGMP'nin inaktivasyonu bir fosfodiesteraz ailesi tarafından (Güanozin monofosfat) GMP'ye dönüştürülerek gerçekleşir (100).

Patolojik şartlarda ise, iNOS' ın aracılık ettiği NO üretimi söz konusudur ve sentezlenen NO aynı olduğu halde, üretilen NO miktarı ve üretim süresi farklıdır. Bu fark oluşan NO 'nun başka etkilerini de ortaya çıkarmaktadır. NO bu durumda hedef hücrede, çoğu solunum zincirinde ve nükleik asit sentezinde rol alan bir grup enzimi inhibe etmektedir. Bu baskılanma NO'ya maruz kalan hücrenin ölümüne neden olmaktadır. Patolojik şartlarda gerçekleşen olaylar;

1. Hem demirine bağlanma (Oksido redüktazların, NADP ubikinonun, süksinat ubikinonun baskılanması)
2. Demir-sülfür merkezine bağlanma (cis-akonitaz, ribonükleotid redüktaz baskılanması)
3. ADP ribozilasyonunun baskılanması
4. Deaminasyon (nükleik asit sentezinin bozulması)
5. Radikallere bağlanma (süperoksit radikale bağlanıp peroksinitrit radikali oluşturma)

Diğer yandan iNOS aktivitesi sonucu ortaya çıkan fazla miktardaki NO yalnızca patojenlerin ortadan kaldırılmasına neden olmamakta, organizmaya da zarar vermektedir. Örneğin septik şoktaki hipotansiyondan aşırı üretilen NO sorumludur ve NO sentez inhibitörleri bu hipotansiyonu düzeltebilmektedir. Bu nedenle NO'nun artığı patolojilerde NO üretiminin azaltılması yaşamsal önem taşımaktadır. L-Arginin analogları (L-NAME, L-NMMA, NARG) yalancı ön madde olarak NO sentezini engellemektedirler. NO'un endojen inhibitörü olan asimetrik dimetilarginin (ADMA), NO yetersizliği söz konusu olan patolojilerde, etyolojiden sorumlu tutulmasının yanında; aşırı NO üretiminin engellenmesinde yeni bir yaklaşım olarak da ortaya atılmıştır.



Diğer yandan NO eksikliğinin olduğu düşünölen patolojilerde (anjina pektoris, miyokard infaktüsü, pulmoner hipertansiyon, yeni doğan veya yetişkin solunum sıkıntısı, kronik obstrüktif akciğer hastalıkları, impotans) NO'in yerine konması söz konusudur. Yeni doğan veya yetişkin solunum sıkıntısında NO'in gaz olarak solutulması tedavi edicidir.

Çok eskiden beri koroner kalp hastalıklarının tedavisinde kullanılan nitrovazodilatörler aslında birer NO vericisidirler. cGMP' ye özgü fosfodiesterazı (PDE-5) inhibe eden sildenafil impotans tedavisinde kullanılmaktadır. NO'in ön mnaddesi L-argininin, NO eksikliği olan durumlarda yararlı olabileceği düşünölmüştür. Ancak vücutta L-arginin kaynakları yeterince vardır ve ayrıca L-arginin sadece NO sentezi için kullanılmamaktadır. L-arginin, arginaz, arginin-glisin transaminaz, kyotorphinesentetaz, nitrik oksit sentetaz için substrattır. Arginin dekarboksilaz argininden agmatin sentezler ve agmatin santral alfa-2 reseptörlerinin nonkatekolamin endojen ligandır. Bu mekanizma L-argininin hipotansif etkisinde önemlidir ve NO sentezine ek olarak kan basıncının düzenlenmesinde işlev görebileceğini düşöndürmektedir (93, 94, 100, 101).

### **2.11. Kupffer Hücreleri ve Hepatositler**

LPS (Lipopolisakkarit) ve çeşitli sitokinler ile uyarılmış Kupffer hücreleri, hepatositlerde NO oluşturmakta ve oluşan NO hepatositlerdeki protein sentezini baskılayarak sitotoksik etki göstermektedir. Bu etki L- arg analoglarıyla baskılanmaktadır (99, 102, 103).

NO'in vasköler tonus, trombosit fonksiyonu, kısa ve uzun süreli immunolojik hafıza, hepatosit fonksiyonları ve septik şok gibi birçok fizyolojik veya fizyopatolojik durumda hücre fonksiyonları üzerinde mediyatör, aracı ya da düzenleyici rolü vardır (104, 105).

Gastrointestinal sistemde ise, mukozal kan akımı, mukozal proteksiyon, müsküler tabakanin relaksasyonu ve hepatosit sentez fonksiyonunda rol alır. İnsanda, sepsis ve sirozda serum LPS konsantrasyonu ile orantılı olarak nitrit ve nitrat düzeyinde artma saptanmıştır (106, 107). Oral absorbe olması gç antibiyotik verildiğinde, hem LPS hem de nitrit ve nitrat düzeyinde azalma görülür.

Endotoksemide, NO'in bir aktif radikal olarak karaciğer hresi üzerindeki etkilerine yönelik birçok çalışma yapılmıştır. şiddetli travma, major operasyon ve sepsisteki cerrahi hastalarda karaciğer fonksiyonlarda önemli değişiklikler ortaya çıkmaktadır. Bunlardan bazıları hepatik akut faz yanıtı gibi fizyolojik ve adaptiftir, diğerleri ise patolojik olup multisistem organ yetmezliği ile birlikte seyredabilen hepatoselüler disfonksiyona kadar uzanır (108).

Sepsise bağlı multi sistem organ yetmezliği bulunan hastalarda bu karaciğer disfonksiyonu, serum albuminde azalma, bilirubin ve karaciğer enzimlerinde artma ile kendini gösterir (109). Hepatosit disfonksiyonundaki mekanizma tam olarak bilinmemektedir, ancak buna makrofaj ve Kupffer hrelerinden sitokinlerin etkisiyle salınan mediyatörlerin neden olduğu düşünülmektedir.

Endojen NO hre kültürlerindeki hepatosellüler fonksiyonu modüle etmektedir. Hre kültürlerinde endotoksine yanıt olarak Kupffer hrelerinden salınan NO hepatosit protein sentezini inhibe etmektedir (110, 111). Aktive olmuş Kupffer hrelerinin ürünleri özellikle sitokinler, hepatositlerden NO salınımını tetiklemekte (112) ve NO yine hepatosit protein sentezini inhibe etmektedir. Protein sentez inhibisyonundaki mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Muhtemelen mitokondrial respirasyonun inhibisyonu ya da mRNA'nın işlenmesindeki enzimatik basamakların modülasyonu ile olmaktadır. Aktive olmuş makrofajlardan salınan endojen NO, endotoksin ya da ilaçların aracılık ettiği hepatotoksisitede yer alır. Sitokrom p450 enzimlerine bağlanarak enzim

aktivitesini değiştirir ve ilaç aracılı hepatotoksisiteyi artırır (109). NO, bazı deneysel modellerde gösterildiği üzere antioksidan olarak etki edip karaciğeri oksidatif hasardan korumaktadır (113). Buna karşılık, yine bazı çalışmalarda gösterildiği üzere NO' in reaktif ara ürünler oluşturarak oksidatif karaciğer hasarını belirginleştirdiği ileri sürülmüştür (114).

Son zamanlarda elde edilen verilere göre hepatositler ve komşu Kupffer hücreleri, indüklenebilen bir şekilde L-arginin'den NO sentezleyebilmektedir (110). Kupffer hücreleri diğer makrofajlar gibi, LPS ile stimüle edildiğinde NO sentezlemektedir (115). Yine hepatositler aktive olmuş Kupffer hücrelerinin etkisiyle fazla miktarlarda NO retmektedir. İn vivo, C.parvum enjeksiyonu ile hepatositlerden salınan NO' in, yoğun karaciğer inflamasyonuna neden olduğu saptanmıştır (116). İn vitro olarak hepatositlerden salınan NO' in total protein sentezinde baskılanma yaptığı gösterilmekle beraber, bu maddenin karaciğer hücrelerinde sebebiyet verdiği hasarın nedeni ya da hasara yol açıp amadığđ tam olarak bilinmemektedir.

## **2.12. Nitrik Oksit ve Lipit Peroksidasyonu**

Çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı, lipit peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerlerler. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüz dr (88). MDA, reaktif oksijen türlerinin hücre zarıyla etkileşiminden kaynaklanan membran lipit peroksidasyonunun bir belirtici olup, membranda hasarlanmaya yol açarak, hücredeki yaşam dengesinin bozulmasına yol açabilir. Hücre zarında hasarlanma, işlev bozukluğu ve hücreler arası neksus haberleşmesinin kaybđ, kalsiyum ve diğer iyon taşıma sistemlerinin de kaybına yol açar (117).

Üç veya daha fazla çift bağ ihtiva eden yağ asitlerinin peroksidasyonunda tiyobarbitürik asitle ollebilen MDA meydana gelir. Bu reaksiyon, lipit peroksit seviyelerinin ollmesinde sıklıkla kullanılır. Lipit

peroksidasyonu, çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Doğrudan hücre zarı yapısını bozma ve dolaylı olarak da reaktif aldehitler üretme yoluyla, diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Peroksidasyonla oluşan MDA, hücre zarı bileşenlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna sebep olur. Bu durum iyon taşınması, enzim etkinliği ve hücre yüzey bileşenlerinin birikimi gibi iç kaynaklı membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler, MDA'nın niçin mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar (89).

Nitrik oksitin ve onun peroksinitritle girmiş olduğu reaksiyonun bir ürünü olan peroksinitritin (ONOO<sup>-</sup>), toksik hedef molekül reaksiyonlarına yol açtığı gösterilmiştir. Bu maddelerin üretimi inflamasyon veya diğer patolojik olaylar esnasında genellikle artmaktadır (118). Nitrik oksidin, lipit peroksidasyonunu hem artırıcı ve hem de engelleyici bir yönü vardır. Nitrik oksit, lipit peroksit radikallerini yakalayıcı işlevi yönüyle lipit peroksidasyonuna ait zincir reaksiyonlarını önleyici etkiye sahiptir ve aynı zamanda, peroksidaz enzimleri gibi pek çok potansiyel tetikleyici unsurları da engelleyebilmektedir. Fakat ortamda süperoksidin bulunması durumunda, nitrik oksit peroksinitrit sentezine yol açmakta ve lipit peroksidasyonunu başlatıcı etki göstermektedir (119).

Karbon tetraklorürün nitrik oksidi engelleyen L-NAME ve aminoguanidinle birlikte verildiği bir çalışmada, nitrik oksidin engellenmesinin karaciğerdeki oksidatif hasarlanmayı artırdığı bulunmuştur (120).

### 3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmanın deneysel kısmı Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirildi.

#### 3.1. MATERYAL

##### 3.1.1. Deney Hayvanları

Çalışmada ağırlıkları 160–220 gram arasında değişen, toplam 40 adet Wistar albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Deney süresince sıçanlara yeteri kadar (ad libitum) su ve yem (Yem Kurumu Standart Sıçan Yemi) verildi.

##### 3.1.2. Kullanılan İlaç

Oksamen-L flakon 20 mg (Mustafa Nevzat İlaç)

##### 3.1.3. Biyokimyasal Çalışma İçin Kullanılan Malzemeler

1. Soğutmalı santrifüj : Eppendorf MR5415 (Almanya )
2. Santrifüj : Nüve-NF 815 (Türkiye)
3. Derin dondurucu : Scientific Snijders (Hollanda)
4. Hassas terazi : Scaltec (İsviçre )
5. Vorteks : Nüve NM 100 (Türkiye)
6. Otomatik pipetler : Eppendorf (Almanya), Gilson (Fransa)
7. Spektrofotometre : Shimadzu UV 1201V 1600 (Japonya)
8. Hemogram Cihazı : Coulter Max M (İngiltere )
9. Homojenizatör : Ultra Turrax T25 (Almanya )
10. pH metre : Hanna Instruments (Portekiz )
11. Manyetik karıştırıcı : Nüve (Türkiye)
12. Elektroforez Cihazı : EC 250 (ABD)
13. U.V Transilluminator 2000 : Biorad

## **Kimyasal maddeler**

### **Süperoksit dismutaz tayini için kullanılanlar**

- 1-Potasyum dihidrojen fosfat Merck (Almanya)
- 2-Disodyum hidrojen fosfat dihidrat Merck (Almanya)
- 3-CAPS Sigma (Almanya)
- 4-INT Sigma (Almanya)
- 5-Ksantin Merck (Almanya)
- 6-Ksantin oksidaz Sigma (Almanya)

### **Lipit peroksidasyonu tayini için kullanılanlar**

- 1- Trikloroasetik asit (TCA) Merck (Almanya)
- 2- Tiyobarbitürik asit (TBA) Merck (Almanya)

### **3.1.4. Kullanılan Çözeltiler**

#### **SOD tayini için kullanılanlar:**

**1-CAPS tamponu** (pH=10.2), 50mM: 5.5g CAPS tartılıp 400 ml distile suda çözülüp pH'ı 10.2' ye ayarlandıktan sonra hacmi 500 ml ye tamamlandı. 0.94 mM EDTA (0.35g ) tartıldı ve tamponun son hacmi 1000 ml ye distile suyla tamamlandı.

**2-Ksantin çözeltisi** (0,05mM): 3,80 mg ksantin tartılır ve hacmi 40 mM CAPS tamponu (0,94 mM EDTA içeren; pH= 10,2) ile 500 mL'ye tamamlanır. Çözelti, 0,025mM 2-(4-iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5- feniltetrazolyum klorür (INT) içermektedir ve +2- +8 °C'da muhafaza edildiğinde 10 gün süreyle kararlıdır.

**3-Ksantin oksidaz çözeltisi** (80U/L): 32 µL ksantin oksidaz standardından alınır, 10 mL bidistile su ile seyreltilir. Çözelti, günlük hazırlanır.

**Lipit Peroksidasyonu tayini için kullanılanlar:**

**1-TCA çözeltisi (%10 ):** 10 g TCA tartılıp, bir miktar distile suda eritilir ve son hacim 100 ml' ye tamamlanır.

**2-TBA çözeltisi (%0.67):** 0.67 g TBA tartılıp, bir miktar distile suda eritilir ve son hacim 100 ml' ye tamamlanır.

**3.2. Metot****3.2.1 Deney Planı**

Çalışmada, her grupta 10 sıçan (n=10) olmak üzere üç ayrı deney grubu ve bir kontrol grubu oluşturuldu ve toplam 40 sıçan (n=40) kullanıldı. Deney planı tablo l' de verilmiştir.

**Grup I (Kontrol grubu):** Serum fizyolojik, 10 gün boyunca her gün 0,1 ml intramüsküler olarak verildi.

**Grup II (10 mg/kg verilen grup):** Tenoksikam, 10 gün boyunca her gün 10 mg/kg intramüsküler olarak uygulandı. (121)

**Grup III (20 mg/kg verilen grup):** Tenoksikam, 10 gün boyunca her gün 20 mg/kg intramüsküler olarak uygulandı. Bu süre içinde deney hayvanlarından dört tanesi öldü. (7.gün(2), 9.gün(2))

**Grup IV (40 mg/kg verilen grup):** Tenoksikam, 10 gün boyunca her gün 40 mg/kg intramüsküler olarak uygulandı. Bu süre içinde deney hayvanlarından dokuz tanesi öldü. (3. gün (1), 4.gün (2), 5.gün (1), 7.gün (2), 9.gün(2), 10.gün(1))

Deneyin başlangıcında ve 10. gün (deneyin bitiminde) sıçanların ağırlıkları ölçüldü.

**Tablo 4:** Sıçanların deney süresince ağırlık değişimleri (g)

Kontrol	Deney Başlangıcı	Deney Sonu	10mg/kg	Deney Başlangıcı	Deney Sonu
I	165	135	I	166	149
II	160	160	II	172	150
III	152	152	III	178	144
IV	145	145	IV	171	146
V	168	164	V	169	141
VI	155	149	VI	150	157
VII	148	141	VII	155	136
VIII	156	147	VIII	175	130
IX	145	140	IX	151	125
X	139	100	X	156	107

20mg/kg	Deney Başlangıcı	Deney Sonu	40mg/kg	Deney Başlangıcı	Deney Sonu
I	178		I	216	
II	179		II	195	
III	182		III	197	
IV	183	177	IV	199	118
V	189		V	203	
VI	177	114	VI	186	
VII	180	166	VII	224	
VIII	186	178	VIII	229	
IX	181	182	IX	212	
X	183	185	X	189	



**Tablo 5:** Hayvanlara ait ağırlık ortalama değerleri (g)

	Deney Öncesi	Deney Sonrası
Kontrol	153,30 ± 9.31	143,30 ± 17.61
Grup I (10 mg/kg)	164,30 ± 10.37	138,50 ± 14.65
Grup II (20 mg/kg)	181,80 ± 3.68	167,00 ± 14.97

**Tablo 6:** Hayvan ağırlıklarının istatistiksel karşılaştırması

	Deney Öncesi ve Sonrası Kilo Karşılaştırması
Kontrol	p > 0,05
Grup I	p > 0,05
Grup II	p > 0,05

Deney bitiminde, intramüsküler olarak uygulanan % 10'luk ketamin IM (Alfamin Alfasan IBV.)-% 2'lik ksilazin (Alfazin, Alfasan IBV.) anestezisi altında batın açılarak karaciğerleri alındı. Alınan karaciğerin bir kısmı biyokimyasal ölçümler için ayrılarak fosfat tamponuna konuldu. Karaciğerin geri kalan kısmı ise histolojik ve immünohistokimyasal çalışma için %10'luk nötral formaldehite konularak tespit edildi.

**Tablo 7:** Deney planı

Deney Grupları	Hayvan Sayısı	Tedavi	Doz	Süre
I	10	Kontrol	-	10 gün
II	10	Tenoksikam	10 mg/kg	10 gün
III	10	Tenoksikam	20 mg/kg	10 gün
IV	10	Tenoksikam	40 mg/kg	10 gün

### 3.2.2. Doku takip çalışmaları

%10'luk nötral formalin solüsyonunda, immersiyon fiksasyon yöntemi uygulanan doku örnekleri tespitten sonra bir gece akan suda yıkama işlemine tâbi tutulduktan sonra aşağıda gösterilen işlemlerden geçirildi.

#### A) Dehidratasyon

<u>Alkol derecesi</u>	<u>Süre</u>
%70	1 gece
%80	1 saat
%90	1 saat
%96	1 saat
%100	1 saat
%100	1 saat

#### B) Şeffaflandırma

Ksilol	1/2 saat
Ksilol	1/2 saat

#### C) Emdirme

Ksilol+parafin (60 °C etüvde)	15 dakika
Yumuşak parafin (60 °C etüvde)	1 saat
Sert parafin (60 °C etüvde)	4 saat

#### D) Gömme

Sert parafin

Hazırlanan parafin bloklardan, Leica tipi kızaklı mikrotom kullanılarak 4 mikron kalınlığında kesitler alındı. Histolojik değerlendirme için preparatlar Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Boyanan örnekler Olympus BX50 tipi binoküler mikroskopta incelendi ve fotoğraflar elde edilerek değerlendirildi.

### **3.2.3. İmmunohistokimyasal Çalışmalar**

#### **a) Kesitlerin elde edilmesi:**

Elde edilen tüm doku örnekleri, %10 'luk formalin solusyonuna alındı. Dokular en fazla 24 saat formalin solüsyonunda bekletildi. Daha sonra yukarıda sayılan rutin histolojik yöntemler kullanılarak dokular parafine gömüldü. Mikrotom (Leica tipi kızaklı mikrotom) ile alınan 4 µm kalınlığında seri kesitler lizinli lamlara alındı.

#### **İmmün boyamada kullanılan kimyasal maddeler:**

##### **Primer (poliklonal) antikor:**

iNOS (Epitope Spesific Rabbit Antibody) Labvision Fremont CA 94539  
USA

Dilüsyon solüsyonu olarak fosfat tampon solüsyonu (PBS; Phosphate Buffer Soluation) kullanılmıştır. Bu solüsyonun hazırlanışı aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

##### **Sekonder antikor:**

Biotinylated Goat Anti-Polyvalent- Labvision TP-125-BN

**Fosfat Tampon Solüsyonu (PBS; Phosphate Buffer Solutaion):**

- Sodiumdihydrogen phosphatemonohydrate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ; K.N:3090, Merck) 1,37gr.
- Sodiumdihydrogen phosphatedihydrate ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; K.N: 6345, Merck) 1,56gr.
- Sodium chloride ( $\text{NaCl}$ ; K.N: 6048, Merck) 8,76gr
- Distile su 1000ml.

**Sitrik Asit Solüsyonu:**

- Sitrik asit 2,1 gr.
- Distile Su 1,0 lt.

Hazırlanışı:

- Sitrik asit distile su içinde eritilir ve karıştırılır. pH: 6 olacak şekilde 2M NaOH ilave edilir.

**Hidrojen Peroksit Solüsyonu (%3) :**

- Methanol 5,4 ml.
- Hidrojen Peroksit 0,6 ml.

Hazırlanışı:

- Methanol ve Hidrojen Peroksit karıştırılır.

**Kromojen :**

- DAB (diaminobenzidin) (Ultravision Detection System) Large Volume DAB Substrate System

Bu madde, sekonder antikor olarak kullanılan Horseradish-peroksidaz enziminin substratı olarak kullanıldı.

**Zıt Boyama:**

- Zıt boyamada amaç dokudaki antijenik olmayan hücre ve hücre yapılarını boyamaktır.
- Mayer hematoksilen ile yapıldı.

**İmmünohistokimyasal Boyama Yöntemi:**

- 4 µm kalınlığında ede edilen parafin kesitler etüvde 37 °C' de etüvde bir gece bekletildi.
- Deparafinizasyon işlemi için 20 dakika ksilende tutuldu.
- Dehidratasyon işlemi için 20 dakika % 100 alkolde tutuldu.
- Distile sudan geçirildi.
- Antijen retrieval uygulaması için citrate buffer tamponu içinde Labvision PT Modulle cihazında 98°C de 20 dakika ısıtıldı, 20 dakika oda ısısında soğutuldu.
- Distile sudan geçirildi.
- Dakopen ile çevrelenen dokulara nemli ortamda %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 20 dakika süreyle uygulandı.
- PBS' de yıkandı.
- Ultra V blok ile 5 dakika inkübe edildi.
- Dokular 1 saat süreyle oda ısısında primer antikor iNOS (Epitope Spesific Rabbit Antibody) Labvision Fremont CA 94539 USA ile 1/50 dilüsyonda inkübe edildi.
- PBS'de yıkandı.
- Sekonder antikor Biotinylated Goat Anti-Polyvalent- Labvision TP-125-BN ile 20 dakika muamele edildi.
- PBS'de yıkandı.
- Streptavidin damlatılır (20 dakika).
- PBS'de yıkandı.
- Daha sonra dokuların üzerine DAB damlatılır (5–10 dakika).
- Distile su ile yıkandı.

- Hematoksilen ile zıt boyama yapılır (1 dakika).
- Distile su ile yıkandı.
- Dehidratasyon için, sırasıyla; %80, %96, %100'lük alkollerde 5' er dakika bekletildi.
- 2x5 dakika ksilolde şeffanlandırıldı.
- Entellan kullanılarak kapatma işlemi gerçekleştirildi.
- Kontrol amacıyla, her poliklonal antikör için birkaç kesit primer antikör basamağı atlanarak (dokulara PBS damlatıldı), izleyen basamaklara geçildi.

### 3.2.3.1. Değerlendirme:

İmmünohistokimyasal boya uygulanmış sıçan karaciğer kesitlerinde iNOS ekspresyonunu saptamak için iki basamaklı işlem gerçekleştirildi. Öncelikle, mevcut benzer çalışmalar (121, 122) örnek alındı, incelenen dokular aşağıdaki tabloda belirtildiği gibi değerlendirildi. Bu amaçla, aşağıdaki skala kullanıldı, dört ayrı gözlemci tarafından değerlendirildi.

(-) : Boyanma yok

(-/+): Az boyanma

(++) : Orta derecede boyanma

(+++): İyi boyanma

### 3.2.4. Biyokimyasal Çalışmalar

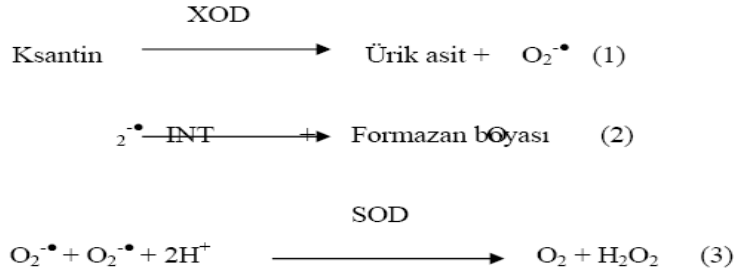
#### 3.2.4.1. Dokuların Biyokimyasal Ölçümlere Hazırlanması

Karaciğer doku numuneleri düzeyi kanın uzaklaştırılması amacıyla önce fosfat tamponuyla yıkandı, daha sonra çalışılmak üzere tartılarak, 1/9 oranında 0.1 M fosfat tamponuyla karıştırılarak buz üzerinde, homojenizatörle 10.000 devir/dk'da 1dk homojenize edildi. Homojenize edilen

örnekler 5000 g' de +4°C' da soğutmalı santrifüjde 5 dk santrifüj edildi. Homojenize edilen örneklerin süpernatantlarından biyokimyasal ölçümler yapıldı (123).

### 3.2.4.2. SOD (Total Süperoksit Dismutaz) Aktivitesinin Ölçümü

**Deneyin prensibi:** Woolliams ve arkadaşlarının metoduna dayanmaktadır (124). SOD çeşitli yollarla ortaya çıkan  $O_2^-$  (süperoksit) radikalinin  $H_2O_2$ 'e dismutasyonu reaksiyonunu katalizler. Ksantin–ksantin oksidaz (XOD) sistemi tarafından üretilen  $O_2^-$  (süperoksit) radikallerinin (reaksiyon 1) 2-(4-iodophenyl)-3-4-(4-nitrophenol)-5-phenyl tetrazolium chloride (INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazan boyasının (reaksiyon 2) 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin spektrofotometrik olarak okunması esasına dayanmaktadır. Optik dansitedeki azalmadan yararlanarak SOD tarafından reaksiyonun % inhibisyonu belirlendi.



**Deneyin Yapılışı:** 0,5 ml hemolizattan alınıp, % inhibisyonun %30–60 arasında olması için 0,1 mM fosfat tamponu ile 20 kat dilüe edildi. 0.025 ml hemolizata 0.850 ml 0.05 mM ksantin çözeltisi (0.025 mM INT içeren) ilave edildi. 0.125 ml ksantin oksidaz (80U/L) ilave edildikten hemen sonra 505 nm'de 37°C' de 30 saniyelik gecikme fazının ardından havaya karşı başlangıç absorbansı (A1) ve 3 dakika sonra da son absorbans (A2) okundu. Aynı işlemler kör denemeye de tekrarlandı.

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - \frac{\Delta A (\text{numune})/\text{dk}}{\Delta A (\text{kör})/\text{dk}} \times 100$$

Daha önce standart çalışılarak hazırlanan % inhibisyon-konsantrasyon grafiğinden yararlanılarak konsantrasyonlar saptandı. Enzim aktivitesi U/ml olarak bulundu. Bu değerler dilüsyon katsayısı ile çarpılıp hemoglobine bölünerek U/gHb birimi şeklinde sonuçlar verildi.

### 3.2.4.3. Lipit Peroksidasyon (TBARS = Tiobarbitürik Asit Reaktif Substans) Ölçümü

Lipit peroksidasyon ürünlerinden olan malondialdehit (MDA); Draper ve Hadley'in tiobarbitürik asit reaktivitesi metodu kullanarak ölçüldü (89). Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek, 532 nm de maksimum absorpsiyon veren renkli bir kompleks oluşturur.

**Deneyin yapılışı:** 0,5 ml örnek üzerine 2.5 ml %10 luk TCA eklenerek karıştırıldı. 15 dakika kaynatılıp soğutuldu. 5000 devir/dk' da 10 dk santrifüj edildi. 2 ml süpernatant alınıp, üzerine 1ml %0.67 lik TBA eklendi. Tüpler karıştırıldıktan sonra 15 dk kaynatıldı ve hemen soğutuldu. 532 nm de absorpsiyonları, numune yerine distile su konularak hazırlanan köre karşı okundu.

MDA-TBA kompleksinin 532 nm deki ekstinsiyon katsayısından ( $1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}, \text{M}^{-1}$ ) yararlanılarak nanomol/ml cinsinden MDA değerleri bulundu. Elde edilen değerler, hemoglobin değerine bölünerek sonuçlar nanomol/gr Hb olarak ifade edildi.



Doku örneklerinden hazırlanan homojenatlardan yukarıdaki prosedüre uygun olarak MDA düzeyleri çalışıldı, sonuçlar nanomol/mg protein olarak hesaplandı.

Sonuçlar aşağıdaki şekilde hesaplandı:

$$A = a \times b \times c$$

$$c = A / a \times b$$

$$c = \frac{A \text{ mol cm} \times 1 \times 10^9 \text{ nmol} \times L}{1.56 \times 10^5 L \text{ cm mol } 10^3 \text{ ml}}$$

$$c(\text{nmol/ml}) = A \times 57.69$$

A = absorbans

a = ekstinksiyon katsayısı

b = ışık yolu

c = konsantrasyon

### 3.2.5. İstatistiksel Çalışmalar

Histolojik çalışmaların istatistik değerlendirmeleri, SPSS 15.0 ve Instat 3.0 yazılımları kullanılarak yapıldı ve yarı nitel değerlendirmede Ki-kare testi kullanıldı. Biyokimyasal çalışmaların istatistik analizi, SPSS 15.0 ve Instat 3.0 yazılımları kullanılarak gerçekleştirildi. Çoklu grup karşılaştırmalarında parametrik olmayan testlerden Kruskal-Wallis testi, ikili grup karşılaştırmalarında Mann – Whitney U testi kullanıldı 0.05'in altındaki P değerleri, anlamlı olarak kabul edildi. Değerler, ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Histolojik Bulgular

Kontrol grubu ve deney grubuna ait karaciğer doku kesitlerinde incelenen yapısal değişiklikler [ gözlenen yapısal değişiklikler Abdel-Wahhab ve arkadaşlarının (125) yapmış oldukları skorlamaya göre değerlendirildi ], gruplar arasında gözlenen değişikliklerin “p” değerleri ise Tablo 8’ de verilmiştir.

Kontrol grubu sıçanlara ait karaciğer doku kesitlerinin histolojik incelenmesinde, bu organa ait histolojik yapılar dışında herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Hepatositler, portal alan ve sinüzoidler normal görünümdeydi (Resim 1).

10 mg/kg tenoksikam uygulanan sıçanların karaciğer doku kesitleri incelendiğinde kontrol grubuna göre hepatositlerde granüler dejenerasyon, nekroza giden hücre grupları, piknotik çekirdek ve perivasküler ve portal alanda mononükleer hücre infiltrasyonları gözlemlendi ( $p < 0.05$ ) (Resim 2).

20 mg/kg tenoksikam uygulanan sıçanların karaciğer doku kesitleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yapısal değişikliklerin 10 mg/kg tenoksikam verilen gruba göre arttığı belirlendi (Tablo 8). Bunlar, hepatositlerde granüler dejenerasyon, nekroza giden hücre grupları, piknotik çekirdek artışı, vasküler konjesyon, hemoraji, parankimde, portal ve perivasküler alanda mononükleer hücre infiltrasyonu ve safra kanalı proliferasyonunu içeriyordu (Resim 3).

40 mg/kg tenoksikam uygulanan sıçan karaciğer doku kesitleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deney grubunda hepatositlerde granüler dejenerasyonun 20 mg/kg’a göre hafifçe arttığı, bağ dokusu artışının olduğu, sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon, nekroza giden hücre gruplarının arttığı, vasküler konjesyonun belirginleştiği ve hepatositlerde piknotik çekirdek

sayısının arttığı, parankimde, perivasküler ve portal alanda mononükleer hücre infiltrasyonu ile safra kanalı proliferasyonu artışı gözlemlendi. (Resim 4)

Deneysel parametrelerin histolojik (yapısal) değerlendirilmesi skorlandı.

( - ) skor (negatif skor): hiçbir yapısal değişikliğin olmaması,

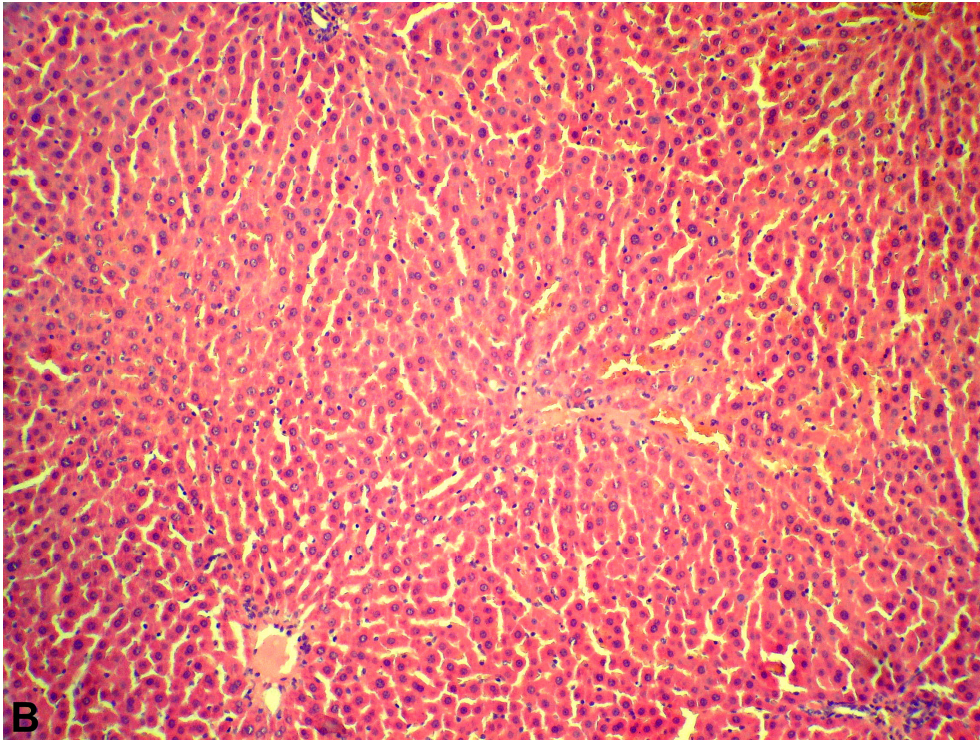
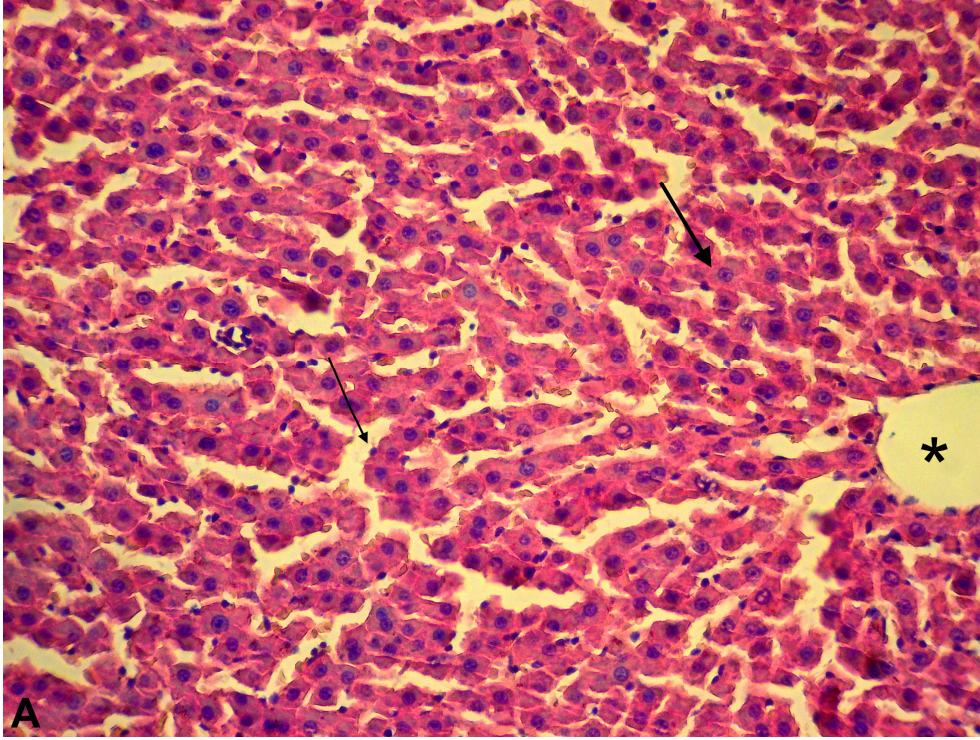
( + ) skor (1 pozitif skor): hafif derecede,

( ++ ) skor (2 pozitif skor): orta derecede,

( +++ ) skor (3 pozitif skor): ciddi derecede yapısal değişikliği ifade etmektedir (125).

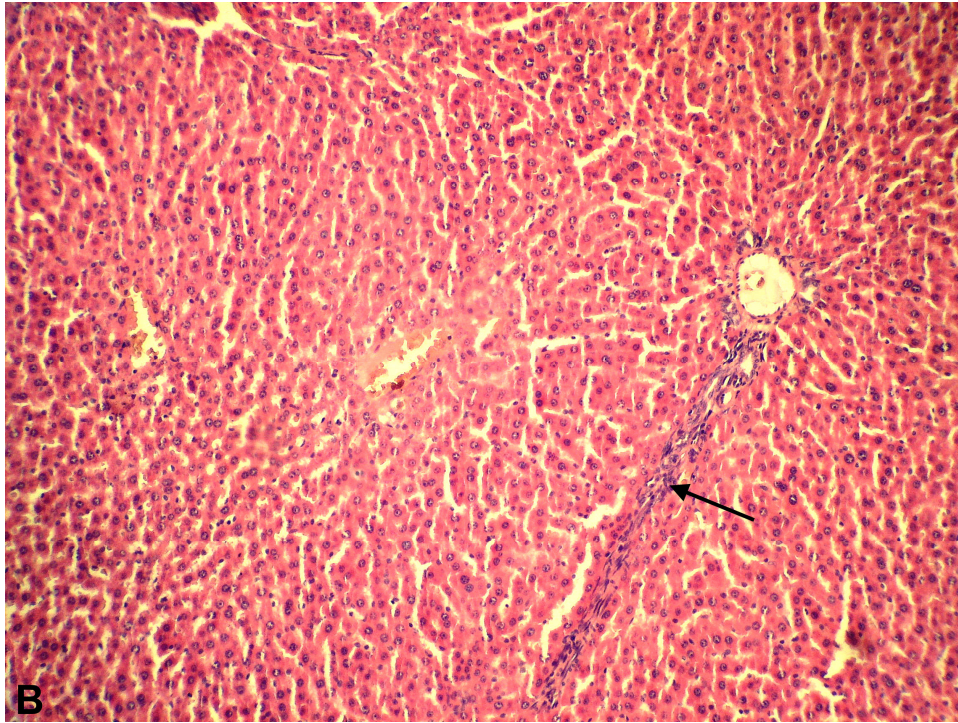
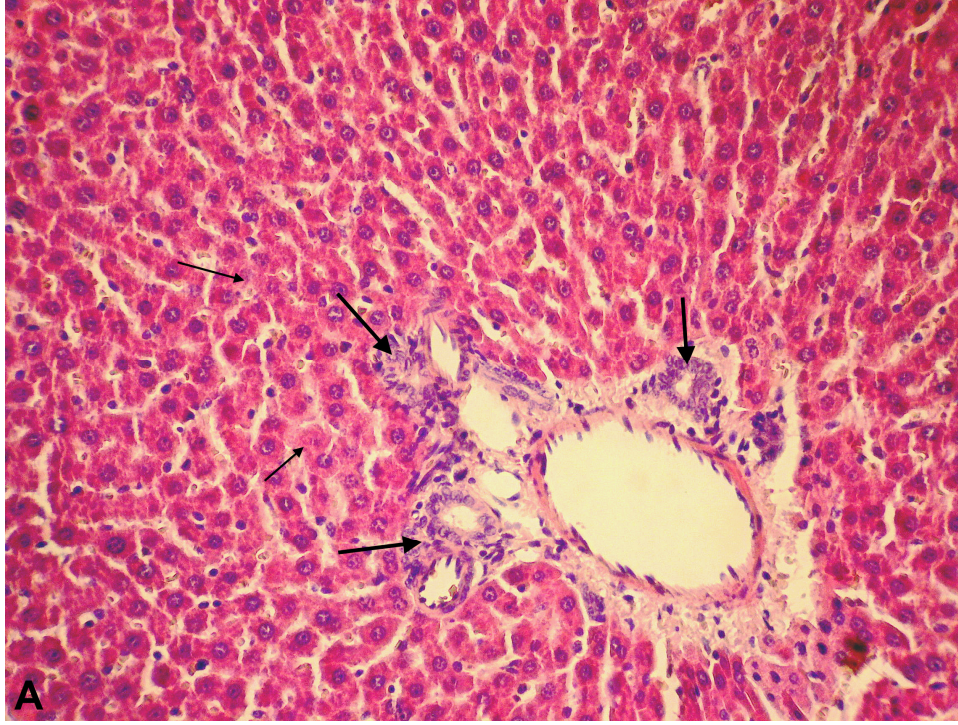
**Tablo 8:** Gruplar arasında gözlenen yapısal değişikliklerin Ki – kare testine göre p değerleri

	Hepatositlerde granüler dejenerasyon	Vasküler konjesyon	Perivasküler mononükleer hücre infiltrasyonu	Nekroza giden hücre grupları	Piknotik çekirdek	Parankimde mononükleer hücre infiltrasyonu	Portal alanda mononükleer hücre infiltrasyonu	Hemoraji	Safra kanalı proliferasyonu
Grup I-II	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P > 0,05	P < 0,05
Grup I-III	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05
Grup I-IV	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05
Grup II-III	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P < 0,05	P > 0,05	P < 0,05	P > 0,05	p > 0,05	P < 0,05
Grup II-IV	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P > 0,05
Grup III-IV	P < 0,05	P > 0,05	P < 0,05	P > 0,05	P > 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P < 0,05	P > 0,05



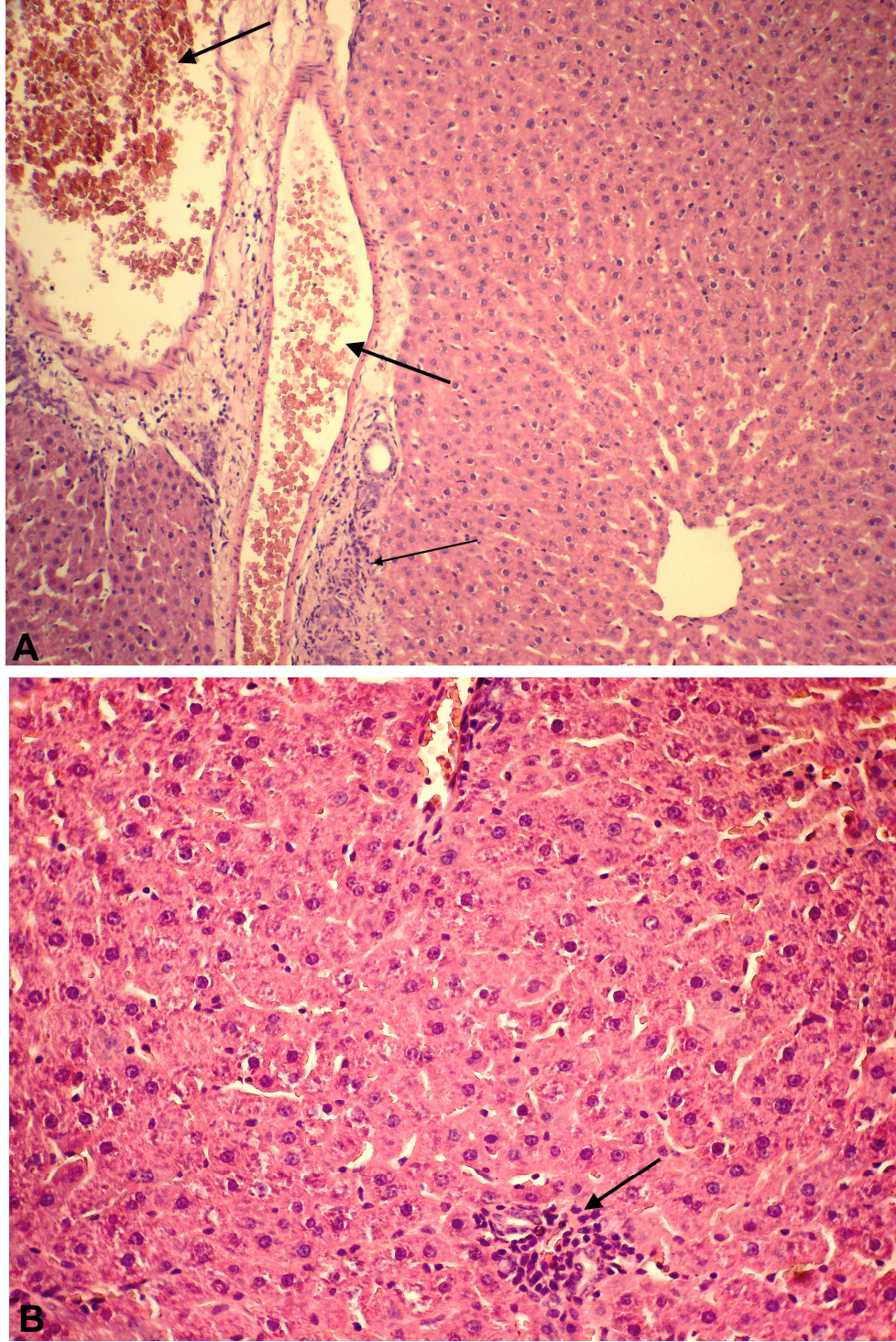
**Resim 1:** Kontrol grubuna ait sıçan karaciğer dokusu. Hepatositler (kalın ok), sinüzoidler (ince ok) ve santral ven (yıldız) normal görünümde izlenmekte (Hematoksilen-Eozin) (**A:** x20; **B:**x10).





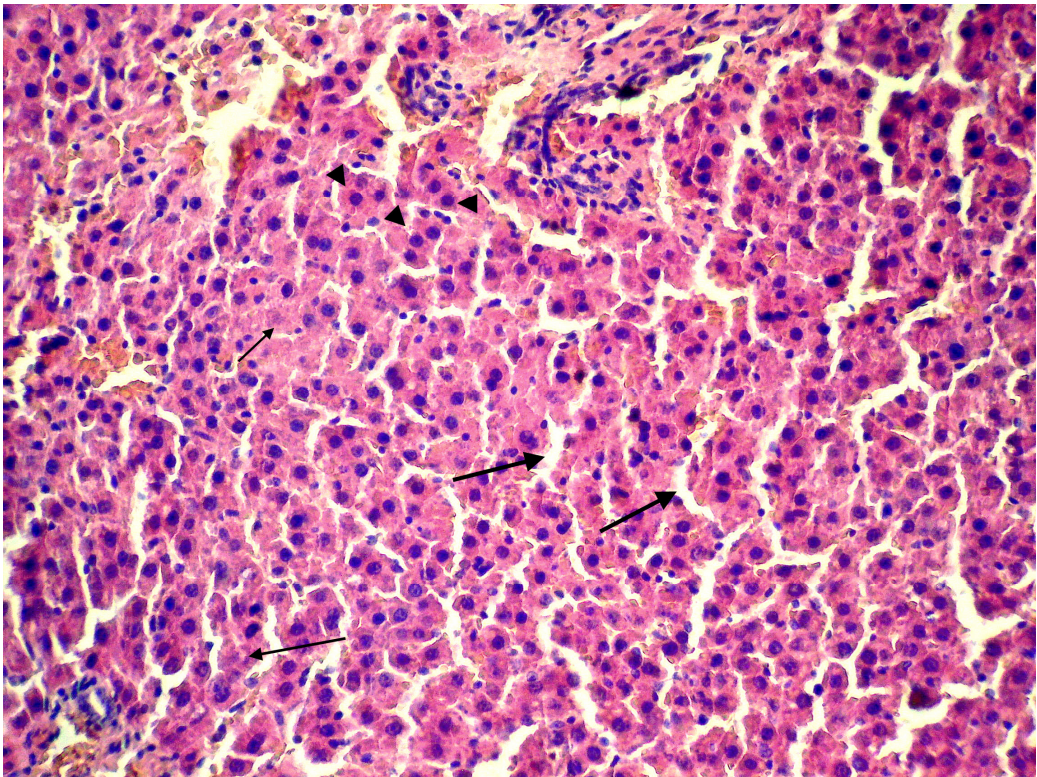
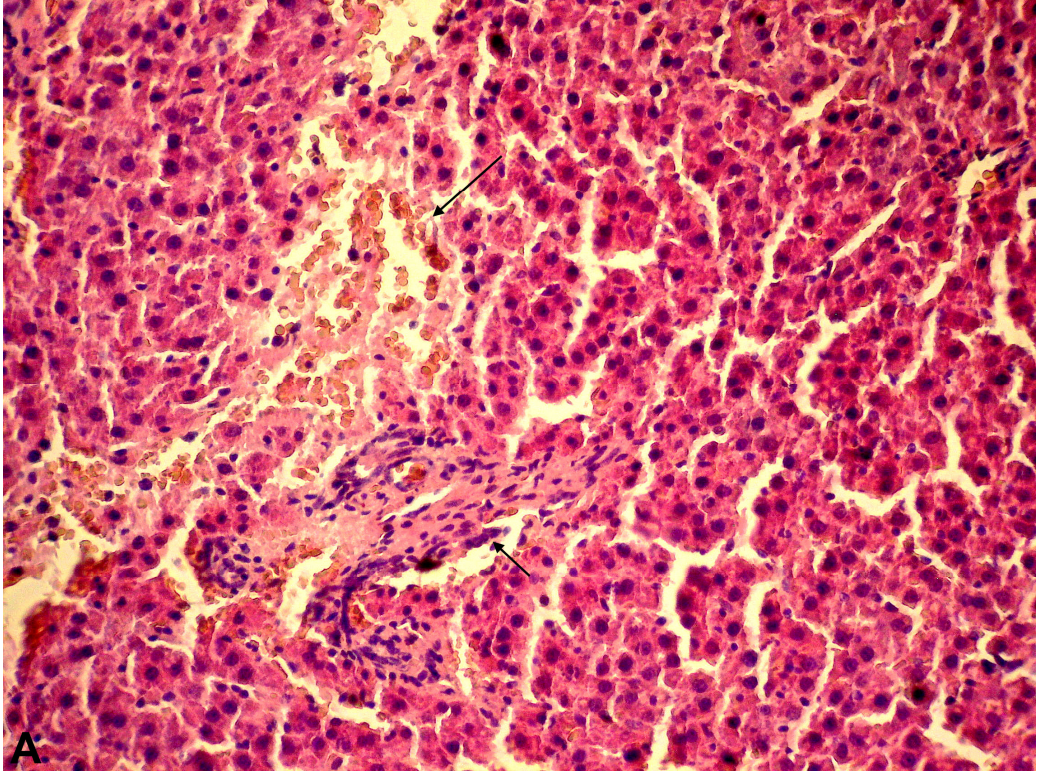
**Resim 2: 10 mg/kg tenoksikam uygulanan gruba ait sıçan karaciğer dokusu A:** Hepatositlerde piknotik çekirdek (ince ok), safra kanalı proliferasyonu (kalın ok). **B:** Portal alanda mononükleer hücre infiltrasyonları (kalın ok) gözlenmekte (Hematoksilen-Eozin) (**A:** x240, **B:** x120).





**Resim 3: 20 mg/kg tenoksikam verilen grup: A: Vasküler konjesyon (kalın ok), mononükleer hücre infiltrasyonu (ince ok). B: Parankimde mononükleer hücre infiltrasyonu (kalın ok) (Hematoksilen-Eozin) (A: x120, B: x240).**





**Resim 4: 40 mg/kg tenoksikam verilen grup: A:** Hemoraji (kalın ok), parankimde bağ dokusu artışı (ince ok) (x480) **B:** Sinuzoidal dilatasyon (kalın ok), granüler dejenerasyon (ince ok), piknotik çekirdek (ok başı) (x480)

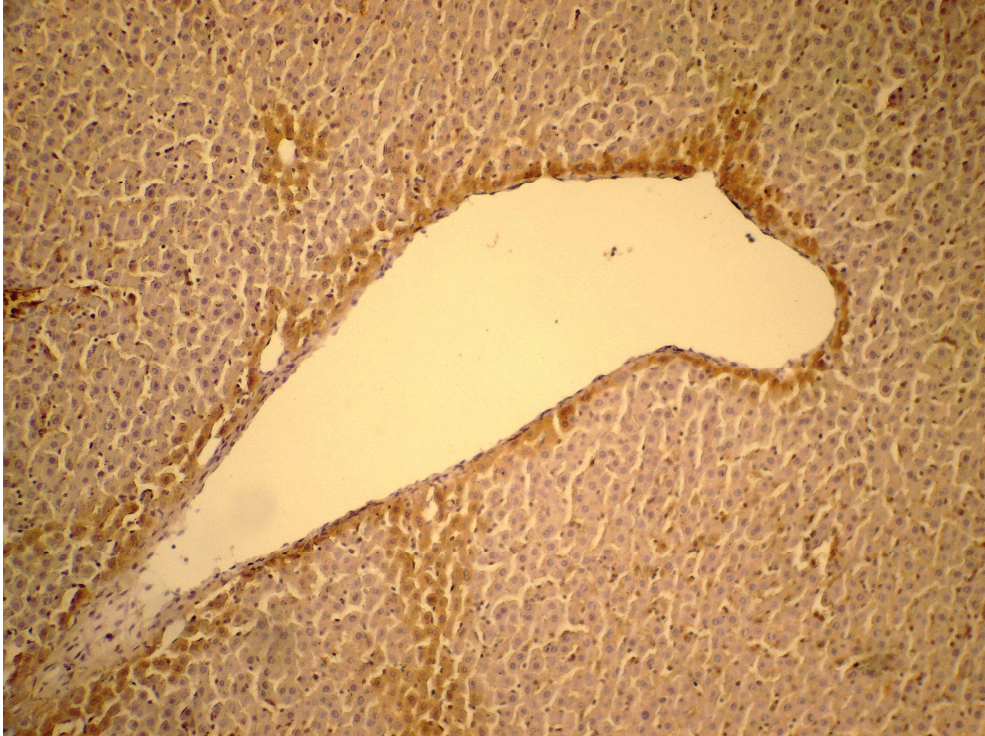
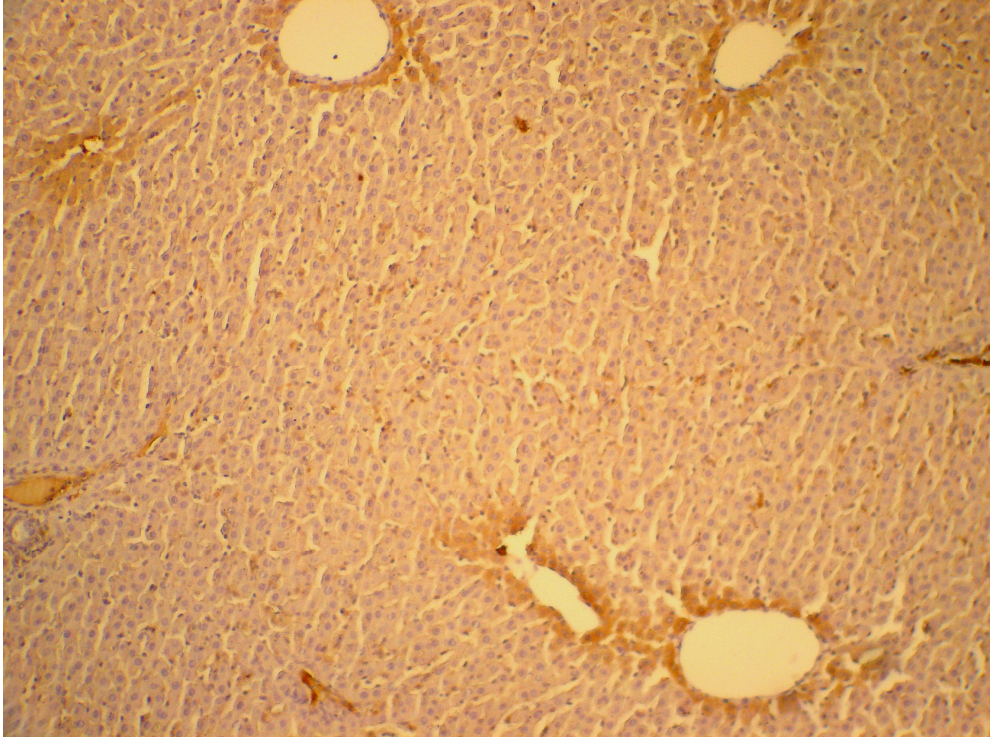
## 4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Doku kesitlerinin histopatolojik incelemesinde, kontrol grubundaki hayvanlara ait karaciğer dokularının sentrolobüler sahalarında iNOS reseptörlerinin çok az boyandığını gözledik (Resim 5). Bunun yanı sıra çalışma gruplarındaki doku kesitlerine ait immünohistokimya boyamalarında, 10 mg/kg verilen grupta (+) , 20 mg/kg verilen grupta (++) , 40 mg/kg verilen grupta ise (++) boyanma gözledik. Boyanma santral venlerin etrafında ve parankim içinde verilen ilaç dozuna (10, 20 ve 40 mg / kg) paralel olarak giderek artan şiddette idi.

**Tablo 9:** iNOS boyanma düzeyleri

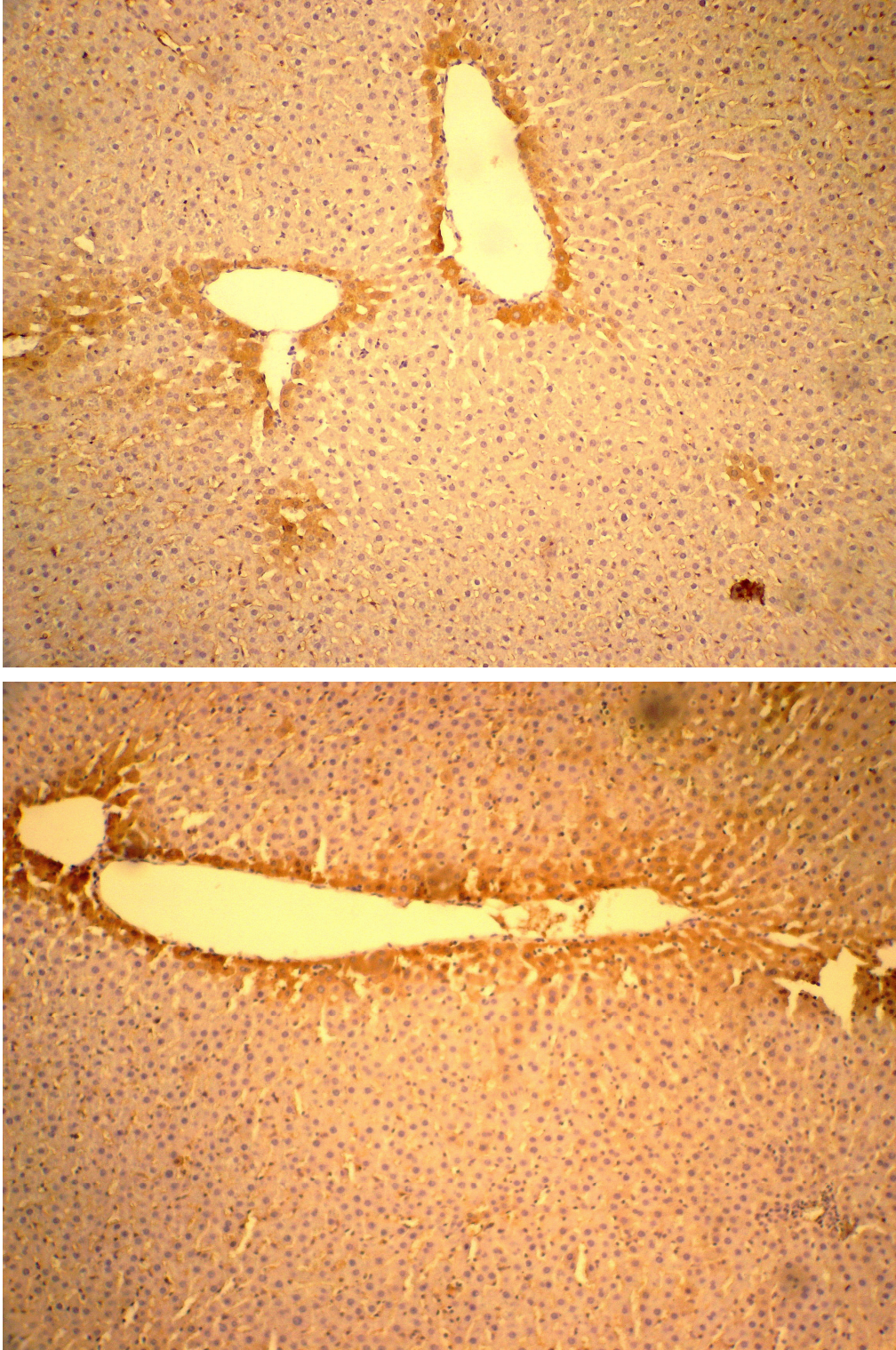
	Kontrol	10 mg/kg	20 mg/kg	40 mg/kg
Boyanma derecesi	-/+	+	++	++/+++





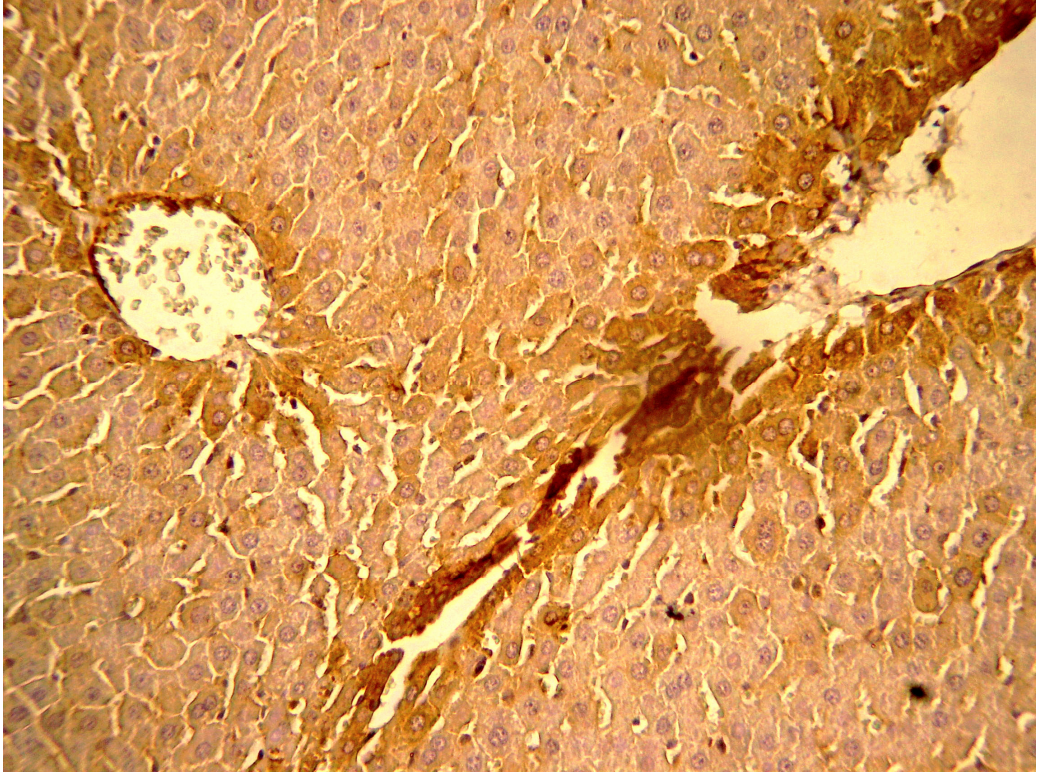
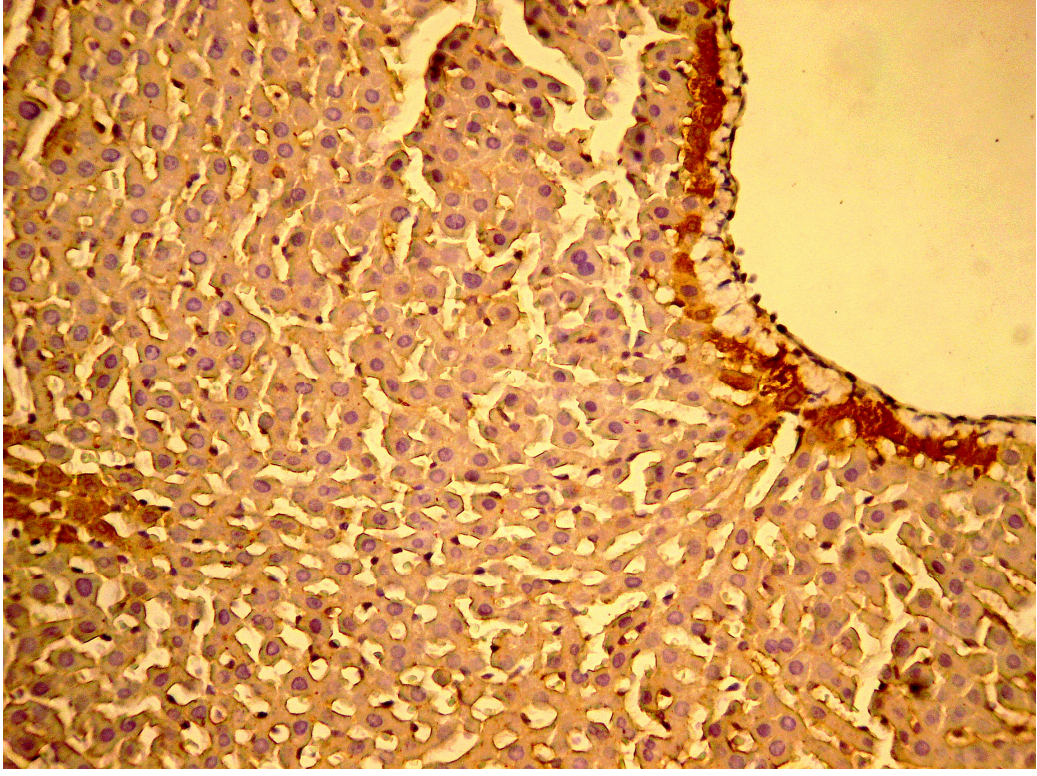
**Resim 5:** Kontrol grubunda yer alan sıçanlara ait karaciğer dokusu (iNOS immün boyama, x10).





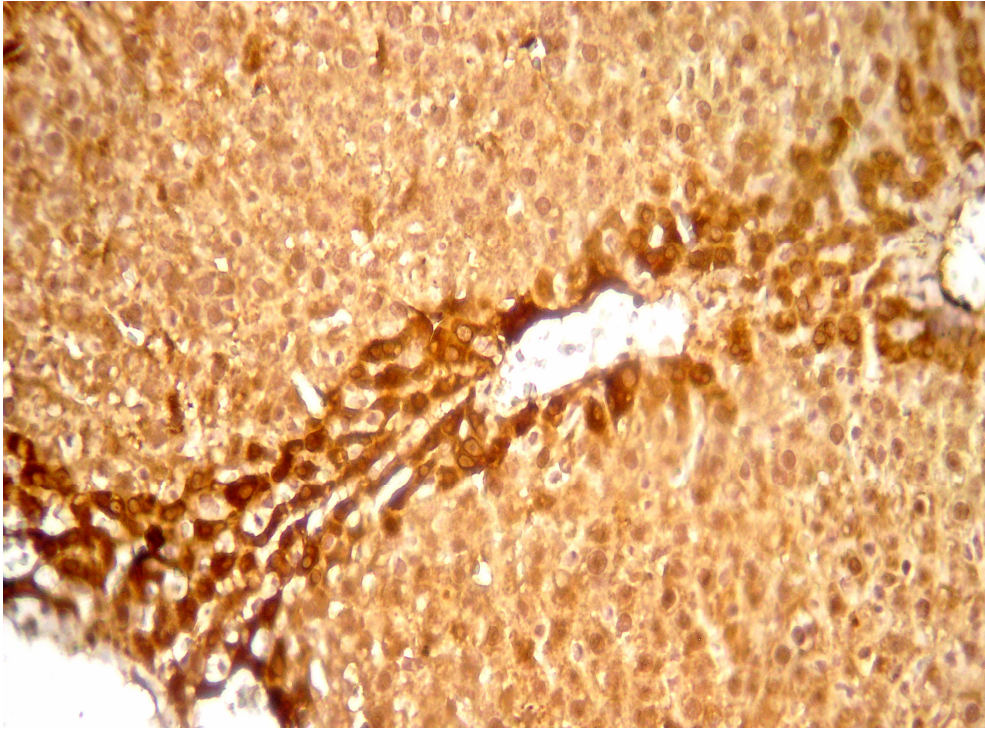
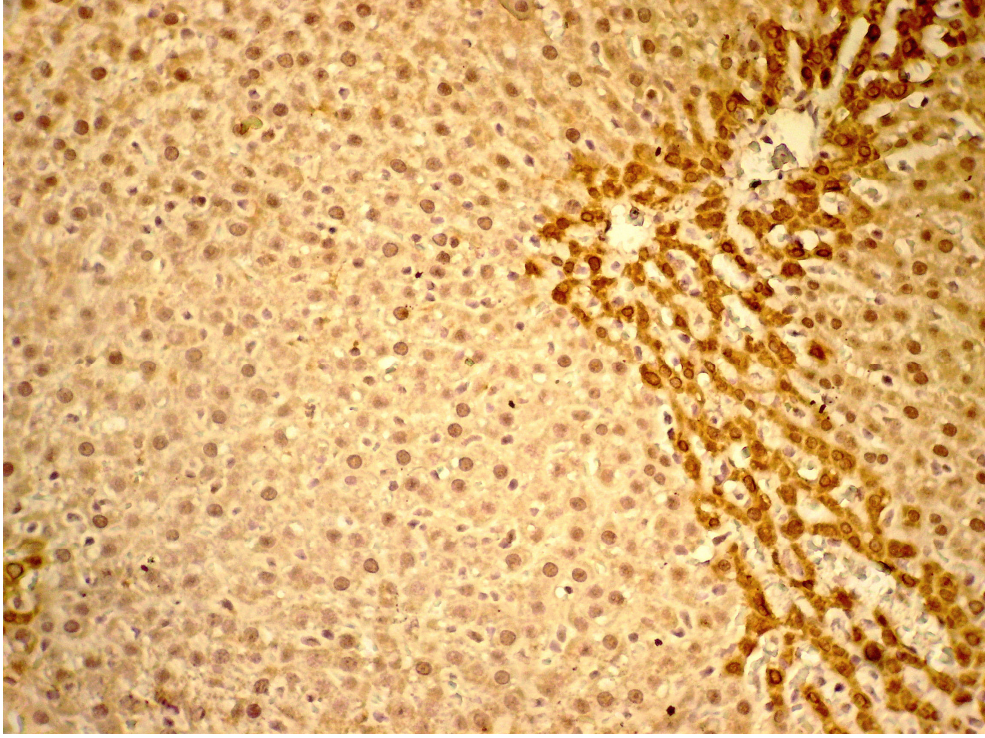
**Resim 6:** 10 mg/kg tenoksikam verilen grupta yer alan sıçanlara ait karaciğer dokusu (iNOS immün boyama, x10).





**Resim 7:** 20 mg/kg tenoksikam verilen grupta yer alan sıçanlara ait karaciğer dokusu (iNOS immün boyama, x40).





**Resim 8:** 40 mg/kg tenoksikam verilen grupta yer alan sıçana ait karaciğer dokusu (iNOS immün boyama, x20).

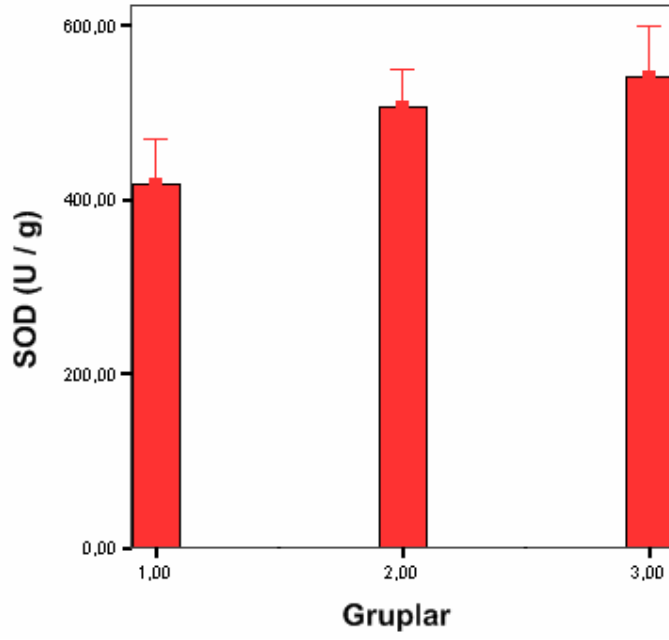
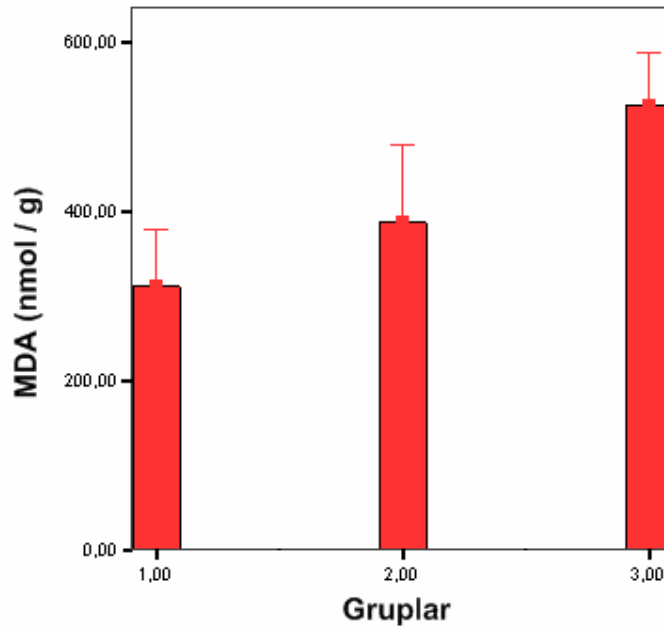
### 4.3. Biyokimyasal Bulgular

Deney ve kontrol grubu sıçanlara ait karaciğer dokusu süperoksit dismutaz (SOD) ile TBARS (MDA) düzeylerinin aritmetik ortalamaları +/- standart sapma şeklinde tablo 10'da verilmiştir.

**Tablo 10:** Karaciğer dokusunda SOD ve MDA düzeyleri ile gruplar arası "p" değerleri.

Gruplar	MDA	SOD
Kontrol ( I )	311,1 ± 66,7	418,4 ± 49,9
10 mg/kg verilen grup ( II )	386,3 ± 91,9	506,4 ± 41,7
20 mg/kg verilen grup ( III )	524 ± 63,4	541 ± 57,6

Gruplar	MDA	SOD
I – II	p < 0,05	p < 0,05
I – III	p < 0,05	p < 0,05
II – III	p > 0,05	p > 0,05

**Grafik 1:** Grupların karaciğer dokusunda SOD aktivite değerleri**Grafik 2:** Grupların karaciğer dokusunda lipit peroksidasyon (TBARS = MDA) düzeyleri

10 mg/kg tenoksikam uygulanan sıçanların karaciğer dokusunda, lipit peroksidasyon (TBARS = MDA) düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığı ve bu artışın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görüldü (tablo 10 ve grafik 2). Yine bu grup sıçanların karaciğer dokusunda süperoksit dismutaz (SOD) değerlerine bakıldığında SOD aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görüldü (  $p<0.05$  ) ( tablo 10, grafik 1 ).

20 mg/kg tenoksikam uygulanan grubun karaciğer dokusunda ise MDA düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artış gösterdi ( $p<0.05$ ) (tablo 10 ve grafik 2). SOD aktivite değerlerinde kontrol grubuna göre yine bir artma gözlemlendi ve bu artma istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0.05$ ) (tablo 10, grafik 1).

40 mg/kg tenoksikam verilen gruptaki hayvan sayısındaki yetersizlik nedeniyle biyokimyasal değerlendirme yapılamamıştır ( $n<6$ ).

10 mg/kg tenoksikam verilen grup ile 20 mg/kg tenoksikam verilen grup karşılaştırıldığında MDA düzeylerinde artış görüldü ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ) (tablo 10 ve grafik 2). SOD aktivite değerlerinde ise yine 20 mg/kg tenoksikam verilen grupta bir artış görüldü ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0.05$ ) (tablo 10, grafik 2).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), tüm dünyada en çok kullanılan ilaçlardandır (1–3). Yaygın kullanımına bağlı olarak da özellikle karaciğer hasarı yaptığı bildirilmiştir (126). Tenoksikam analjezik ve antiinflamatuvar etkili yarı ömrü en uzun (70–72) NSAİİ' dir (11, 127). Bu özelliğinden dolayı ilaç tek doz kullanıma olanak sağlarken diğer taraftan uzun yarı ömrüyle karaciğer ve böbrekte yapısal değişikliklere neden olabilmektedir. Bundan dolayı karaciğer ve böbrek ve karaciğer hastalıkları olan bireylerde kullanımında dikkatli olunması tavsiye edilmektedir (8, 128). Çalışmamızda kullandığımız tenoksikam karaciğerde metabolize edilmektedir (9, 11, 129, 130).

Çalışmada verdiğimiz 10 mg/kg dozunda 10 gün uygulanan tenoksikamın karaciğerde etkilerine ait bir yayın bulamadık ancak bu dozda uygulanan kırık oluşumuna dair yayını doz belirlemede temel aldık (131). Bizimde deney aşamasında kullandığımız 40 mg tenoksikam dış çekimi sırasında, akut durumlarda önerilmektedir (10, 72, 132, 133).

Rutin hematoksilen-eozin boyalı karaciğer doku kesitlerinde gözlemiş olduğumuz yapısal değişikliklerin (hepatositlerde granüler dejenerasyon, piknotik çekirdek, safra kanalı proliferasyonu, sinüzoidal dilatasyon ve konjesyon, nekroza giden hücre gruplarının arttığı, vasküler konjesyon, parankimde, perivasküler ve portal alanda mononükleer hücre infiltrasyonu) dozla birlikte artış göstermesi tenoksikamın oksidatif hasara bağlı olmasından kaynaklı olabileceği düşünüldü. Daha net sonuç için immunohistokimyasal boyama da yapıldı. Bu yöntemde ise rutinde bulduğumuz bulguların aynısını gözledik. Dozla birlikte immun boyamanın şiddetinin arttığını tespit ettik. Gerçekleştirmiş olduğumuz literatür taramasında, çalışmamızda kullanmış olduğumuz tenoksikamın karaciğerdeki iNOS reseptörleri üzerine olan etkilerini immunohistokimyasal



yönden karşılaştırmalı olarak veya her bir dozu ayrı ayrı inceleyen bir çalışmaya rastlamadık.

Yapmış olduğumuz çalışmada kontrol grubunda yer alan sıçanların karaciğer dokusundaki iNOS reseptörlerinin immunohistokimyasal yöntemle boyanması sonucu boyanma yoğunluklarının çok az miktarda olduğu tespit edildi (-/+). 10 mg/kg tenoksikam uygulaması yapılan sıçanların ise karaciğer dokularındaki iNOS reseptörlerinin (+) boyandığı, 20 mg/kg tenoksikamda (++) olduğu ve 40 mg/kg verilen grupta ise (+++/+++)) olduğu ve sonuçta doza paralel olarak arttığını tespit ettik. Boyanma portal alanlar, Kupffer hücreleri, sinüzoidal ve az miktarda da parankim içerisinde görüldü (134).

Bu bağlamda Mohammed ve ark yapmış oldukları çalışmada siroz ve sağlıklı kişilerde iNOS seviyelerini immunohistokimyasal olarak değerlendirmiş sağlıklı bireylerde neredeyse yok olan iNOS ekspresyonunun sirozla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiğini tespit etmişlerdir (135).

Karaciğer iskemi reperfüzyonda iNOS immunohistokimyasal olarak artışı gösterilmiştir (136).

Zhu ve ark. ise CCl<sub>4</sub> ile oluşturulan karaciğer hasarında iNOS seviyesinin arttığını bulmuşlardır. Ayrıca nitrik oksitin azalması lipid peroksidasyonunu sınırlamaktadır (137).

Doğru-Abbasoğlu ve ark, LPS'e bağlı doku hasarında iNOS inhibisyonunun doku hasarını iyileştirebileceğini öne sürmektedir (138).

Siroz gelişirken özellikle erken evrelerde hepatositlerde ve inflamatuvar hücrelerde iNOS eksprese olduğunu göstermişlerdir (134, 139).

iNOS' un sağlıklı bireylerde de salındığını ancak sirozlu bireylerde arttığını söylemektedir (140, 141).

Yüksek miktarda salınan NO' nun karaciğerde fazla üretiminin hepatotoksisite ile bağlantılı olabileceğini söylemektedir (142).

Akut endotoksemide pentoksifilin uygulamasında akut karaciğer hasarlanması iNOS azalmasıyla tespit edilmiştir (108, 143).

Kronik etanolle oluşturulan karaciğer hasarlanmasın da iNOS aktivitesi artmaktadır, bu da hasar belirteci olarak vurgulanmaktadır (144).

Eser miktarda salınan NO karaciğerde normalde de salınır ancak yüksek miktarda hasarı artırır (108, 145).

Yapmış olduğumuz literatür çalışmalarında tenoksikamın karaciğerde yapısal düzeyde nasıl bir etkiye sahip olduğuna dair bir yayına rastlayamadık fakat biyokimyasal değerlendirmeye bağlı olarak;

Özgöçmen ve ark. osteoartritli hastalarda dört hafta süreyle kullanılan tenoksikamın MDA düzeylerinde karşılaştırma yapmış kontrol ile ilaç kullanan grup arasında anlamlı bir fark bulamamışlardır (146).

Diğer bir araştırma grubu yapmış oldukları çalışmada bakteriyel peritonitli hastalara intraperitoneal yolla uygulanan 0,5 mg/kg tenoksikamın doku MDA düzeylerini değiştirmediğini bulmuşlardır (147).

Çalışmamızda SOD artışı antioksidan savunma sisteminin çalıştığını ancak MDA artışıyla bağlantılı olarak lipid peroksidasyonu engeleyecek düzeye ulaşamadığını göstermektedir.

Nitrik oksit lipit peroksidasyonunu güçlendirici yönde etki yapmaktadır (120, 148, 149).

Çalışmamızdaki biyokimyasal parametrelerden MDA ve SOD değerlerinin yukarıdaki araştırma değerleriyle paralellik göstermemesinin sebebi bizim yüksek dozlar kullanmamıza karşın yapılan diğer çalışmaların düşük dozlarla uygulanmasından kaynaklandığı sonucuna vardık.

Sonuçta yapısal olarak çalışmamızda gözlediğimiz kontrol grubundaki çok az miktardaki immun boyanmanın deney gruplarında dozla birlikte artış göstermesi, iNOS reseptör miktarıyla birlikte NO' in arttığını gösterir. Bu durum nitrik oksitin belli aşamada oksidatif hasarı önlemekte etkin olduğunu ancak artış gösteren dozlarda lipit peroksidasyon yoluyla metabolizma için zararlı olduğu görüşü yapılan diğer çalışmalarla uygunluk arz etmektedir.

**KAYNAKLAR**

1. Kiraz S, Öztürk M A. Nonsteroid antiinflammatuvar ilaçlar. Romatizmal Hastalıklara Giriş. 2000;16: 195–207
2. Ertenli İ, Öztürk M A. Spesifik COX–2 İnhibitörleri. Romatizmal Hastalıklara Giriş. 2000;16: 208–16
3. Haşçelik Z. Nonsteroid antiinflammatuvar ilaçlar. Sted. Ocak 2001;10: 25–28
4. Gökalp O, Mollaoğlu H. Uygunsuz ilaç kullanımı. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2003;10: 17–20
5. Dundee LW. Intravenous Anesthesia. 2 nd Ed. Hong kong Longman Group 1988: 160–183
6. Makbule Eren ve Ark., İlaça bağlı hepatotoksisite Çocuk sağlığı ve hastalıkları dergisi 2004; 47: 222–27
7. <http://www.med.gazi.edu.tr/egitim/donem5/ftRHast/nonsteroitfatalay.htm>
8. Gonzales J.P., Todd P.A., Tenoxicam: A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic efficiency, Drugs 34. (3) 289 (1987)
9. Guentert TW, Heintz RC, Joly R. Overview on the pharmacokinetics of tenoxicam. Eur J Rheumatol Inflamm. 1987;9(2):15–25. Review
10. Kayaalp S.O. Rasyonel tedavi yönünden Tıbbi farmakoloji Ankara: Feryal matbaası 1998
11. Nilsen OG, Clinical pharmacokinetics of Tenoxicam. Clin Pharmacokinet. 1994 Jan;26(1):16–43
12. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. N Engl J Med 1993;329:2002–2012
13. Laskin DL, Rodriguez del Valle M, Heck DE, Hwang S-M, Ohnishi ST, Durham SK, Goller NL, et al. Hepatic nitric oxide production following acute endotoxemia in rats is mediated by increased nitric oxide synthase gene expression. HEPATOLOGY 1995; 22: 223-234
14. Laskin DL, Heck DE, Gardner CR, Feder LS, Laskin JD. Distinct patterns of nitric oxide production in hepatic macrophages and endothelial cells following acute exposure of rats to endotoxin. J Leukoc Biol 1994;56: 751-758
15. Feder LS, Laskin DL. Regulation of hepatic endothelial cell and macrophage proliferation and nitric oxide production by GM-CSF M-CSF and IL-1(3 following acute endotoxemia. J Leukoc Biol 1994;55: 507-513
16. Helyar L, Bundschuh DS, Laskin JD, Laskin DL. Induction of hepatic Ito cell nitric oxide production after acute endotoxemia. HEPATOLOGY 1994;20: 1509-1515
17. Nussler AK, Geller DA, Sweetland MA, DiSilvio M, Billiar TR, Madariaga JB, Simmons RL, et al. Induction of nitric oxide synthesis and its reactions in cultured human and rat hepatocytes stimulated with cytokines plus LPS. Biochem Biophys Res Commun 1993;194: 826-835
18. Curran RD, Billiar TR, Stuehr DJ, Hofmann K, Simmons RL. Hepatocytes produce nitrogen oxides from L-arginine in response to inflammatory products of Kupffer cells. J Exp Med 1989;170:1769-1774
19. Gardner CR, Heck DE, Feder LS, Mc Closkey TW, Laskin JD, Laskin DL. Differential regulation of reactive oxygen and nitrogen intermediate production by hepatic macrophages and endothelial cells. In: Jesaitus A, Dratz E, eds. The molecular basis of oxidative damage by leukocytes. Boca Raton, FL: CRC Press, 1992:267-272
20. Laskin DL, Rodriguez del Vale M, Heck DE, Hwang S-M, Ohnishi ST, Durham SK, Goller NL, et al. Hepatic nitric oxide production following acute endotoxemia in rats is mediated by increased nitric oxide synthase gene expression. HEPATOLOGY 1995; 22: 223-234
21. Thiernemann C, Ruetten H, Wu C-C, Vane JR. The multiple organ dysfunction syndrome caused by endotoxin in the rat: attenuation of liver dysfunction by inhibitors of nitric oxide synthase. Br J Pharmacol 1995; 116: 2845-2851
22. Decker KF, Obolenskaya MY. Cytokines, nitric oxide synthesis and liver regeneration. Gastroenterol Hepatol 1995; 10: S12-S17
23. Gross SS, Wolin MS. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. Annu Rev Physiol 1995;57: 737-769
24. Chamulitrat W Blazka ME, Jordan SJ, Luster MI, Mason RR Tumor necrosis factor-a and nitric oxide production in endotoxin-primed rats administered carbon tetrachloride. Life Sci

- 1995; 24: 2273-2280
25. Wang JF Greenberg SS, Spitzer JJ. Chronic alcohol administration stimulates nitric oxide formation in the rat liver with and without pretreatment by lipopolysaccharide. *Alcohol Clin Exp Res* 1995; 19: 387-393
  26. Koçar İ H, Halbant S, Turan M. Nonsteroid Antiinflamatuar ilaçların klinik kullanımı. *Klinik Bilimler* 1997 ; (1) : 28-46
  27. Vane J. Selektif COX-2 inhibitörlerinin ortaya çıkması. COX-2 İnhibitörlerine Olan İnanışlar ve Gerçekler. Abstracts From an International Symposium: 23-24 April, 2001;7
  28. Yeğin A. Nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar. *Türkiye Klinikleri Farmakoloji Özel* 2004; 2 (1): 46-51
  29. Hinz B, Brune K. Cyclooxygenase-2—10 years later. *J Pharmacol Exp Ther* Feb 2002; 300 (2) :367-75
  30. Ketenci A. Nonsteroid antiinflamatuar kullanıma yeni bir bakış; COX-1, COX-2. *Prognoz*. 1998;1(4) ; 210-17
  31. Tıkız C. Selektif Siklooksijenaz-2 (COX-2) inhibitörleri KOKSİB'ler; <http://www.ftr.org.tr/Dergi>
  32. Deniz G, Saygı Ş. Selektif COX-2 inhibitörlerinin klinik önemi ve gastrointestinal toksisitesi olmayan yeni antiinflamatuar ajanlar. *Tıp Bilimleri Dergisi* 2000; 20; 2
  33. Oktay Ş. Antiinflamatuar ilaçlar. *Farmakoloji: Nobel Tıp Kitapevleri*; 401-19
  34. Mardini I A, Fitzgerald G A. Selective inhibitors of cyclooxygenase-2: A growing class of antiinflammatory drugs. *Molecular Interventions* April 2001; 1 (1): 30-8
  35. Narushima S, Spitz D R, Oberley L W, Toyokuni S, Miyata T, Gunnett C A ve ark. Evidence for oxidative stress in NSAID-induced colitis in IL10-/- Mice. *Free Radical Biology & Medicine* 2003;34 (9): 1153-66
  36. Gökçimen A, Akdoğan M, Karaöz E, Çiçek E, Malas M A, Öncü M. Yüksek doz diklofenak sodyum uygulanan sıçanların karaciğer ve böbrek dokularında meydana gelen yapısal ve biyokimyasal değişiklikler. *Yeni Tıp Dergisi* 2000; 17 (2) 72-77
  37. Madrigal I L, Lopez H S, Alcalá F C. Inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2: Usos potenciales en perros. *Vet Mex* 2002; 33 (3): 285-307
  38. Norian G, Clive D. Cyclo-oxygenase-2 inhibitors and the kidney: a case for caution. *Drug Saf.* 2002; 25 (3): 165-72
  39. Şahin A. [www.algoloji.org.tr/analjezikler](http://www.algoloji.org.tr/analjezikler) Türk Algoloji Derneği
  40. Bjarnason I, Zanelli G, Smith T, Prouse P, Williams P, Smethurst P ve ark. Non-steroidal Antiinflammatory drug-induced intestinal inflammation in humans. *Gastroenterology* Seb. 1997; 93 (3): 480-9
  41. Campbell K L, De Beaux A C. Non steroidal anti-inflammatory drugs and appendicitis in patients aged over 50 years. *Br J Surg.* Sep 1992; 79 (9): 967-8
  42. Aspirin ve kolon kanseri *Tıp Bilimleri Dergisi. Journal Of Medical Sciences*
  43. Krause M M, Brand M D, Krauss S, Meisel C, Vergn H, Burmester G R, Butt-gereit F. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and a selective cyclooxygenase 2 inhibitor uncouple mitochondria in intact cells. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1438-44
  44. Kalgutkar A S, Crews B C, Rowlinson S W, Marnett A B, Kozak K R, Remmel R P, Marnett L J. Biochemically based design of cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors: facile conversion of nonsteroidal antiinflammatory drugs to potent and highly selective COX-2 inhibitors. *Proc. Natl. Acad Sci USA* 18 Jan 2000; 97 (2): 925-30
  45. Melih Ö, Babaoğlu M D. Non-Steroidal antiinflamatuar ilaçların farmakolojisi ve gut tedavisinde kullanılan ilaçlar
  46. Oğbru O, Pharma D. Nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs). [www.med.miami.edu/glossary/](http://www.med.miami.edu/glossary/)
  47. Mercan R. Dismonere ve tedavisi. *Hekimler Yayın Birliği Yayını Romatizma ve Ağrı Bülteni* cilt 1, sayı 3, 1994
  48. [www.MedicineNet.com](http://www.MedicineNet.com); Piroxicam
  49. Uçan H, Şeker N, Ögüt B. Gebe ve emzicilerde steroid ve steroid olmayan antiinflamatuar ilaçların kullanımı. *Sürekli Tıp Eğitim Dergisi* Ekim 1996; 5 (10)
  50. Eryavuz M S. Ağrı Tedavisinde Nonsteroid Antiinflamatuar İlaçların Etki ve güvenirliliği. *Novartis Med.* Aralık 2004; 12: 66

51. Reuter B K, Davies N M, Wallace J L. Nonsteroidal anti-inflammatory drug enteropathy in rats: role of permeability, bacteria, and enterohepatic circulation. *Gastroenterology* Jan 1997; 112 (1): 109–17
52. Bjarnason I, Zanelli G, Prouse P, Smethurst P, Smith T, Levi S, Gumpel MJ, Levi AJ. Blood and protein loss via small-intestinal inflammation induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Lancet*. 1987 Sep 26;2(8561): 711–4.
53. Giovanni G, Giovanni P. Do non-steroidal anti-inflammatory drugs and COX–2 selective inhibitors have different renal effects? *Nephrol Sep-Oct 2002*; 15 (5) :480–8
54. [cnserv0.nkf.med.ualberta.ca/cn/Schrier/Volume1/chap11/ADK1\\_11\\_1](http://cnserv0.nkf.med.ualberta.ca/cn/Schrier/Volume1/chap11/ADK1_11_1) 3.pdf 07.06.2007
55. [www.http://med.adu.edu.tr/akademik/bolumler/ftr/ra-tedavi.htm](http://www.med.adu.edu.tr/akademik/bolumler/ftr/ra-tedavi.htm). Romatoid artrit medikal tedavisi. Aralık 2005:6
56. Whelton A, Hamilton C W; Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: effects on kidney function. *The Journal of Clinical Pharmacology*: 588
57. Hacettepe İlaç ve Zehir Bilgi Merkezi. Antiinflatuvar analjezikler. 2001; 1
58. Somchit N, Sanat F, Gan E H, Shahrin I A W, Zuraini A. Liver injury induced by the non Steroidal antiinflammatory drug mefenamic acid. *Singapore Med. J* 2004; 45 (11) : 530–32
59. Hollander D. Gastrointestinal complications of non steroidal antiinflammatory drugs. Prophylatic and therapeutic strategies. *Am J Med* 1994; 96: 274–81
60. [www.kanser-merkezi.com/kalinbarsak.htm](http://www.kanser-merkezi.com/kalinbarsak.htm). Non-steroidal antiinflatuvar ilaçlar (NSAİİ). Öztürk B. [www.gata.edu.tr/dahilibilimler/onkoloji/kemoprevansiyon.htm](http://www.gata.edu.tr/dahilibilimler/onkoloji/kemoprevansiyon.htm) Kanser ve Kemoprevansiyon [www.aspirin-foundatoin.com/uses/asprin-cancer/epi.html](http://www.aspirin-foundatoin.com/uses/asprin-cancer/epi.html). Epidemiological studies of colorectal cancer chemoprevention by aspirin
61. Pfizer İlaçları Ltd.Şti. Felden İM
62. Katz W A, Fitzgerald R H, Calin A. Bel Ağrısı Tedavisindeki İkilemler
63. [www.MedicineNet.com](http://www.MedicineNet.com); Piroxicam
64. Aban M, Şahin H, Çeldir A, Keleş C. Deneysel Peritonit modelinde disodyum kromoglikat ve proksikamin karın içi yapışıklıklara etkisi. *Ulusal Travma ve Acil Cerrahi Dergisi* 1998; 4: 230–4
65. Aksoy A, Ergen E. Piroxicam. [www.esk\\_kanmer.org.tr](http://www.esk_kanmer.org.tr)
66. Cuerdo Galindo E, Goday Bujan JJ, Garcia Silva JM, Martinez W, Vereá He-rnando M, Fonseca E. Fixed drug eruption from piroxicam. *J Eur Acad Dermatol Venereol Sep*. 2004; 18 (5): 586–587
67. [www.scielo.br/img/fbpe/acb/v17n2/a07fig03.gif](http://www.scielo.br/img/fbpe/acb/v17n2/a07fig03.gif), 02.05.2007
68. Binder D, Hromatka O, Geissler F, Schmied K, Noe CR, Burri K, Pfister R, Strub K, Zeller P. Analogues and derivatives of tenoxicam. 1. Synthesis and antiinflammatory activity of analogues with different residues on the ring nitrogen and the amide nitrogen. *J Med Chem*. 1987 Apr;30(4): 678–82
69. The Merck index, 11<sup>th</sup> Edition, Merck and Co. Inc., Rahway, 1989
70. Bernhard E, Zimmermann F. Contribution to the understanding of oxiam ionization constants. *Arzneimittelforschung*. 1984; 34(6): 647–8
71. Gonzales J.P., Todd P.A., Tenoxicam preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic efficiency, *Drugs* 34.289 (1987)2
72. Reynolds J.E.F., Martindale the extra Pharmacopedia, 29<sup>th</sup> edition, The pharmaceutical pres, London, 1989
73. Edirne S., ağrı ve akıllı ilaç kullanımı el kitabı türk algoloji derneği. 2000; S: 96
74. Bradshaw D, Cashin CH, Kennedy AJ, Roberts NA. Pharmacological and biochemical activities of tenoxicam (Ro 12–0068), a new non-steroidal anti-inflammatory drug *Agents Actions*. Dec;15(5–6):569–77. 1984
75. Guentert TW, Heintz RC, Joly R. Overview on the pharmacokinetics of tenoxicam. *Eur J Rheumatol Inflamm*. 1987;9(2):15–25. Review2
76. Kwangil Kwon and David W. A. Bourne, Physiological pharmacokinetic model for the distribution and elimination of tenoxicam *International Journal of Pharmaceutics* Volume 37, Issue 3 , July 1987, Pages 219–226
77. Bird HA, Francis RJ, Le Gallez P, Hill J, Dixon JS, Allen JG, Wright V., Single and multiple oral dose pharmacokinetics of tenoxicam in the elderly. *Eur J Rheumatol Inflamm*. 1985;8(1): 60–9.

78. Crevoisier C, Zaugg PY, Heizmann P, Meyer J. Influence of liver cirrhosis upon the pharmacokinetics of tenoxicam. *Int J Clin Pharmacol Res.* 1989;9(5): 327–34
79. Francis R.J., Alen J.G., Looi D., Dixon J.S., Bird H.A., Wringht V., Pharmacokinetics of tenoxicam after oral administration in healthy human subjects of various single doses, *Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet.* 12.59 (1987)
80. Francis R.J., Dixon J.S., Lowe J.R., Haris P.A., "The effect of food and antacid on the single dose pharmacokinetics of tenoxicam" *Ibid.* 10.309 (1985)
81. Pucetti L., Pucetti R., Scorpiniti N., Chompi M.L., "Comperative gastro-intestinal toxicity of individual non steroidal antiinflammatory drugs: Ameta analysis of 12 endoscopic studies involving 1725 rheumatic patients. *Internal Medicine* 1995; 3: 11–18
82. Ateş B. Etodolak ve tenoksikamın karaciğer fonksiyonu üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması. Yüksek lisans tezi Diyarbakır 2002
83. Woolf T.F., Radulovic L.L., "Oxicams: metabolic disposition in man and animals" *Drug Metab. Rev.* 21.255 (1989)
84. Reiter RJ. Functional Aspects of the Prenal Hormone Melatonin in Compating Cell and Tissue Damage Induced by Free Radicals. *European Journal of Endocrinology.* 1996; 134: 412–420
85. Kazanç MB. Antioksidan Vitaminler. *Sendrom.* 1997; 7: 14–23
86. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman D.; Oxygene radicals and human disease. *Ann. Intern. Med.*, 107: 526-545, 1987
87. Özdem SS, Şadan G.; Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi. *Akdeniz Ü. Tıp Fak. Derg.*, 11: 63-7,1994
88. Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları. Konya. 1995
89. Drapper HH, Hadley M. Melondialdehyde Determination as Index of Lipid Peroxidation. *Methods Enzymol.* 1990; 186: 421–431
90. Ignarro L.J., Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide, *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1990; 30: 535–60. Review
91. Xie QW, Cho HJ, Calaycay J, Mumford RA, Swiderek KM, Lee TD, Ding A, Troso T, Nathan C., Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages, *Science* 1992 Apr 10; 256(5054): 225–8
92. Kiechle FL, Malinski T., Nitric oxide. *Biochemistry, pathophysiology, and detection.* *Am J Clin Pathol.* 1993 Nov;100(5): 567–75. Review
93. Gürdal F, Ademoğlu E. *Biyokimya. Nobel Kitap Evi.* Ankara, 746-747, 2005.
94. Onat T, Emerk K, Sönmez EY. *İnsan biyokimyası. Palme yayıncılık* Ankara 487- 488, 2002
95. Barry Alexander, *The Role Of Nitric Oxide İn Hepatic Metabolism, Nutrition Vol. 14, No. 4, 1998 376–90*
96. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S., The role of nitric oxide and cGMP in platelet adhesion to vascular endothelium. *Biochem Biophys Res Commun.* 1987 Nov 13;148(3): 1482–9
97. Haitham AL-SA'DONI and Albert FERRO, S-Nitrosothiols: a class of nitric oxide-donor drugs, *Clinical Science* (2000) 98, (507–520) (Printed in Great Britain) Review
98. Bruhwyler J, Cnleide E, Liegeois JF, Carreer F: Nitric oxide: A new messenger in the brain; *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 17: 373–384, 1993
99. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide: Physiology, patophysiology, and pharmacology; *Pharmacor Rev.*43(2): 109–142,1991
100. Cooke JP, Dzau V: Nitric oxide synthase: Role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med*, 48: 489–509, 1997
101. Bruhwyler J, Cnleide E, Liegeois JF, Carreer F: Nitric oxide: A new messenger in the brain; *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 17: 373–384, 1993
102. Wright CD, Mulsch A, Busse R, Osswald H. Generation of nitric oxide by human neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989 Apr 28;160(2):813–9
103. Billiar TR, Curran RD, Stuehr DJ, West MA, Bentz BG, Simmons RL. An L-arginine-dependent mechanism mediates Kupffer cell inhibition of hepatocyte protein synthesis in vitro. *J Exp Med.* 1989 Apr 1;169(4):1467–72
104. Koshland DE: The molecule of the year. *Science* 258:1861,1992
105. Kuo PC, Schroeder R: The Emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg* 221: 220–235,1995

106. Guarner C, Sorlano G, Thomas A: Increased serum nitrite and nitrate levels in patients with cirrhosis: relationship to endotoxemia. *Hepatology* 18: 1139–1143, 1993
107. Ochoa JB, Udekwu O, Billiar TR: Nitrogen oxide levels in patients after trauma and during sepsis. *Ann Surg* 214:621–626,1991
108. Curran RD, Billiar TR, Stuehr DJ: Multiple cytokines are required to induce hepatocyte nitric oxide production and inhibit total protein synthesis. *Ann Surg* 212: 462–469, 1990
109. Stark EM, Szurzewski JH: Role of nitric oxide in gastrointestinal and hepatic function and disease. *Gastroenterology* 103: 1928–1949,1992
110. Billiar TR, Curran RD, Stuehr DJ: An L-arginine-dependent mechanism mediates Kupffer cell inhibition of hepatocyte protein synthesis in vitro. *J Exp Med* 169: 1467–1472, 1989
111. Curran RD, Ferrari FK, Kispert PH: Nitric oxide and nitric oxide-generating compounds inhibit hepatocyte protein synthesis. *FASEB J* 5: 2085–2092,1991
112. Morris S, Billiar T: New insights the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *Am J Physiol* 266:E829-E839, 1994
113. Kanner J, Harel S, Granit R: Nitric oxide as an antioxidant. *Arch Biochem Biophys* 289:130–136,1991
114. Inoue Y, Bode B, Beck D: Arginine transport in human liver. *Ann Surg* 218:350–363,1993
115. Jimenez JG, Salgado A, Mourelle M, Martin MC, Segura RM: L-arginin: nitric oxide pathway in endotoxemia and human septic shock. *Crit Care Med* 23: 253-258, 1995
116. Billiar TR, Curran RD, Harbrecht B: Association between synthesis and release of cGMP and nitric oxide biosynthesis by hepatocytes. *Am J Physiol* 262: C1077-C1082, 1992
117. Stephen B, Kyle L, Yong X, Cynthia A, Donald E, Earl F, James E. Role of Oxidative Stres in the: Mechanism of Dieldrin's Hepatotoxicity. *Annals of Clinical and Laboratory Science*. 1997; 27(3): 196–208
118. H Rubbo, R Radi, M Trujillo, R Telleri, B Kalyanaraman, S Barnes, M Kirk and BA Freeman (Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. *J. Biol. Chem.*, Vol. 269, Issue 42, 26066–26075, Oct, 1994
119. Hogg N, Kalyanaraman B, Nitric oxide and lipid peroxidation, *Biochim Biophys Acta*. 1999 May 5;1411(2–3): 378–84
120. Muriel P. Nitric oxide protection of rat liver from lipid peroxidation, collagen accumulation, and liver damage induced by carbon tetrachloride. *Biochem Pharmacol*. 1998 Sep 15;56(6): 773–9
121. V. Giordano et al. / *Injury, Int. J. Care Injured* 34 (2003) 85–94
122. McNaughton L, Puttagunta L, Martinez-Cuesta MA, Kneteman N, Mayers I, Moqbel R, Hamid Q, Radomski MW. Distribution of nitric oxide synthase in normal and cirrhotic human liver. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Dec 24;99(26):17161–6. Epub 2002 Dec 13
123. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Radall RJ. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem*. 1951; 193: 265-275
124. Wooliams JA, Wiener G, Anderson PH. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxid dismutase and in concentration of copper in the blood various breed crosses of sheep. *Re Vet Sci*. 34: 69–77,1983
125. A. Abdel-wahhab, s. A. Nada and m. S. Arbid, Ochratoxicosis: Prevention of developmental toxicity by L-methionine in rats m. *Journal of applied toxicology, J. Appl. Toxicol*. 19, 7–12 (1999)
126. Lapeyre-Mestre M, de Castro AM, Bareille MP, Del Pozo JG, Requejo AA, Arias LM, Montastruc JL, Carvajal A Non-steroidal anti-inflammatory drug-related hepatic damage in France and Spain: analysis from national spontaneous reporting systems. *Fundam Clin Pharmacol*. 2006 Aug; 20(4): 391–5.
127. Olkkola KT, Brunetto AV, Mattila MJ, *Clin Pharmacokinet*. Pharmacokinetics of oxicam nonsteroidal anti-inflammatory agents. *Feb;26(2): 107–20, 1994*
128. Todd PA, Clissold SP., Tenoxicam. An update of its pharmacology and therapeutic efficacy in rheumatic diseases. *Drugs*. 1991 Apr;41(4):625–46.



129. Katsinelos P, Katsos I, Patsiaoura K, Xiarchos P, Goulis I, Eugenidis N., Tenoxicam-associated hepatic injury: a case report and review. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1997 Apr;9(4): 403–6
130. Jobard JM, Ory JP, Cleau D, Debieuvre D, [Symptomatic hepatic disorders after ingestion of tenoxicam] *Gastroenterol Clin Biol.* 1993;17(8–9): 614–5
131. Vincenzo Giordano, Marcos Giordano, Irocy G. Knackfuss, Mara Ibis R. Apfel, Renato Das C. Gomes Effect of tenoxicam on fracture healing in rat tibiae. *Injury, Int. J. Care Injured* 34 (2003) 85–94
132. Roelofse JA, van der Bijl P, Joubert JJ., An open comparative study of the analgesic effects of tenoxicam and diclofenac sodium after third molar surgery. *Anesth Pain Control Dent.* 1993 Fall;2(4):217–22
133. Prof. Dr. Filiz BAL, Dişhekimliğinde analjezik ve antiinflamatuvar ilaçlar, <http://www.ido.org.tr/default.asp?ID=1453> 20.08.08
134. McNaughton, Lakshmi Puttagunta, Maria Angeles Martinez-Cuesta, Norm Kneteman, Irvin Mayers, Redwan Moqbel, Qutayba Hamid, and Marek W. Radomski, Distribution of nitric oxide synthase in normal and cirrhotic human liver, *PNAS* December 24, 2002 vol. 99 no. 26
135. Nasser A Mohammed, Seham Abd El-Aleem, Ian Appleton, Madiha M Maklouf, Mahmoud Said and Raymond FT McMahon, Expression of nitric oxide synthase isoforms in human liver cirrhosis, *J Pathol* 2003; 200: 647–655
136. Ching-Mei Hsu, Jyh-Seng Wang, Chao-Hsin Liu, and Lee-Wei Chen, Kupffer cells protect liver from ischemia-reperfusion injury by an inducible nitric oxide synthase-dependent mechanism, *Shock*, Vol. 17, No. 4, pp. 280–285, 2002
137. Wen Zhu and P. C. W. Fung, The Roles Played By Crucial Free Radicals Like Lipid Free Radicals, Nitric Oxide, and Enzymes NOS and NADPH in CCl<sub>4</sub>-induced Acute Liver Injury Of Mice, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 29, No. 9, pp. 870–880, 2000
138. Doğru-Abbasoğlu ve ark., Aminoguanidin ve N-asetilsisteinin Endotoksemik sirozlu sıçanlarda karaciğer hasarı, oksidatif ve nitrozatif stres üzerine etkisi, *The Medical Journal of Kocatepe* 5 (2004) Ek sayı 27–32
139. Beljaars E., Vos TA., Expression of iNOS during development of liver fibrosis in rats. In: Wisse E, Knock DL and Baloud C (eds), *Cells of the hepatic sinusoid, kupffer cell foundation*, The Netherlands, vol.1997; 6: 32–33
140. Mayoral P, Criado M, Hidalgo F, et al: Effect of chronic nitric oxide activation or inhibition on early hepatic fibrosis in rats with bile duct ligation. *Clin Sci* 1999; 96: 297–305
141. Akarsu Ersin, Okçu Nihat, Akgöz Kenan, Kiki İlhami, Kızıltunç Ahmet, Serum nitric oxide in liver cirrhosis and its relation to blood pressure, *The Turkish Journal of Gastroenterology* 1999, Volume 10, No 4, Page(s) 315–318
142. Byeongwoo Ahn, Beom Seok Han, Dae Joong Kim, Hiroshi Oshima Immunohistochemical localization of inducible nitric oxide synthase and 3-nitrotyrosine in rat liver tumors induced by N-nitrosodiethylamine, *Carcinogenesis* vol.20 no.7 1337–1344, 1999
143. Raul Coimbra, Rafael Dib Porcides, Heidi Melbostad, William Loomis, Maria Tobar, David B. Hoyt, And Paul Wolf, Nonspecific Phosphodiesterase Inhibition Attenuates Liver Injury in Acute Endotoxemia, *Surgical Infections*, Volume 6, Number 1, 2005
144. Yuan GJ, Zhou XR, Gong ZJ, Zhang P, Sun XM, Zheng SH, Expression and activity of inducible nitric oxide synthase and endothelial nitric oxide synthase correlate with ethanol-induced liver injury.. *World J Gastroenterol.* 2006 Apr 21; 12(15): 2375–81
145. Hon WM, Lee KH, Khoo HE. Nitric oxide in liver diseases: friend, foe, or just passerby? *Ann N Y Acad Sci.* 2002 May;962: 275–95
146. Ozgocmen S, Ardicoglu O, Erdogan H, Fadillioglu E, Gudul H In vivo effect of celecoxib and tenoxicam on oxidant/ anti-oxidant status of patients with knee osteoarthritis. *Ann Clin Lab Sci.* 2005 Spring;35(2): 137–43
147. Ezberci F, Bulbuloglu E, Ciragil P, Gul M, Kurutas EB, Bozkurt S, Kale IT. Intraperitoneal tenoxicam to prevent abdominal adhesion formation in a rat peritonitis model. *Surg Today.* 2006;36(4): 361–6

148. Cristina E. Carnovale, Celina Scapini, Maria de Luján Alvarez, Cristian Favre, Juan Monti and Maria Cristina Carrillo, Nitric oxide release and enhancement of lipid in regenerating rat liver peroxidation, *Journal of Hepatology* 2000; 32: 798–804
149. Hogg N, Kalyanaraman B, Nitric oxide and lipid peroxidation, *Biochim Biophys Acta*. 1999 May 5;1411(2–3): 378–84